

УДК 615.322: 615.071: 615.074

ИССЛЕДОВАНИЕ *GLECHOMA HEDERACEA* L. В РАМКАХ НАУЧНОГО НАПРАВЛЕНИЯ «ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ РЕМЕЙК»**RESEARCH *GLECHOMA HEDERACEA* L. UNDER THE SCIENTIFIC DIRECTION «PHARMACEUTICAL REMAKE»**

**О.О. Новиков¹, Д.И. Писарев¹, А.Ю. Малютина¹, Е.Т. Жилиякова¹,
Б.В. Трифонов¹, А.А. Зинченко², М.Ю. Новикова¹, И.В. Корниенко¹,
И.А. Севрук¹, Л.В. Титарева³, И.В. Гурьев¹
О.О. Novikov¹, D.I. Pisarev¹, A.Y. Malyutina¹, E.T. Zhilyakova¹,
B.V. Trifonov¹, A.A. Zinchenko², M.Y. Novikova¹, I.V. Kornienko¹,
I.A. Sevruc¹, L.V. Titareva³, I.V. Gurev¹**

¹⁾ Белгородский государственный национальный исследовательский университет
Россия, 308015, г. Белгород, ул. Победы, д.85

²⁾ Украинский научный Фармакопейный центр качества лекарственных средств
Украина, 61085, г. Харьков, ул. Астрономическая, д.33

³⁾ Курский государственный медицинский университет
Россия, 305001, г. Курск, ул. Карла Маркса, д.3

¹⁾ Belgorod National Research University
Russia, 308015, Belgorod, Pobedy St., 85

²⁾ Ukrainian Scientific Center Pharmacopoeia Drug Quality
Ukraine, 61085, Kharkov, Astronomicheskaya St., 33

³⁾ Kursk State Medical University
Russia, 305001, Kursk, Karl Marx St., 3

E-mail: novikov@bsu.edu.ru, pisarev@bsu.edu.ru

Аннотация. В статье представлены результаты изучения полифенольного состава травы *Glechoma hederacea* L. с помощью метода обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии. Установлено наличие 11 компонентов, которые по УФ-спектроскопическим характеристикам отнесены к флавоноидам и оксикоричным кислотам. Доминирующими флавоноидами *G. hederacea* L. являются гликозиды кверцетина, меньший удельный вес приходится на гликозиды лютеолина, кемпферола и апигенина. Очень важным компонентом в составе полифенолов *G. hederacea* L. является кислота розмариновая. Также была разработана методика количественного определения полифенольных соединений в полифенольном комплексе травы *G. hederacea* L. в пересчете на рутин, кислоту кофейную, кислоту феруловую, гиперозид и лютеолин-7-глюкозид. Установлено содержание рутина, кислоты кофейной, гиперозида и лютеолин-7-глюкозида в образце полифенольного комплекса травы составило 1.83%, 4.7%, 2.21% и 1.41% соответственно. Ошибка единичного определения во всех случаях не превышала 5.0% при относительной погрешности P=95%, что укладывается в диапазон регламентируемый ГФ.

Resume. The article presents the results of studying the polyphenol composition of herb *Glechoma hederacea* L. by the method converts-phase high-performance liquid chromatography. The presence of 11 components, which by UV spectroscopic characteristics attributed to the hydroxycinnamic acids and flavonoids. The predominant flavonoids *G. hederacea* L. are glycosides of quercetin, a smaller proportion of falls on the luteolin glycosides, kaempferol and apigenin. A very important component in the composition of polyphenols *G. hederacea* L. is rosmarinic acid. Also, the method of quantitative determination of polyphenolic compounds in the polyphenolic complex grass *G. hederacea* L. was developed based on rutin, caffeic acid, ferulic acid, giperozid and luteolin-7-glucoside. Established routine maintenance, coffee acid, hyperoside and luteolin-7-glucoside in the sample polyphenol complex grass was 1.83%, 4.7%, 2.21% and 1.41% respectively. The error of a single determination in all cases did not exceed 5.0% with a relative error of P=95%, which is within the range regulated by the GF.

Ключевые слова: будра плющевидная, флавоноиды, экстракция, обращенно-фазная высокоэффективная жидкостная хроматография, фармацевтический ремейк.

Keywords: *Glechoma hederacea*, flavonoids, extraction, converted-phase high performance liquid chromatography, pharmaceutical remake.

Введение

Еще в XIX веке медицина имела в своем арсенале лекарственные средства только природного происхождения. Синтетических препаратов практически не существовало. Впоследствии чрезвычайно экспрессо произошел переход на синтетические лекарственные препараты и в насто-

ящее время они доминируют на потребительском рынке. Однако при этом утерян накопленный веками фитотерапевтический опыт.

Под термином «Фармацевтический ремейк» предложено понимать комплекс традиционных и инновационных технологических, аналитических и фармакологических операций (моделей), приводящих к возрождению ранее известных и ныне не используемых лекарственных составов и форм [Новиков и др., 2014].

Будра плющевидная (*Glechoma hederacea* L.) - другие названия: расходник плющевидный, собачья мята, котовник, душистые кудри, райская трава, земляной плющ, грудная трава, кудра, котовы яички, крыночная трава, кошачья мята, мяточник, опуховая трава, подбируха, сороканеуджная трава – травянистое растение, распространённое на территории европейской части России, Кавказе, в Казахстане, Средней Азии, давно известное человечеству как лекарственное. Трава будры плющевидной (*Herba Hederæ terrestris*) в свежем и высушенном виде широко употреблялась как «универсальное тоническое и стимулирующее средство при хроническом катаре, влажной астме, «легочных страданиях, кожных болезнях, при заболеваниях мочевого пузыря, камнях, а также при душевных страданиях и ипохондрии», свежее растение являлось основной составляющей, так называемых, травяных супов. «В фармации оно имеет значение постольку, поскольку заменяет в розничной продаже другие, вышедшие из употребления травы, потому именно, что обладает целебной силою других трав сомнительного действия» [Хагер, 1893].

