

ФІТОХІМІЧНЕ ВИВЧЕННЯ РІДКОГО ЕКСТРАКТУ ТРАВИ КРОПИВИ СОБАЧОЇ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЙОГО ПСИХОТРОПНОЇ АКТИВНОСТІ

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Вступ. Трава кропиви собачої – одна з найбільш використовуваних лікарських рослин седативної дії. Галенові засоби або суха сировина входить до складу багатьох лікарських препаратів. Одним із найпоширеніших лікарських препаратів на основі даної лікарської рослини є настояйка кропиви собачої, яка характеризується непостійністю хімічного складу, і як наслідок, фармакодинаміки. У зв'язку з цим, розробка стандартизованих лікарських засобів на основі трави кропиви собачої є актуальним завданням.

Мета. Вивчення якісного складу та кількісного вмісту БАР фенольної та терпеноїдної природи спиртового рідкого екстракту трави кропиви собачої та проведення фармакологічного скринінгу його психотропної активності.

Матеріали та методи. Вивчення якісного складу та кількісного вмісту речовин фенольної природи проводили методами тонкошарової хроматографії (ТШХ) та високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Визначення якісного та кількісного вмісту речовин терпеноїдної природи проводили ТШХ та хромато-мас-спектрометрією. Фармакологічний скринінг психотропної активності проводили методом відкритого поля.

Результати. Методом тонкошарової хроматографії з достовірними зразками була встановлена наявність в досліджуваному екстракті рутину, апігеніну, гіперозиду, а також наявність речовин терпеноїдної природи. Методом високоефективної рідинної хроматографії знайдено 10 речовин фенольної природи. Сполуки фенольної природи представлені похідними гідроксикоричної кислоти та флавоноїдами, з них ідентифіковано 5 речовин: хлорогенова, кавова кислоти, рутин, апігенін та гіперозид. Методом хромато-мас-спектрометрії в спиртовому рідкому екстракті трави кропиви собачої виявлено 73 леткі сполуки, серед яких ідентифіковано 35 сполук. За результатами фармакологічних досліджень виявлено седативний ефект досліджуваного екстракту.

Висновок. Одержані експериментальні дані щодо якісного складу та кількісного вмісту БАР фенольної та терпеноїдної природи спиртового рідкого екстракту трави кропиви собачої та проведеного фармакологічного скринінгу його психотропної активності свідчать про перспективність створення нового седативного лікарського засобу з цієї сировини.

Ключові слова: кропива собача, спиртовий екстракт, леткі речовини, фенольні сполуки, седативна активність.

Вступ. На фармацевтичному ринку України представлений широкий асортимент лікарських засобів седативної дії рослинного та синтетичного походження. Однак, існують певні категорії населення (діти, вагітні, годуючі матері тощо), для яких використання цих лікарських препаратів обмежені. Тому розробка лікарських препаратів з урахуванням потреб цих категорій населення є актуальним завданням фармацевтичної галузі. Трава кропиви собачої – одна з найбільш використовуваних лікарських рослин седативної

дії. Галенові засоби або суха сировина входить до складу багатьох лікарських препаратів. Одним із найпоширеніших лікарських препаратів на основі даної лікарської рослини є настойка кропиви собачої, яка характеризується неопосередкованою хімічною складом, і як наслідок, фармакодинаміки [1, 2, 3]. У зв'язку з цим, розробка стандартизованих лікарських засобів на основі трави кропиви собачої є актуальним завданням.

Мета. Фітохімічне вивчення якісного складу та кількісного вмісту біологічно активних речовин спиртового рідкого екстракту кропиви собачої, зокрема фенольної та терпеноїдної природи та проведення фармакологічного скринінгу його психотропної активності.

Матеріали та методи. Спиртовий екстракт кропиви собачої готували методом мацерації у співвідношенні 1:5 враховуючи коефіцієнт поглинання, який становить 2. Для цього брали 0,2 кг трави кропиви собачої та поміщали в колбу, заливали 1400 мл 70% спирту етилового, настоювали протягом трьох діб, відфільтровували та відстоювали протягом тижня. Очищений спиртовий рідкий екстракт в подальшому і досліджували. Для попередньої ідентифікації БАР використовували метод тонкошарової хроматографії (ТШХ). Речовини флавоноїдної природи виявляли ТШХ з достовірними зразками флавоноїдів в системі розчинників кислота оцтова льодяна – вода – етилацетат (20:20:60). Проявлення хроматограм проводили обприскуванням розчином диметиламінобензальдегіду, після чого пластинку нагрівали при температурі від 100°C до 105°C протягом 10 хв до проявлення плям та переглядали при денному світлі [6].

