

УДК 615.2/3+615.015.32

Н. О. ВЕТЮТНЕВА¹, д-р фарм. наук, проф., А. П. РАДЧЕНКО¹, здобувач,

В. І. ТОДОРОВА¹, канд. фарм. наук, доцент, Л. Б. ПИЛИПЧУК¹, канд. фарм. наук, доцент,

О. І. ГОЛЕМБІОВСЬКА¹, провізор, О. П. ПАЛАМАРЧУК², канд. біол. наук

¹ Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ

² Національний ботанічний сад імені М. М. Гришка НАН України, м. Київ

ДОСЛІДЖЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК МАТРИЧНОЇ НАСТОЙКИ РУТИ ЗАПАШНОЇ (*RUTA GRAVEOLENS* L.) МЕТОДОМ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Ключові слова: матрична настойка, *Ruta graveolens*, фенольні сполуки, рідинна хроматографія

Рута запашна (*Ruta graveolens* L.), багаторічна трав'яниста рослина родини Рутових (*Rutaceae*). Стебла прямостоячі, 20–60 см заввишки, розгалужені, біля основи дерев'яніючі. Листки сизуваті, двічі-тричі перисторозсічені. Жовто-зелені або жовті дрібні квіти зібрані у верхівковому щитковидному суцвітті. Цвіте рута в червні–липні, виділяючи важкий і не дуже приємний аромат. Можливо, тому в давнину назвали її *graveolens*, що перекладається з латинської як «сильно пахне». Проте висушена рослина пахне приємно, чимось нагадує за ніжністю аромат троянди. Плоди – чотири-, або п'ятигнізді коробочки, дрібні, чорного кольору.

Батьківщиною рути прийнято вважати Середземномор'я, але тепер рослина поширена практично в усіх країнах Європи і Близького Сходу. Культивується у Франції, в Іспанії, Італії та Балканських країнах. В Україні рута запашна у дикому стані росте лише в Криму, у південно-західній частині країни – культивується як декоративна, лікарська та ефіроносна рослина [2, 6].

Ruta graveolens містить різноманітні групи біологічно активних сполук (БАС), у тому числі флавоноїди, фурукумарини і кумарини, фенолкарбонові кислоти, ефірні олії, алкалоїди, смолисті речовини, жирні кислоти, гіркоти, дубильні речовини, сапоніни. Одночасний вміст алкалоїдів і ефірної олії обумовлює унікальність рути запашної в рослинному світі [1, 2, 5, 7, 9].

Завдяки хімічному складу БАС, *Ruta graveolens* є однією з найпопулярніших лікарських рослин у народній медицині та гомеопатії, але не є офіційною. Вона має широкий спектр терапевтичної дії і використовується як засіб для відновлення капілярного кровообігу в тканинах та розсмоктування післяопераційних рубців, ефективна при лікуванні очей, суглобів, кісної та хрящової тканини, надкисниці, посттравматичних больових відчуттів. Проте дотепер рута запашна вивчена недостатньо і тому викликає значний інтерес дослідників різного спрямування, у тому числі в галузі фармакогнозії, хімії природних сполук, фармакології та ін. В Україні траву рути запашної широко використовують у гомеопатичному методі лікування та народній медицині [1, 2, 5, 8, 9].

Метою нашої роботи стало вивчення складу та кількісного вмісту фенольних сполук гомеопатичної матричної настойки (ГМН) *Ruta graveolens* методом рідинної хроматографії.

Об'єкти та методи дослідження

Об'єктами дослідження були гомеопатичні матричні настойки *Ruta graveolens*,

виготовлені за технологією, описаною в ДФУ (метод 3b – із свіжої та свіжої у замороженому стані сировини, метод 4a – із сухої сировини) [3, 4].

Методом рідинної хроматографії (РХ) вивчали склад біологічно активних сполук зазначених об'єктів на вміст флавоноїдних агліконів і глікозидів та фенолкарбонових кислот.