Данное растение было включено в ранние издания русской фармакопеи. В немецкой рецептуре указывался свежий сок и высушенная трава котовника как противолихорадочное средство для приема внутрь в виде порошка и настоя, в составе сборов [Рытов, 1918].

Будра плющевидная обладает противовоспалительным, антисептическим, обезболивающим, кровоостанавливающим, отхаркивающим, потогонным, диуретическим, желчегонным свойствами. Также она возбуждает аппетит, улучшает пищеварение, стимулирует общий обмен веществ [Будра плющевидная, 2016, эл.ресурс].

Сегодня натуропаты рекомендуют настой травы будры при заболеваниях дыхательной системы (ларингит, фарингит, коклюш, воспаление легких, хронический бронхит, бронхиальная астма), при воспалениях желудка и кишечника, при заболеваниях печени, которые сопровождаются плохим выделением желчи и др. Наружно настой будры предлагают применять при конъюнктивите, для заживления ран, язв и ожогов, при фурункулезе. Свежий сок травы котовника позиционируют как интраназальное средство от мигрени [Будра плющевидная, 2016, эл.ресурс].

На сайтах приводится различная экстенпоральная рецептура с будрой плющевидной [Будра плющевидная, 2016, эл.ресурс], основы для которой заложены уже к концу XIX века (рис. 1).



Рис. 1. Страницы из книги Х. Хагера «Руководство к фармацевтической и медико-химической практике. С прибавлениями, относящимися преимущественно к работам русских ученых по фармации и медицинской химии профессора А.В. Пеля», том III, Издание К.Л. Риккера 1893 года

Fig. 1. Pages from the book H. Hager «A Guide to the pharmaceutical, medical and chemical practice. With the additions, primarily related to the works of Russian scientists in the pharmaceutical and medical chemistry professor A.V. Pel» volume III, edition by K.L. Ricker in 1893

По современным данным научных источников *G. hederacea* L. оказывает выраженное антиоксидантное действие [Matkowski, 2008]. Кроме того, способность препаратов *G. hederacea* L. подавлять продукцию провоспалительных факторов имеет перспективу лечения заболеваний, в основе которых лежат патологические хронические воспалительные процессы [An et al., 2006]. В поле зрения отечественных исследователей *G. hederacea* L. попала давно, однако химический состав растения изучен фрагментарно.

Цель

Целью данного исследования явилось подтверждение перспективности травы *Glechoma hederacea* L. как официального лекарственного растительного сырья.

Материалы и методы

Будра плющевидная – *Glechoma hederacea* L., многолетнее травянистое растение высотой до 60 см. Стебель четырехгранный, укореняющийся. Цветоносные побеги поднимающиеся, высотой около 50 см. Листья черешковые, супротивные, почковидные или сердцевидные, по краю городчатые, усаженные редкими волосками. Цветки голубые или светло-фиолетовые, двугубые, неправильной формы, собраны по несколько штук, сидят в пазухах листьев (рис. 2). Плод сухой, распадающийся на 4 орешка. Созревает в июне [Артющенко и др., 1954].



Рис. 2. Внешний вид цветущего растения *G. hederacea* L.
Fig. 2. The appearance of flowering plants *G. hederacea* L.

Выделение полифенольных комплексов проводилось с использованием принципа получения сухих и густых экстрактов. Выбор экстрагента осуществлялся путем сравнения экстрагирующих свойств суммы флавоноидов спирто-водными смесями разных концентраций. По результатам проведенных экспериментов установлено, что наилучшим растворителем является спирт этиловый 70%-ный, обеспечивающий максимальный выход полифенольных соединений из всех исследованных объектов. Перед непосредственным экстрагированием полифенольных комплексов для каждого растительного объекта определяли коэффициент поглощения. Сумму полифенольных соединений получали методом реперколяции с незавершенным циклом в системе из трех перколяторов (метод Босина).

Очистку извлечений осуществляли путем отстаивания при температуре +4°C в течение 24 часов с последующей фильтрацией под вакуумом. Полученные фильтраты сгущали под вакуумом с помощью ротационного испарителя ИР-1 до получения вязкой консистенции, после чего высушивали в сушильном шкафу до образования твердой аморфной массы. Хранили полученные суммы в плотно закупоренной таре в эксикаторе над кальцием хлоридом безводным при комнатной температуре. Разделение проводили на обращенных фазах, поскольку флавоноидные гликозиды характеризуются умеренной полярностью. Элюировали смесями ацетонитрил – вода или этанол – вода с небольшим содержанием фосфорной или уксусной кислот. Эти подвижные фазы удобны для разделения сложных смесей как агликонов флавоноидов, так и их гликозидов в условиях изократического и градиентного элюирования. При выборе условий хроматографирования испытывались различные подвижные фазы. В ходе эксперимента установлено, что наибольшей селективностью по отношению к разделяемым компонентам обладают фазы состава: ацетонитрил – кислота фосфорная – вода, ацетонитрил – кислота уксусная – вода.

Флавоноиды различаются по своей полярности, вследствие этого использование изократического режима элюирования оказалось малоприменимым, поскольку в силу длительности временного диапазона не отвечало критерию экспрессности. Учитывая упомянутые ограничения, нами использован градиентный режим элюирования с изменением концентрации ацетонитрила от 10% до 90%. Применение данного варианта элюирования способствовало более полному вымыванию компонентов, что наглядно иллюстрируется представленными ниже хроматограммами. Элюирование начинали с водной фазы, постепенно увеличивая концентрацию ацетонитрила.