Крім того, вивчення якісного складу та кількісного вмісту фенольних сполук в об'єкті дослідження проводили методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) за допомогою хроматографа Agilent Technologies (модель 1100), який укомплектований проточним вакуумним дегазатором G1379A, чотириканальним насосом градієнта низького тиску G13111A, автоматичним інжектором G1313A, термостатом колонок G13116A та діодно-матричним детектором G1316A. Для проведення аналізу була використана хроматографічна колонка розміром 2,1x150 мм, яка була заповнена октадецилсилільним сорбентом зернистістю 3,5 мкм «ZORBAX-SB C-18». Аналіз проводили за таких умов: температура термостату – 35°C; швидкість потоку рухомої фази – 0,25 мл/хв; як рухому фазу використовували розчин А (0,1% H₃PO₄, 180 мкл/л триетиламін, 3 мл/л тетрагідрофуран у воді) та розчин В (MeOH) у співвідношенні 90:10 (перші 8 хв), 70:30 (з 8 по 24 хв), а з 24 хв використовували тільки розчин В; робочий тиск елюенту – 240-300 кПа. При аналізі були встановлені такі параметри детектування: масштаб виміру – 1,0; час сканування – 0,5 с; параметри зняття спектру – кожен пік 190-600 нм. Ідентифікацію фенольних сполук проводили за часом утримання стандартів гідроксикоричних кислот і флавоноїдів та їх спектральними характеристиками.

Вивчення присутності речовин терпеноїдної природи проводили методом ТШХ в системі розчинників етилацетат – толуол (10:90). Проявлення хроматограм проводили обприскуванням розчином анісового альдегіду і переглядали при денному світлі при нагріванні при температурі від 100°C до 105°C протягом від 5 хв до 10 хв [6]. Подальше вивчення сполук терпеноїдної природи проводили методом хромато-мас-спектрометрії. Хроматографічне вивчення досліджуваного екстракту проводили на газовому хроматографі Agilent 6890, оснащений мас-спектрометричним детектором 5973 (МС). Для

ФАРМХІМІЯ ТА ФАРМАКОГНОЗІЯ

аналізу використовували колонку HP-5 довжиною 30 м та внутрішнім діаметром 0,25 мм. Аналіз проводили при таких умовах: температура термостату програмувалась від 50°C до 250°C зі швидкістю 4°C/хв; температура інжектору - 250°C; газ носій – гелій, швидкість потоку 1мл/хв.; переніс від ГХ до МС прогрівався до 230°C; температура джерела підтримувалась 200°C; електрона іонізація проводилась при 70 eV у ранжировці мас m/z 29 до 450. Ідентифікація проводилась на основі порівняння отриманих мас-спектрів з даними бібліотеки NIST05-WILEY (близько 500000 мас-спектрів). Ідентифікацію досліджуваних компонентів проводили за мас-спектрами і часом утримування компонентів. Фармакологічне вивчення психотропної активності проводили методом відкритого поля (ВП) на кафедрі фармакології Національного фармацевтичного університету під керівництвом проф. Штриголя С.Ю. Для цього використано 16 білих нелінійних мишей-самців масою 18-20 г. Спирт з екстракту відганяли безпосередньо перед початком дослідження та вводили перорально в умовно-терапевтичній дозі 5 г/кг, групи контролю перорально вводили еквівалентний об'єм води очищеної. При роботі з тваринами дотримувалися вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, використовуваних для експерименту та з іншою метою» (Страсбург, 1985). Мишей поміщали в центр ВП та протягом 3 хв реєстрували кількість перетнутих квадратів, вертикальних стійок та обстежень отворів, реакцій ґрунгу, фекальних болюсів та уринацій [4, 5]. Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Стьюдента. Результати вважали статистично значущими за ($p < 0,05$).

Результати та їх обговорення. В результаті попереднього вивчення БАР методам ТШХ з достовірними зразками була встановлена присутність таких груп БАР: похідні гідроксикоричної кислоти та флавоноїдів, зокрема: кавова, хлорогенова кислоти, рутин, апігенін, гіперозид. Також встановлена присутність сполук терпеноїдної природи за відповідним забарвленням плям після обробки анісовим альдегідом. В результаті проведених досліджень фенольного складу спиртового рідкого екстракту трави кропиви собачої методом ВЕРХ знайдено 10 сполук фенольної природи, зокрема, похідні гідроксикоричних кислот і флавоноїди (табл.).