Хроматографування виконували за таких умов: прилад – рідинний хроматограф Shimadzu LC-20 з ультрафіолетовим детектором; колонка – Phenomenex Synergi Fusion-Rp 80A, 250×4,6 мм, 4 мкм; швидкість рухомої фази – 1,0 мл/хв; об'єм інжекції – 5 мкл; температура – 35 °С. Детектування здійснювали спектрофотометрично в області довжин хвиль від 190 до 800 нм. Розділення робили методом зворотніх фаз.

Нами експериментально підібрано рухому фазу, яка складається із двох елюентів: рухома фаза А – 0,05% розчин кислоти трифтороцтової у воді, рухома фаза Б – 0,05% розчин кислоти трифтороцтової в ацетонітрилі; розроблена програма градієнта (табл. 1), встановлені параметри придатності хроматографічної системи.

Т а б л и ц я 1

Програма градієнтного елюювання

Час, хв	Рухома фаза А, % об/об	Рухома фаза Б, % об/об
5,00	95	5
30,00	60	40
40,00	50	50
45,00	50	50
45,01	20	80
50,00	20	80
50,01	95	5
65,00	95	5
65,00	stop	stop

Зазначені умови хроматографування дають змогу розділяти біологічно активні сполуки, що містяться в ГМН *Ruta graveolens*.

Результати дослідження та обговорення

Ідентифікацію розділених БАС здійснювали порівнянням часу утримування основних піків на хроматограмах гомеопатичних матричних настоек *Ruta graveolens*, виготовлених із свіжої, свіжої у замороженому стані та сухої сировини (трави) із часом утримування піків стандартних зразків кверцетину, гіперозиду, лутеоліну, рутину, апігенін-7-глюкозиду, хлорогенової, кавової та ферулової кислот (рис. 1.1, 1.2).

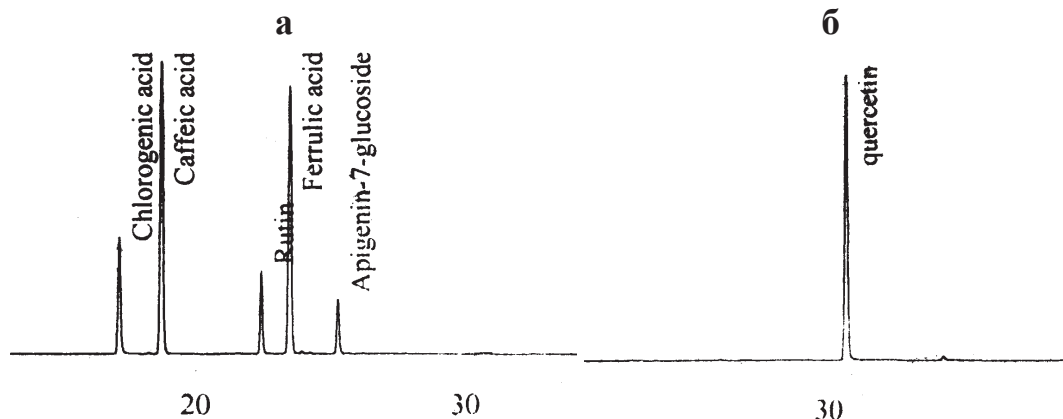


Рис. 1.1. Хроматограми стандартних зразків рутину, апігенін=7=глюкозиду, хлорогенової, кавової та ферулової кислот (а); кверцетину (б)