Для разделения исследуемых объектов использовали метод ОФ ВЭЖХ.



Хроматографические исследования проводили на хроматографическом приборе фирмы «Agilent Technologies 1200 Infinity» производства США с автоматическим пробоотборником Agilent 1200, вакуумным микродегазатором, градиентным насосом и термостатом той же серии. Электронные спектры поглощения регистрировали с помощью спектрофотометрического детектора с диодной матрицей серии Agilent 1200 (диапазон длин волн от 190 до 950 нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм; объемом 13 мкл), шаг сканирования - 2 нм.

Для регистрации и обработки спектральных данных и хроматограмм использовали программное обеспечение «Agilent Chem Station».

Для испытаний использовали ряд стальных хроматографических колонок, наиболее подходящими из которых оказались: Reprosil-Pur C18-AQ 3 μm \times 150 мм \times 2 мм и Ascentis express C18 2,7 μm \times 100 мм \times 4.6 мм.

Для приготовления подвижных фаз использовали следующие растворители: воду сверхчистую (для жидкостной хроматографии), спирт этиловый (по ГОСТ Р 51652), ацетонитрил (для жидкостной хроматографии), кислоту уксусную ледяную (квалификация х.ч. по ГОСТ 61), кислоту ортофосфорную 85%-ную (по ГОСТ 6552).

Эффективность колонки определяли вычислением числа теоретических тарелок N . Чем выше эффективность, тем больше эта величина и меньше расширение пика первоначально узкой полосы по мере продвижения ее через колонку, тем уже пик на выходе из колонки [Сакодынский и др., 1993; Будра плющевидная 2016, эл.ресурс]. В качестве оптимального критерия эффективности колонки использована величина - не менее 5000 [European Pharmacopoeia 2005].

Расчет числа теоретических тарелок проводили по формуле 1:

$$N = \left(\frac{t}{\mu_{0.5}} \right)^2, \quad (1)$$

где t - время удерживания определяемого вещества, мм;

$\mu_{0.5}$ - ширина на половине высоты пика, мм.

Основным критерием оценки адекватного разделения соседних пиков служил коэффициент разделения R_s , который должен быть не менее 1.5 согласно Европейской Фармакопее [European Pharmacopoeia, 2005]. При этом пики должны быть разделены по базовой линии.

Коэффициент разделения пиков R_s вычисляли по формуле 2:

$$R_s = \frac{\Delta l}{\mu_{0.5(1)} + \mu_{0.5(2)}}, \quad (2)$$

где Δl - расстояние между вершинами двух соседних пиков, мм;

$\mu_{0.5(1)}$, $\mu_{0.5(2)}$ - ширина на половине высоты пиков двух компонентов, мм.

Форму хроматографического пика, характеризующую перегрузку хроматографической колонки, определяли путем расчета коэффициента асимметрии пика (T_f) по формуле 3:

$$T_f = \frac{\mu_{0.05}}{2 \times f}, \quad (3)$$

где $\mu_{0.05}$ - ширина пика на высоте 5.0% от базовой линии, мм;

f - расстояние от начала пика на высоте 5.0% от базовой линии до перпендикуляра, проведенного из его вершины, мм.

Оптимальной величиной коэффициента асимметрии T_f принят показатель - менее 2 [European Pharmacopoeia 2005].

Суммы полифенольных комплексов и антоцианов подвергали хроматографическому разделению в следующих условиях:

- подвижная фаза: (А) - водный раствор кислоты ортофосфорной (рН ~ 2), (Б) - ацетонитрил или 0.5%-ный водный раствор кислоты уксусной (А) - ацетонитрил (Б) в градиентном режиме элюирования;

- колонки: Reprosil-Pur C18-AQ 3 μm \times 150 мм \times 2 мм и Ascentis express C18 2.7 μm \times 100 мм \times 4.6 мм;

- скорость подвижной фазы - 0.25 мл/мин;

- температура колонки +35°C;

- объем вводимой пробы 5 μl .

Состав подвижной фазы программировали в условиях, указанных в табл. 1.

Таблица 1

Table. 1

Условия градиентного элюирования флавоноидов
Terms gradient elution flavonoids

Время, мин	А,%	Б,%
0	90	10
10	80	20
20	70	30
30	50	50
40	10	90



Детектирование осуществляли: для антоцианов 520 нм, флавонов и флавонолов 360 нм, изофлавонов – 262 нм, оксикоричных кислот 325 нм.

Для хроматографирования полифенольных комплексов, брали точные навески в количестве 0,1 г, помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляли 10 мл спирта этилового 70%-ного или воды, взбалтывали до полного растворения и доводили тем же растворителем до метки. Полученный раствор в количестве 5 µl подвергали хроматографическому разделению.

Для определения флавоноидов и оксикоричных кислот в препарате «Хофитол» его таблетки измельчали в ступке, помещали в колбу вместимостью 100,0 мл, добавляли 25,0 мл воды очищенной и взбалтывали. Полученную супернатантную жидкость фильтровали в мерную колбу емкостью 50 мл. К остатку таблеточной массы добавляли еще 25,0 мл воды, взбалтывали и фильтровали в ту же мерную колбу.

Перед хроматографированием некоторых полифенольных комплексов возникала необходимость в их предварительной очистке, которую осуществляли с помощью обратимой сорбции на полиамидном сорбенте. Для этого использовали шприц медицинский емкостью 20,0 см³. Из шприца извлекали поршень, на дно патрона помещали фильтровальную бумагу соответствующего диаметра и засыпали полиамидный сорбент в количестве 10,0 г. В подготовленный патрон по частям вводили исследуемый раствор, полученный растворением 0,1 г полифенольного комплекса в воде очищенной и доведенный до метки в мерной колбе емкостью 25 мл тем же растворителем. С помощью поршня удаляли всю жидкость. Для очистки суммы полифенолов от липофильных компонентов слой сорбента обрабатывали хлороформом. Очищенную сорбированную сумму флавоноидов десорбировали спиртом этиловым 95%-ным.