Таблиця

Хімічний склад фенольної фракції спиртового рідкого екстракту трави кропиви собачої

№	Показник	Спиртовий рідкий екстракт кропиви собачої в мг/л
1	Кавова кислота	23.6
2	Похіднікавової кислоти-1	98.3
3	Хлорогенова кислота	36.9
4	Похіднікавової кислоти-2	81.9
5	Похіднікавової кислоти-3	135.8
6	Неідентифікована речовина 1	19.69
7	Рутин	219.8
8	Неідентифікована речовина 1	16.1
9	Гіперозид	42.7
10	Апігенін	55.9

3 похідних гідроксикоричних кислот знайдено 5 сполук, з яких ідентифіковано 2 сполуки: хлорогенова і кавава кислоти. З флавоноїдів знайдено 3 сполуки, зокрема рутин, апігенін, гіперозид. Загальний кількісний вміст гідроксикоричних кислот 376,5 мг/л: вміст кавової кислоти становить 23,6 мг/л, хлорогенової 36,9 мг/л. Найбільшу концентрацію серед флавоноїдів мають: рутин, вміст якого становить 219,8 мг/л екстракту, або 69,00% від вмісту всіх флавоноїдів досліджуваного екстракту; апігенін, кількісний вміст якого становить 55,9 мг/л екстракту, або 17,56% від загальної кількості флавоноїдів. В результаті проведених досліджень терпеноїдного складу спиртового екстракту в досліджуваному об'єкті знайдено 73 леткі сполук, з яких ідентифіковано 35: моноциклічні і біциклічні монотерпеноїди, сесквітерпеноїди тощо. Найбільшу концентрацію серед терпеноїдів мають: фітол, борнілацетат, тимол, камфен, б-пінен, п-цимен, каріофілен, каріофіленоксид. За результатами фармакологічного дослідження досліджуваного екстракту виявлено седативний вплив у тесті ВП. Він полягає у пригніченні суми показників усіх поведінкових реакцій мишей на 24,3% ($p < 0,05$). Локомоторна активність на тлі застосування екстракту знижується на 33,7% ($p < 0,05$), а орієнтовно-дослідницька виявляє тенденцію до зниження на 25,2%. Таким чином, спиртовий екстракт після видалення спирту відтворює в умовах ВП седативний ефект офіціальної настойки кропиви собачої.

Однак, одночасно із пригніченням рухової та орієнтовно-дослідницької активності мишей на тлі застосування досліджуваного екстракту спостерігається тенденція до збільшення емоційної лабільності, що виявляється підвищенням суми болюсів, уринацій та грумінгу на 33,3% ($p > 0,05$). Це свідчить про відсутність виразної стреспротекторної активності досліджуваного екстракту.

Висновки. Вивчено якісний склад та кількісний вміст БАР фенольної та терпеноїдної природи спиртового рідкого екстракту трави кропиви собачої та проведено фармакологічний скринінг психотропної активності даного екстракту. Встановлена присутність 10 сполук фенольної природи, загальний кількісний вміст яких складає 730,69 мг/л. Сполуки фенольної природи представлені похідними гідроксикоричної кислоти та флавоноїдами, серед яких ідентифіковано 5 сполук: хлорогенова, кавава кислоти, рутин, апігенін та гіперозид. Виявлено 73 леткі сполуки, серед яких ідентифіковано 35 сполук: моноциклічні і біциклічні монотерпеноїди, сесквітерпеноїди і т.д., загальний кількісний вміст яких складає 798,25 мг/л. За результатами фармакологічного дослідження з'ясовано, що рідкий екстракт з трави кропиви собачої в умовно-терапевтичній дозі 5 г/кг виявляє седативну дію у тесті відкритого поля, вірогідно зменшуючи локомоторну активність і суму всіх проявів поведінкових реакцій.

Література

1. Данилов С.А. Пустырник: фитохимические особенности и новые грани фармакологических свойств / С.А. Данилов, С.Ю. Штрыголь, С.И. Степанова // Провизор. – 2011. – №9. – С. 27 – 30.
2. Ковальов В.М. Собака кропива звичайна / В.М. Ковальов // Фармацевтична енциклопедія. – Вид. друге, доповнене. – К.: Моріон, 2010. – С. 1295.
3. Компендиум 2007 – лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. – К.: МОРИОН, 2007. – Т. 1. – 2270 с.

4. Буреш Я. Методики и основне эксперименты по изучению мозга и поведения [Текст] / Я. Буреш, О. Бурешова, Дж.П. Хьюстон; пер. с англ. Е.Н. Живописцевой; под ред. проф. А.С. Батуева.–М.: Высшая школа, 1991.–399 с.

5. Methods of behavior analysis in neuroscience – London, NewYork, Washington: CRC Press, 2001. – 329 с.

6. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доповнення 2. – Харків: ДП «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.