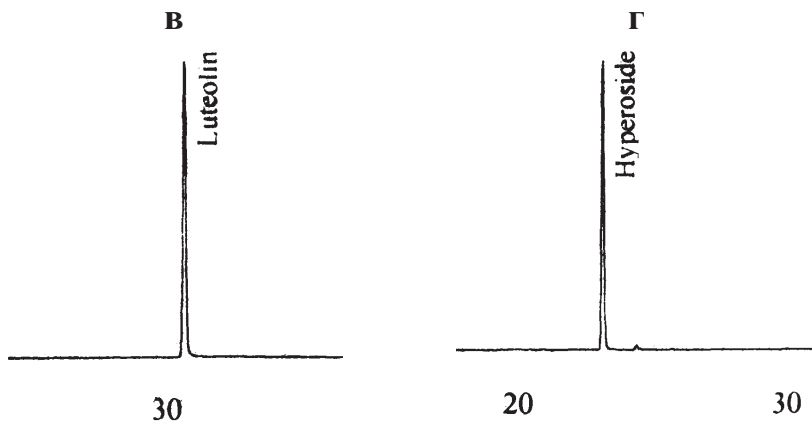
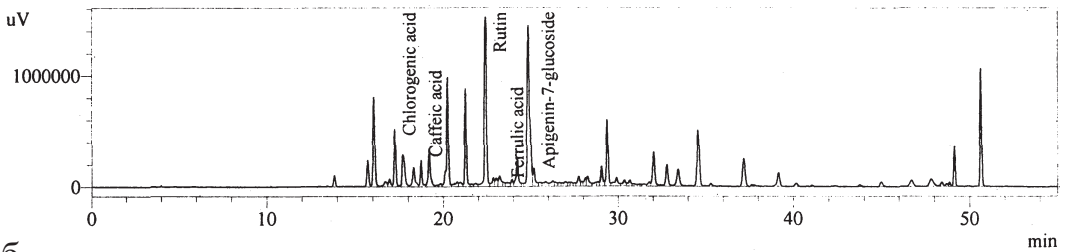


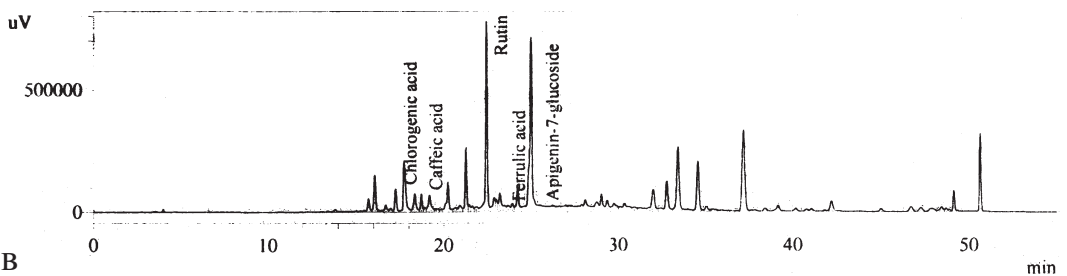
Рис. 1. 2. Хроматограми стандартних зразків лютеоліну (в) та гіперозиду (г)

В усіх зразках гомеопатичних матричних настоек *Ruta graveolens*, виготовлених із свіжої, свіжої у замороженому стані та сухої сировини було ідентифіковано 8 сполук фенольної природи – рутин, апігенін-7-глюкозид, кверцетин, лютеолін, гіперозид; хлорогенова, кавова і ферулова кислоти (рис. 2).

а



б



в

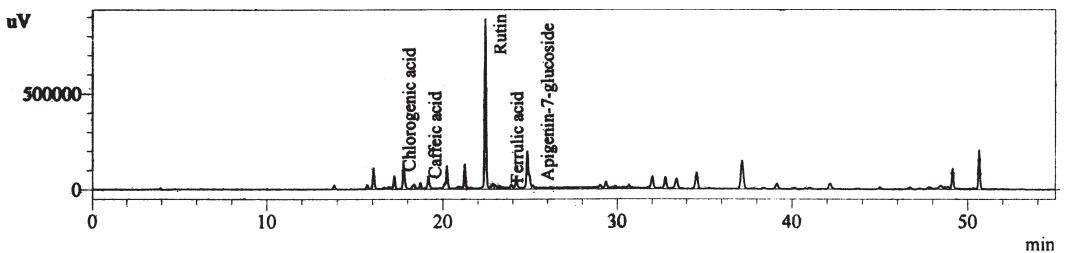


Рис. 2. Хроматограми гомеопатичної матричної настойки *Ruta graveolens*, одержаної із свіжої (а), свіжої у замороженому стані (б) та сухої сировини (в)

Нами розраховано кількісний вміст ідентифікованих БАС у досліджуваних об'єктах за формулою:

$$X(\text{мг/мл}) = \text{Arp} \cdot \text{Cst} / \text{Ast},$$

де *Arp* – площа піка досліджуваної речовини, на хроматограмі випробовуваного розчину;

Cst – концентрація стандартного зразка, мг/мл;

Ast – площа піка стандартного зразка на хроматограмі стандартного розчину.