Идентификацию компонентов осуществляли по совпадению времен удерживания анализируемых веществ со СО зафиксированных в аналогичных условиях эксперимента и по результатам диодно-матричного детектирования.

Относительное содержание индивидуальных флавоноидов, оксикоричных кислот и антоцианов определяли как отношение площади хроматографического пика и суммы площадей пиков всех идентифицированных флавоноидов, оксикоричных кислот и антоцианов по формуле 4:

$$X_i = \frac{S_i \times 100}{\sum S} , \quad (4)$$

где S_i – среднее значение площади пика компонента на хроматограммах суммы;
 $\sum S$ – среднее значение суммы всех площадей пиков на хроматограммах.

Примечание:

1. Приготовление растворов СО. 10 мг СО помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 80 мл спирта этилового 95%-ного, доводили объем раствора этим же растворителем до метки и перемешивали.

2. Приготовление подвижной фазы А. 40 мл кислоты фосфорной концентрированной (хч) помещали в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводили объем раствора водой сверхочищенной (HPLC) до метки и перемешивали. рН раствора должно быть в пределах величин 2-3.

3. Приготовление подвижной фазы Б. Для хроматографии использовали ацетонитрил для хроматографии.

4. Контроль пригодности хроматографической системы.

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- эффективность хроматографической системы, рассчитанная по пику СОВС на хроматограмме раствора СО соответствующего вещества, должна быть не менее 5000 теоретических тарелок;

- коэффициент разделения двух соседних пиков на хроматограммах должен быть не менее 1,5.

- коэффициент асимметрии пиков должен быть менее 2;

Количественное определение флавоноидов проводили методом абсолютной градуировки. В качестве СО использовали рутин, гиперозид, кислоту кофейную, лютеолин-7-глюкозид, кислоту феруловую.

Для построения градуировочных графиков 0,02 г (аналитическая навеска) СО помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляли 10 мл спирта этилового 95%-ного, тщательно взбалтывали до полного растворения и доводили до метки этим же растворителем (раствор А).

Из полученного раствора А далее готовили серию калибровочных растворов, состоящую из 6 образцов. Для этого в каждую из 6 мерных колб вместимостью 25 мл пипеткой переносили раствор А в объемах: 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 12,5, 15,0 мл, содержаемое колб тщательно перемешивали и доводили спиртом этиловым 95%-ным до метки (растворы Б).

Далее в хроматограф вводили по 5 µl полученных калибровочных растворов и регистрировали их площади пиков. По результатам строили графики зависимости площади пика от количества введенного вещества. Полученные градуировочные графики представлены на рис. 3–7.

Как следует из приведенных градуировочных графиков, установлена прямолинейная зависимость между площадями пиков компонентов от их концентрации в выбранных диапазонах концентраций.

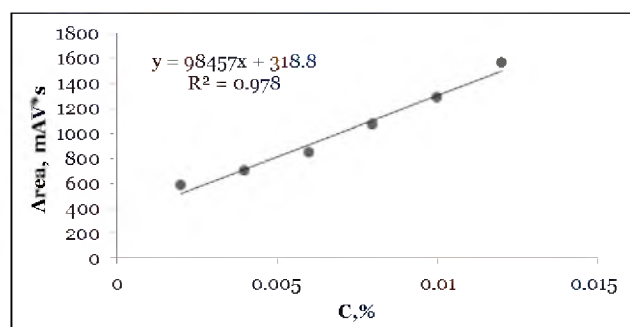


Рис. 3. Градуировочный график зависимости площади пика СО рутина от концентрации
Fig. 3. The calibration plot of the peak area of the standard sample of rutin on the concentration

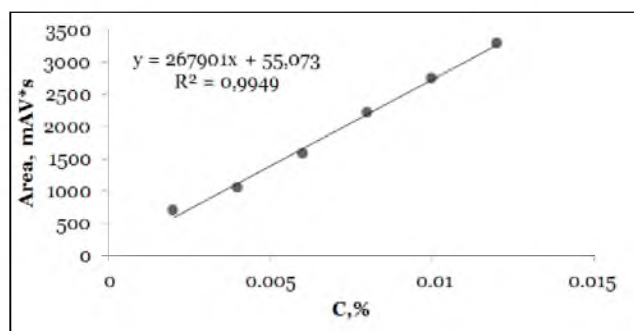


Рис. 4. Градуировочный график зависимости площади пика СО кислоты кофейной от концентрации
Fig. 4. The calibration plot of the peak area of the standard sample of coffee acid on the concentration

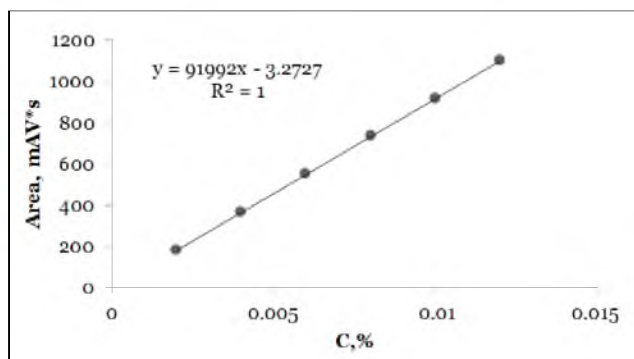


Рис. 5. Градуировочный график зависимости площади пика СО гиперозида от концентрации
Fig. 5. The calibration plot of the peak area of the standard sample of hyperoside on the concentration