Е.А. Романенко, О.Н. Кошевой, А.Н. Комиссаренко, С.Ю. Штриголь

Фитохимическое изучение жидкого экстракта травы пустырника и исследования его психотропной активности

Национальный фармацевтический университет, Харьков

Введение. Трава пустырника - одна из наиболее используемых лекарственных растений седативного действия. Галеновые средства или сухое сырье входит в состав многих лекарственных препаратов. Одним из самых распространенных лекарственных препаратов на основе данного лекарственного растения является настойка пустырника, которая характеризуется непостоянством химического состава, и как следствие, фармакодинамики. В связи с этим, разработка стандартизированных лекарственных средств на основе травы пустырника является актуальной задачей.

Цель. Изучение качественного состава и количественного содержания БАВ фенольной и терпеноидной природы спиртового жидкого экстракта травы пустырника и проведение фармакологического скрининга его психотропной активности.

Материалы и методы. Изучение качественного состава и количественного содержания веществ фенольной природы проводили методами тонкослойной хроматографии (ТСХ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Определение качественного и количественного содержания веществ терпеноидной природы проводили ТСХ и хромато-масс-спектрометрией. Фармакологический скрининг психотропной активности проводили методом открытого поля.

Результаты. Методом тонкослойной хроматографии с достоверными образцами было установлено наличие в исследуемом экстракте рутина, апигенина, гиперозида, а также наличие веществ терпеноидной природы. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии найдено 10 веществ фенольной природы. Соединения фенольной природы представлены производными гидроксикоричной кислоты и флавоноидами, из них идентифицировано 5 веществ: хлорогеновая, кофейная кислоты, рутин, апигенин и гиперозид. Методом хромато-масс-спектрометрии в спиртовом жидком экстракте травы пустырника выявлено 73 летучих соединения, из которых идентифицировано 35 соединений. По результатам фармакологических исследований выявлено седативный эффект исследуемого экстракта.

Вывод. Полученные экспериментальные данные по качественному составу и количественного содержания БАВ фенольной и терпеноидной природы спиртового жидкого экстракта травы пустырника и проведенного фармакологического скрининга его психотропной активности свидетельствуют о перспективности создания нового седативного лекарственного средства из этого сырья.

Ключевые слова: пустырник, спиртовой экстракт, летучие вещества, фенольные соединения, седативная активность.

Ye.A. Romanenko, O.M. Koshovyi, A.M. Komisarenko, S.Y. Shtryhol

Phytochemical study of liquid extract of motherwort grass and research of its psychotropic activity

National University of Pharmacy, Kharkiv city

Introduction. Motherwort grass is one of the most frequently used medicinal plants with sedation action. Galenical products or dry raw materials are part of many drugs. One of the most frequently used drugs on the basis of this medicinal plant is motherwort tincture, which is characterized by the variability of the chemical composition and their pharmacodynamics. Therefore, the development of standardized medicines from motherwort grass is an urgent task.

Aim. To study of qualitative composition and quantitative content of BAS of phenolic and terpene nature of alcoholic liquid extract from motherwort grass and conduction of pharmacological screening of its psychotropic activity.

Materials and methods. The research of qualitative composition and quantitative content of phenolic substances was performed by thin-layer chromatography (TLC) and high performance liquid chromatography (HPLC). The determination of qualitative and quantitative content of substances of terpenoid nature was performed by TLC and gas chromatography-mass spectrometry. Pharmacological screening of psychotropic activity conducted through open fields.

Results. The help of TLC method with authentic samples was found rutin, apigenin, hyperoside also was established the presence of substances of terpenoid nature. By HPLC method 10 phenolic substances were found. Phenolic compounds presented by hydroxycinnamic acid derivatives and flavonoids have identified five substances as chlorogenic acids, caffeic acids, rutin, apigenin and hyperoside. By the method of gas chromatography-mass spectrometry in an alcoholic liquid extract of the motherwort grass were identified 73 volatile where were found 35 compounds. According to the results of pharmacological studies sedation test extract was revealed.

Conclusions. The obtained experimental data on the qualitative and quantitative content of BAS of phenolic and terpenoid nature of alcoholic liquid extract of motherwort grass and conducted pharmacological screening of its psychotropic activity indicate the prospects of the creation of a new sedative drug from this raw material.

Key words: motherwort, alcoholic extract, volatile substances, phenolic compounds, sedative activity.

Відомості про авторів:

Романенко Євген Анатолійович - аспірант кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету. Адреса: Харків, вул. Блюхера, 4, тел.: (0572) 67-92-08.

Кошовий Олег Миколайович – д. фарм. н., завідувач кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету. Адреса: Харків, вул. Блюхера, 4, тел.: (0572) 67-92-08.

Комісаренко Андрій Миколайович – д. фарм. н., професор кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету. Адреса: Харків, вул. Блюхера, 4, тел.: (0572) 67-92-08.

Штриголь Сергій Юрійович – д. мед. н., професор, завідувач кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету. Адреса: Харків, вул. Блюхера, 4, тел.: (0572) 67-92-08.