Результати проведених досліджень наведено в табл. 2.

Таблиця 2

Кількісне визначення фенольних сполук в зразках гомеопатичної матричної настойки *Ruta graveolens* методом рідинної хроматографії (n=5)

Назва сполуки	Стандартний розчин		Гомеопатична матрична настойка					
			<i>Ruta graveolens</i>					
	<i>Ast</i>	\bar{C}_{st} , мг/мл	із свіжої сировини		із свіжої у замороженому стані сировини		із сухої сировини	
		<i>Arp</i>	\bar{X} , мг/мл	<i>Arp</i>	\bar{X} , мг/мл	<i>Arp</i>	\bar{X} , мг/мл	
Кверцетин	7572787	0,5184	993578	0,06802	168466	0,01153	351742	0,02408
Гіперозид	794697	0,83	852949	0,89084	340745	0,35588	187403	0,19573
Лютеолін	2274509	0,12	678382	0,03579	87552	0,00462	264268	0,01394
Хлорогенова кислота	3263927	0,236	3585062	0,25922	689612	0,04986	480761	0,03476
Кавова кислота	9022478	0,392	1617026	0,07026	486404	0,02113	244671	0,01063
Апігенін-7-глюкозид	1443983	0,096	1554847	0,10337	8310	0,00055	186571	0,01240
Рутин	2021131	0,396	13453053	2,63586	5432485	1,06439	5638228	1,10470
Ферулова кислота	8249486	0,36	270490	0,01180	240730	0,01051	63163	0,00276

Як свідчать одержані дані, кількісний вміст фенольних сполук у гомеопатичних матричних настойках *Ruta graveolens* залежить від стану використаної сировини. Максимальну концентрацію фенольних сполук виявлено в ГМН *Ruta graveolens*, виготовленій із свіжої сировини, із яких переважають рутин, гіперозид і хлорогенова кислота. Характерно, що рутин значно перевищує вміст інших біологічно активних сполук в усіх зразках ГМН *Ruta graveolens*.

Під час порівняння складу фенольних сполук у досліджуваних гомеопатичних матричних настойках спостерігали таку залежність їх вмісту від стану сировини (свіжа, свіжа у замороженому стані та суха): рутин, кверцетин, лютеолін, апігенін-7-глюкозид переважають в ГМН, виготовленій із свіжої сировини, дещо нижчий – із сухої сировини і найнижчий в ГМН, виготовленій із свіжої у замороженому стані сировини. Іншу залежність спостерігали для вмісту гіперозиду, хлорогенової, кавової і ферулової кислот в досліджуваних ГМН, а саме: свіжа сировина > свіжа у замороженому стані > суха сировина.

Отримані результати дають змогу стверджувати, що заморожування сировини призвело до зниження таких БАС як кверцетин, рутин, лютеолін, апігенін-7-глюкозид, а

висушування негативно вплинуло на збереження гіперозиду, хлорогенової, кавової, ферулової кислот і можуть відігравати вирішальну роль в обґрунтуванні стану сировини, яку використовують, та методу приготування ГМН *Ruta graveolens*.

В и с н о в к и

1. Методом рідинної хроматографії в гомеопатичних матричних настоянках *Ruta graveolens*, виготовлених із свіжої, свіжої у замороженому стані та сухої сировини, ідентифіковано 8 сполук фенольної природи: рутин, апігенін-7-глюкозид, кверцетин, лютеолін, гіперозид; хлорогенова, кавова і ферулова кислоти, серед яких переважають рутин (максимальна концентрація в усіх зразках), гіперозид і хлорогенова кислота та визначено їх кількісний вміст.

2. Встановлена залежність вмісту біологічно активних сполук в гомеопатичних матричних настоянках *Ruta graveolens* від стану вихідної сировини: заморожування сировини призводить до зменшення вмісту в ГМН кверцетину, рутину, лютеоліну, апігенін-7-глюкозиду, а висушування негативно впливає на збереження гіперозиду, хлорогенової, кавової і ферулової кислот.