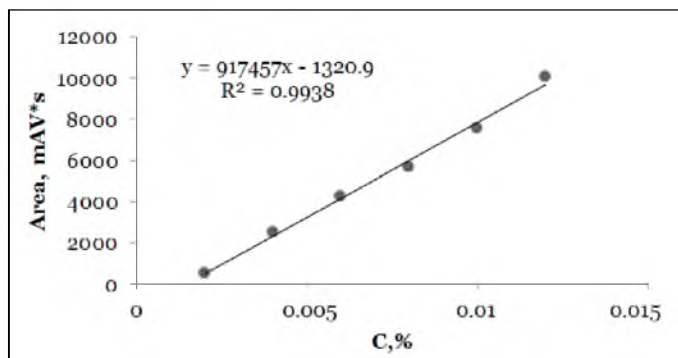


Рис. 6. Градуировочный график зависимости площади пика СО кислоты феруловой от концентрации
Fig. 6. The calibration plot of the peak area of the standard sample of ferulic acid on the concentration

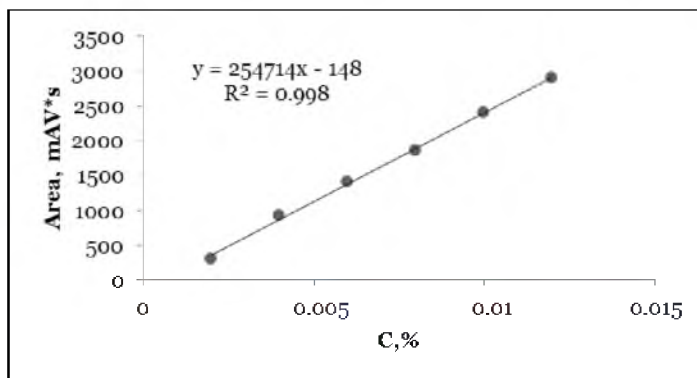


Рис. 7. Градуировочный график зависимости площади пика СО лутеолин-7-глюкозида от концентрации
 Fig. 7. The calibration plot of the peak area of the standard sample of luteolin-7-glycoside on the concentration

Далее у анализируемых компонентов измеряли площади пика и на основании градуировочного графика рассчитывали их количество по формуле 5:

$$x = \frac{C_{ст} \times W \times 100}{m \times (100 - B)}, \tag{5}$$

где $C_{ст}$ – количество суммы флавоноидов, найденных по калибровочному графику, %

m – масса навески образца;

W – разведение образца;

B – потеря в массе при высушивании образца.

Густой экстракт из травы будры плющевидной получали методом циркуляционной экстракции.

Для получения густого экстракта воздушно-сухое сырье травы будры плющевидной загружали в экстрактор, соединяли с колбой - испарителем - сборником и холодильником, заливали спиртом этиловым 70%-ным и экстрагировали до истощения растительного материала. Далее из полученной вытяжки отгоняли растворитель под вакуумом с помощью ротационного испарителя ИР-1 до получения густого экстракта [Писарев и др., 2012].

Результаты и их обсуждение

Методом ОФ ВЭЖХ удалось идентифицировать флавоноиды и оксикоричные кислоты в полифенольном комплексе травы *G. hederacea* L.

Хроматограмма разделения суммы полифенолов *G. hederacea* L. представлена на рис. 8.

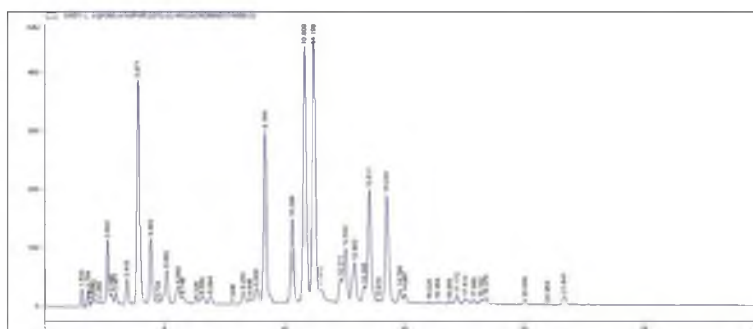


Рис. 8. Хроматограмма разделения полифенольного комплекса травы *G. hederacea* L.
 (детекция диодно-матричная, $\lambda=360$ нм)

Fig. 8. Chromatogram of the separation of phenolic complex fields herb *G. hederacea* L.
 (diode array detection at $\lambda=340$ nm)

Результаты расчета критериев проверки пригодности использованной хроматографической системы приведены в табл. 2.

Таблица 2
Table. 2

Показатели пригодности хроматографической системы для определения полифенолов *G. hederacea* L.
Indicators of system suitability for determining polyphenols *G. hederacea* L.

t_R	S	N	НЕТР	R_s	T_f	W_b
3.87	3176	14904	10.06	3.87	0.69	0.1268
9.16	2430	83234	1.8	2.7	0.80	0.127
10.29	1215.3	96936	1.5	8.75	0.96	0.1322
10.8	3814	97996	1.5	2.83	0.77	0.138
11.19	3837.5	106743	1.4	1.65	0.81	0.137
13.51	1521.2	165092	0.9	1.85	0.75	0.133

Примечание: t_R - абсолютное время удерживания, S - площадь пика, N - число теоретических тарелок, R_s - коэффициент разделения пиков, T_f - коэффициент асимметрии, W_b - ширина пика на базовой линии

Как свидетельствуют данные табл. 2, основные критерии ($N > 5000$, $R_s > 1.5$, $T_f < 2$) соответствуют нормируемым значениям. Таким образом, использованная хроматографическая система может считаться пригодной для определения полифенолов *G. hederacea* L.

В результате хроматографирования обнаружены вещества фенольного характера, по УФ-спектроскопическим характеристикам отнесенные к флавоноидам и оксикоричным кислотам. Компонентный состав полифенольного комплекса травы *G. hederacea* L. представлен в табл. 3.

Таблица 3
Table. 3

Компонентный состав полифенольного комплекса травы *G. hederacea* L.
Component composition of polyphenol complex herb *G. hederacea* L.

Время Удерживания, мин	УФ-спектр	Содержание внутри группы, %	Относительное содержание в сумме, %	Идентифицированный компонент
2.6		10.3	7.2	Кислота хлорогеновая
3.89		46.5	36.3	Кислота кофейная
5.06 – 8.81		10.01	6.98	Дикафеоил-хинные кислоты
9.19		17.1	5.1	Кверцетин-3-галактозид (гиперозид)

Окончание табл. 3

10.08		7.6	2.3	Кверцетин-3- глюкозид (изоквер- цитрин)
10.21		21.5	6.46	Кверцетин-3- рутинозид (рутин)
11.2		27.5	8.2	Лютеолин-7-глюкозид
12.52		7.6	2.3	Кемпферол-3- галактозид
12.89		4.7	1.42	Кемпферол-3- глюкозид
13.57		13.8	4.1	Апигенин-7-глюкозид
14.23		18.8	13.1	Кислота розмариновая

Общее процентное распределение полифенолов в полифенольном комплексе *G. hederacea* L. представлено на рис. 9.



Рис. 9. Общее процентное распределение полифенолов в полифенольном комплексе травы *G. hederacea* L.
Fig. 9. Total percentage distribution of polyphenols in the polyphenol complex herb *G. hederacea* L.

Состав и процентные соотношения флавоноидов в полифенольном комплексе травы *G. hederacea* L. представлены на рис. 10.



Рис. 10. Состав и процентное соотношение флавоноидов в полифенольном комплексе травы *G. hederacea* L.
Fig. 10. The composition and percentage of complex polyphenolic flavonoids herb *G. hederacea* L.

Представленные в табл. 3 и на рис. 10 данные показывают, что доминирующими флавоноидами *G. hederacea* L. являются гликозиды кверцетина, меньший удельный вес приходится на гликозиды лютеолина, кемпферола и апигенина. Также очень важным компонентом в составе полифенолов *G. hederacea* L. является кислота розмариновая, которую рассматривают как перспективное средство для профилактики злокачественных новообразований эпителиальной природы, действующее путем модуляции активности AP-1 и экспрессии гена ЦОГ-2. Кроме того розмариновая кислота известна своими активными противовоспалительными и антиоксидантными свойствами. Комплексный препарат на основе розмариновой кислоты и флавоноидов показал активность против вируса клещевого энцефалита [Крылова и др., 2009].

Образец пробы, подготовленный для анализа в методе ОФ ВЭЖХ, подвергали испытанию методом *MALDI/TOF/MS*. Время анализа с обработкой данных составило около 5 минут. Результаты представлены на рис. 11.

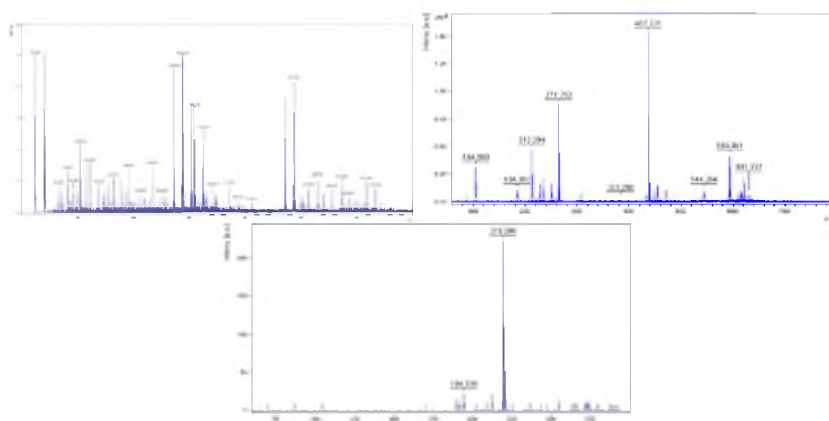


Рис. 11. Масс-спектры полифенольного комплекса травы *G. hederacea* L.
Fig. 11. Mass spectra polyphenol complex herb *G. hederacea* L.

Полученные масс-спектры позволили без предварительного фракционирования обнаружить молекулярные массы флавоноидов *G. hederacea* L. В частности, пики молекулярных ионов с зарядами $m/z=272.408$; $m/z=287.364$; и $m/z=303$ принадлежат молекулярным массам агликонов флавоноидов, а именно апигенину, лютеолину/кемпферолу и кверцетину соответственно. Пик молекулярного иона с зарядом $m/z=433,221$ соответствует гликозидной форме апигенина, пик иона с $m/z=449$ указывает на гликозидирование агликона лютеолина/кемпферола, а пик иона с $m/z=487.266$ и 633.249 соответствуют моно- и дигликозидной формам кверцетина [Писарев и др., 2011].



Количественное определение полифенольных соединений в полифенольном комплексе травы *G. hederacea* L. проводили в процессе хроматографирования в пересчете на рутин, кислоту кофейную, кислоту феруловую, гиперозид и лютеолин-7-глюкозид по результатам зарегистрированных площадей пиков компонентов на хроматограммах, полученных в ходе 7 параллельных экспериментов.

Выбор перечисленных компонентов в качестве базовых образцов обусловлен их доминирующим содержанием в объекте.