3. Розроблені методики ідентифікації та кількісного визначення фенольних сполук в гомеопатичній матричній настойці *Ruta graveolens* за допомогою методу рідинної хроматографії можуть бути покладені в основу її стандартизації.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Вавилова Н. М.* Гомеопатическая фармакодинамика. В 2-х ч. – Смоленск: «Гомеопатический центр» / Москва: «Эверест», 1994. – 275 с.

2. *Гродзінський А. М.* Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник. – К., 1992. – С. 387–388.

3. *Державна Фармакопея України.* – 1-е вид. – Харків: PIPEG, 2001. – Доповнення 1. – 2004. – 520 с.

4. *Державна Фармакопея України.* – 1-е вид. – Доповнення 3. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2009. – 280 с.

5. *Д-р Вільмар Швабе.* «Руководство по изготовлению гомеопатических лекарств». Гомеопатические лекарственные средства: Рук-во по описанию и изготовлению, 1930. Пер. с нем. / Под ред. *В. И. Рыбака.* – М., 1967. – 372 с.

6. *Duke J. A.* *Handbook of Medicinal Herbs.* 2nd Edn. CRC Press, Boca Raton, FL, USA., ISBN: 0-8493-1284-1, 2002, pp: 896.

7. *Nazish I., Kaskoos R. A., Mir S. R. et al.* Preliminary Pharmacognostical Standardisation of *Ruta graveolens* L. Aerial Parts // *Research J. Med. Plant.* – 2009. – V. 3. – P. 41–44.

8. *Intesar T. Nauman, Maha N. Hamad, Saad A. Hussain.* Comparative Study of the Analgesic Activity of Two Iraqi Medicinal Plants, *Ruta graveolens* and *Matricaria chamomilla* Extracts // *Pharmacologia.* – 2012. – V. 3. – P. 627–631.

9. *Asgarpanah J., Khoshkam R.* Phytochemistry and pharmacological properties of *Ruta graveolens* L. // *J. Med. Plants Research.* – 2012. – V. 6 (23). – P. 3942–3949.

Надійшла до редакції 28. 01. 2013.

Н. А. Ветютнева¹, А. П. Радченко¹, В. И. Тодорова¹, Л. Б. Пилипчук¹,
О. І. Голембиовская¹, Е. П. Паламарчук²

¹Национальная медицинская академия последипломного образования
имени П. Л. Шупика, г. Киев

²Национальный ботанический сад имени Н. Н. Гришко НАН Украины, г. Киев

ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ МАТРИЧНОЙ НАСТОЙКИ РУТЫ ДУШИСТОЙ (*RUTA GRAVEOLENS* L.) МЕТОДОМ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Ключевые слова: матричная настойка, *Ruta graveolens*, фенольные соединения, жидкостная хроматография

А Н Н О Т А Ц И Я

Методом жидкостной хроматографии в гомеопатических матричных настойках *Ruta graveolens*, приготовленных из свежего, свежего в замороженном состоянии и сухого сырья, идентифицировано 8 соединений фенольной природы: рутин, апигенин-7-глюкозид, кверцетин, лютеолин, гиперозид; хлорогеновая, кофейная и ферруловая кислоты, среди которых преобладают рутин (максимальная концентрация во всех образцах), гиперозид и хлорогеновая кислота.

*N. A. Vetjutneva, A. P. Radchenko, V. I. Todorova, L. B. Pilipchuk, O. I. Golembiovska,
O. P. Palamarchuk*

STUDY OF PHENOLIC COMPOUNDS IN MATRIX TINCTURES *RUTA GRAVEOLENS* BY LIQUID CHROMATOGRAPHY

Key words: tincture, *Ruta graveolens*, phenolic compounds, liquid chromatography

A B S T R A C T

The method of a liquid chromatography in homeopathist matrix tinctures *Ruta graveolens*, made from fresh, fresh frozen and dry materials, identified eight phenolic compounds: rutin, apigenin-7-glucoside, quercetin, luteolin, hyperoside; chlorogenic, caffeic and ferrulic acids, which have the advantage of routine (maximum concentration in all samples), hyperoside and chlorogenic acid.

*Електронна адреса для листування з авторами:
snpok@rambler.ru*