Результаты количественного определения флавоноидов и оксикоричных кислот в полифенольном комплексе травы *G. hederacea* L., вычисленные по калибровочным графикам, представлены в табл. 4–7.

Таблица 4
Table. 4

Результаты количественного определения рутина в полифенольном комплексе травы *G. hederacea* L.
The results of the quantitative determination of the rutin in polyphenolic complex of herb *G. hederacea* L.

№ п/п	Масса навески, г	Содержание рутина в полифенольном комплексе (X),%	S	$\overline{\Delta X}$	ϵ , %
1.	0.1032	1.89	0.021325	0.05225	2.86
2.	0.097	1.78			
3.	0.095	1.75			
4.	0.1027	1.88			
5.	0.1016	1.86			
6.	0.0978	1.79			
7.	0.1021	1.87			
		$\overline{X} = 1.83$			

Таблица 5
Table. 5

Результаты количественного определения кислоты кофейной в полифенольном комплексе травы *G. hederacea* L.
The results of the quantitative determination of the acid in the coffee polyphenol complex of herb *G. hederacea* L.

№ п/п	Масса навески, г	Содержание кислоты кофейной в полифенольном комплексе (X),%	S	$\overline{\Delta X}$	ϵ , %
1.	0.1032	4.78	0.062	0.15	3.25
2.	0.097	4.50			
3.	0.095	4.48			
4.	0.1027	4.87			
5.	0.1016	4.66			
6.	0.0978	4.81			
7.	0.1021	4.86			
		$\overline{X} = 4.70$			

Таблица 6
Table. 6

Результаты количественного определения гиперозида в полифенольном комплексе травы *G. hederacea* L.
The results of the quantitative determination of the hyperoside in polyphenol complex of herb *G. hederacea* L.

№ п/п	Масса навески, г	Содержание гиперозида в полифенольном комплексе (X),%	S	$\overline{\Delta X}$	ϵ , %
1.	0.1032	2.3	0.027	0.0661	3.0
2.	0.097	2.15			
3.	0.095	2.11			
4.	0.1027	2.28			
5.	0.1016	2.25			
6.	0.0978	2.17			
7.	0.1021	2.26			
		$\overline{X} = 2.21$			

Таблица 7
Table. 7

Результаты количественного определения лютеолин-7-глюкозида в полифенольном комплексе травы *G. hederacea* L.
The results of the quantitative determination of the luteolin-7-glycoside in polyphenol complex of herb *G. hederacea* L.

№ п/п	Масса навески, г	Содержание лютеолин-7-глюкозида в полифенольном комплексе (X),%	S	$\Delta\bar{X}$	ε , %
1.	0.1032	1.46	0.018	0.0441	3.12
2.	0.097	1.36			
3.	0.095	1.34			
4.	0.1027	1.45			
5.	0.1016	1.43			
6.	0.0978	1.38			
7.	0.1021	1.44			
		$\bar{X} = 1.41$			

В соответствии с табличными данными содержание рутина, кислоты кофейной, гиперозида и лютеолин-7-глюкозида в образце полифенольного комплекса травы составило 1.83%, 4.7%, 2.21% и 1.41% соответственно. Ошибка единичного определения во всех случаях не превышала 5.0% при относительной погрешности $P=95\%$, что укладывается в диапазон регламентируемый ГФ.

Отдельным этапом исследования явилась разработка лекарственная форма - экстракт густой из травы будры плющевидной. Полученный продукт представлял собой коричневую массу со слабым специфическим ароматным запахом. Экстракт растворим в воде, медленно в спирте этиловом, нерастворим в эфире, хлороформе [Писарев и др., 2012].

Заключение

Известно, что количество лекарственных растений достигает 20 тысяч, однако официальной медициной пока используется около 300. В последние десятилетия в связи с появлением новой нозологической формы – «лекарственной болезни» – актуальность применения препаратов из растительного сырья возрастает непомерно.

Путь введения в официальную рецептуру лекарственных форм на основе биологически активных соединений ранее известных в официальной и народной медицине лекарственных растений предоставляет в распоряжение разработчиков практически неограниченные возможности. Данный путь расширения номенклатуры лекарственных средств выглядит достаточно рациональным и малозатратным, т.к. нет необходимости заниматься полномасштабным научным поиском.

Представленные в данной статье материалы о будре плющевидной иллюстрируют приведенные умозаключения.

Список литературы References

Артющенко З. Т., Васильев А. В., Гзырян М. С. 1954. Деревья и кустарники СССР: дикорастущие, культивируемые и перспективные для интродукции. Покрытосеменные. Семейства троходендровые-розочетные. М., Л., Изд-во АН СССР. 3: 872.

Artjushhenko Z. T., Vasil'ev A. V., Gzyrjan M. S. 1954. Derev'ja i kustarniki SSSR: dikorastushhie, kul'tivirovannye i perspektivnye dlja introdukcii. Pokrytosemennye. Semejstva trohodendrovye-rozocvetnye [Trees and shrubs of the USSR: wild, cultivated and promising for the introduction. Angiosperms. Family-trohodendrovye Rosaceae] M., L., Izd-vo AN SSSR. 3: 872. (in Russian)

Крылова Н. В., Леонова Г. Н., Попов А. М. 2009. Противовирусная активность комплексного препарата розмариновой кислоты, полученной из *Zostera asiatica*, в отношении возбудителя клещевого энцефалита. Тихоокеанский медицинский журнал. 3: 86-88.

Krylova N. V., Leonova G. N., Popov A. M. 2009. Protivovirusnaja aktivnost' kompleksnogo preparata rozmarinovej kisloty, poluchennoj iz *Zostera asiatica*, v otnoshenii vozbuditelja kleshhevogo jencefalita [The antiviral activity of the drug complex rosmarinic acid derived from *Zostera asiatica*, against the causative agent of tick-borne encephalitis] Tihookeanskij medicinskij zhurnal, 3: 86-88. (in Russian)

Новиков О.О., Писарев Д.И., Жилиякова Е.Т. 2014. Можжевельник: фитохимия и фармакология рода *Juniperus* L. М., ПАМН, 178.

Novikov O.O., Pisarev D.I., Zhiljakova E.T. 2014. Mozhzhevel'nik: fitohimija i farmakologija roda *Juniperus* [Juniper: Phytochemistry and pharmacology genus *Juniperus*] L. M., RAMN, 178. (in Russian)

Писарев Д. И., Новиков О.О., Шабельникова А. С. 2012. Изучение химического состава травы будры плющевидной и разработка на ее основе лекарственной формы. Современные проблемы науки и образования, № 4: 307.

Pisarev D. I., Novikov O.O., Shabel'nikova A. S. 2012. Izuchenie himicheskogo sostava travy budry pljushhevidnoj i razrabotka na ejo osnove lekarstvennoj formy [A study of the chemical composition of herb *Boudreau hederacea* and development on the basis of its formulation.] *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*, 4: 307. (in Russian)

Писарев Д. И., Новиков О. О., Сорокопудов В. Н. 2011. Химическое изучение флавоноидов будры плющевидной (*Glechomae hederaceae* L.) Научные ведомости БелГУ. Серия «Естественные науки». Вып. 14 (3): 179-185.

Pisarev D. I., Novikov O. O., Sorokopudov V. N. 2011. Himicheskoe izuchenie flavonoidov budry pljushhevidnoj (*Glechomae hederaceae* L.) [Chemical studies of flavonoids *Glechoma hederacea* (*Glechomae hederaceae* L.)] *Nauchnye vedomosti BelGU. Serija «Estestvennye nauki»*. Вып. 14 (3): 179-185. (in Russian)

Рытов М.В. 1918. Русские лекарственные растения. Полное практическое руководство для хозяев и для преподавания. Петроград, Издательство П.П. Сойкина. 1: 59.

Rytov M.V. 1918. Russkie lekarstvennye rastenija. Polnoe prakticheskoe rukovodstvo dlja hozjaev i dlja prepodavaniya [Russian medicinal plants. Full practical guidance for employers and for teaching]. Petrograd, Izdatel'stvo P.P. Sojkina. 1: 59. (in Russian)

Сакодынский К. И., Бражников В. В., Волков С. А. 1993. Аналитическая хроматография. М., Химия, 464.

Sakodynskij K. I., Brazhnikov V. V., Volkov S. A. 1993. Analiticheskaja hromatografija [Analytical chromatography] М., Химия, 464. (in Russian)

Хагер Х. 1893. Руководство к фармацевтической и медико-химической практике. С прибавлениями, относящимися преимущественно к работам русских ученых по фармации и медицинской химии профессора А.В. Пеля. Издание К.Л. Риккера. 3: 12-13.

Hager H. 1893. Rukovodstvo k farmacevticheskoj i mediko-himicheskoj praktike. S pribavlenijami, odnosjashhimisja preimushhestvenno k rabotam russkih uchenyh po farmacii i medicinskoj himii professora A.V. Pelja [A Guide to the pharmaceutical, medical and chemical practice. With the additions, primarily related to the works of Russian scientists in the pharmaceutical and medical chemistry professor A.V. Pel]. Izdanie K.L. Rikкера. 3: 12-13. (in Russian)

Будра плющевидная (*Glechoma hederacea*). URL: <http://www.spravlektrav.ru/av/budra.html> (дата обращения 12.02.2016).

Budra plyushchevidnaya (*Glechoma hederacea*). Available at: <http://www.spravlektrav.ru/av/budra.html> (accessed 12.02.2016) (in Russian).

Будра плющевидная (*Glechoma hederacea*). URL: <http://medtravi.com/travy-i-rasteniya/budra-plyushhevidnaya.html> (дата обращения 12.02.2016).

Budra plyushchevidnaya (*Glechoma hederacea*). Available at: <http://medtravi.com/travy-i-rasteniya/budra-plyushhevidnaya.html> (accessed 12.02.2016). (in Russian)

Будра плющевидная (*Glechoma hederacea*). URL: <http://recipehealth.ru/chem-lechim/budra-plyushhevidnaya.html> (дата обращения 15.02.2016).

Budra plyushchevidnaya (*Glechoma hederacea*). Available at: <http://recipehealth.ru/chem-lechim/budra-plyushhevidnaya.html> (accessed 15.02.2016). (in Russian)

Будра плющевидная (*Glechoma hederacea*). URL: <http://nmedic.info/story/budra-plyushchevidnaya> (дата обращения 15.02.2016).

Budra plyushchevidnaya (*Glechoma hederacea*). Available at: <http://nmedic.info/story/budra-plyushchevidnaya> (accessed 15.02.2016). (in Russian)

An H. J., Jeong H. J., Um J. Y. [et al.]. 2006. *Glechoma hederacea* inhibits inflammatory mediator release in IFN-gamma and LPS-stimulated mouse peritoneal macrophages. *J. Ethnopharmacol.* 106 (3): 418-424.

European Pharmacopoeia. 2005. European Directorate for Quality of Medicines and Health care. Strasbourg, Council of Europe. 2 vol., 5 th ed.

Matkowski A. 2008. Antioxidant activity of extracts and different solvent fractions of *Glechoma hederacea* L. and *Orthosiphon stamineus* (Benth.) Kudo. *Adv. Clin. Exp. Med.* 17 (6): 615-624.