

**ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ, ФАРМАКОГНОЗИЯ/PHARMACEUTICAL CHEMISTRY,
PHARMACOGNOSY**

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.162.126>

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММЫ ГИДРОКСИКОРИЧНЫХ КИСЛОТ
В ТРАВЕ ВЕРБЕНЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ (*VERBENA OFFICINALIS*)**

Научная статья

Курдюков Е.Е.^{1,*}, Митищев А.В.², Финаёнова Н.В.³, Щеголькова А.В.⁴, Селезнева Ю.А.⁵

¹ORCID : 0000-0001-9512-6770;

²ORCID : 0000-0002-3327-9744;

^{1, 2, 3, 4, 5} Пензенский государственный университет, Пенза, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (e.e.kurdyukov[at]mail.ru)

Аннотация

Объектом исследования служила трава вербены лекарственной, выращенная в ботаническом саду им. И.И. Спрыгина Пензенского государственного университета. Сырьё было высушено на воздухе без доступа прямых солнечных лучей. Для идентификации гидроксикоричных кислот в траве вербены использовали тонкослойную хроматографию (ТСХ). Методом прямой спектрофотометрии в извлечениях из травы вербены подтверждено наличие гидроксикоричных кислот, определены аналитические максимумы исследуемых соединений (330 ± 2 нм). Обоснованы оптимальные условия экстракции гидроксикоричных кислот из сырья: экстрагент — спирт этиловый 70%; соотношение «сырьё — экстрагент» — 1:100; время экстракции — 60 минут; степень измельчения сырья — 1,0 мм. Цель исследования — идентификация и количественное определение суммы гидроксикоричных кислот в траве вербены лекарственной. Проведена метрологическая оценка методики определения суммы гидроксикоричных кислот.

Ключевые слова: трава вербены, флавоноиды, спектрофотометрия, количественное определение.

**IDENTIFICATION AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF HYDROXYCINNAMIC ACIDS IN EUROPEAN
VERBENA (*VERBENA OFFICINALIS*) HERB**

Research article

Kurdyukov Y.Y.^{1,*}, Mitishev A.V.², Finayonova N.V.³, Shchegolkova A.V.⁴, Selezneva Y.A.⁵

¹ORCID : 0000-0001-9512-6770;

²ORCID : 0000-0002-3327-9744;

^{1, 2, 3, 4, 5} Penza State University, Penza, Russian Federation

* Corresponding author (e.e.kurdyukov[at]mail.ru)

Abstract

The object of the study was European verbena herb grown in the I.I. Sprygin Botanical Garden of Penza State University. The raw materials were dried in the air without exposure to direct sunlight. Thin-layer chromatography (TLC) was used to identify hydroxycinnamic acids in verbena herb. Direct spectrophotometry confirmed the presence of hydroxycinnamic acids in verbena herb extracts and determined the analytical maxima of the studied compounds (330 ± 2 nm). The optimal conditions for the extraction of hydroxycinnamic acids from raw materials were established: extractant — 70% ethyl alcohol; raw material to extractant ratio — 1:100; extraction time — 60 minutes; degree of raw material grinding — 1.0 mm. The aim of the research is to identify and quantitatively determine the sum of hydroxycinnamic acids in European verbena herb. A metrological evaluation of the method for determining the sum of hydroxycinnamic acids was carried out.

Keywords: verbena herb, flavonoids, spectrophotometry, quantitative determination.

Введение

Перспективы исследований лекарственных растений, содержащих гидроксикоричные кислоты (ГКК), выглядят весьма многообещающими в связи с их широким спектром биологической активности и потенциальной пользой для здоровья человека. Углубленное изучение ГКК, содержащихся в различных растительных источниках, открывает возможности для разработки новых лекарственных средств и функциональных продуктов питания. Другим важным направлением является разработка эффективных методов экстракции и очистки ГКК из растительного сырья. Оптимизация этих процессов позволяет получать высококачественные экстракты и индивидуальные соединения для дальнейших исследований и применения в фармацевтической и пищевой промышленности. Также актуальным является изучение биодоступности и метаболизма ГКК в организме, что позволит определить оптимальные способы их применения и дозировки [1], [2].

Польза гидроксикоричных кислот заключается в их способности оказывать положительное влияние на здоровье человека благодаря своим антиоксидантным, противовоспалительным и другим биологически активным свойствам. Они могут способствовать защите клеток от повреждений, вызванных свободными радикалами, снижать риск развития хронических заболеваний, таких как сердечно-сосудистые заболевания, рак и нейродегенеративные расстройства. Кроме того, ГКК могут оказывать благотворное влияние на пищеварительную систему, иммунную систему и общее состояние организма [3], [4].

Одним из ключевых преимуществ хлорогеновой кислоты является ее антиоксидантное действие. Она эффективно нейтрализует свободные радикалы, которые повреждают клетки и способствуют развитию различных заболеваний,

включая сердечно-сосудистые и онкологические. Помимо антиоксидантной активности, хлорогеновая кислота оказывает положительное влияние на метаболизм глюкозы и липидов. Исследования показывают, что она способна улучшать чувствительность к инсулину, что особенно важно для людей с диабетом 2 типа или предрасположенностью к нему. Также хлорогеновая кислота способствует снижению уровня холестерина в крови, что благоприятно сказывается на здоровье сердца и сосудов. Кроме того, хлорогеновая кислота обладает противовоспалительными свойствами [2], [3], [4]. Существует потребность в новых источниках растительного сырья с высоким содержанием данных соединений. Перспективным в этом отношении объектом изучения является вербена лекарственная (*Verbena officinalis L.*) семейства вербеновые (*Verbenaceae*) [5], [6].

Методы и принципы исследования

Для подтверждения присутствия гидроксикоричных кислот в траве вербены использовали тонкослойную хроматографию (ТСХ) [7], [8]. На линию старта хроматографической пластиинки наносили 0,02 мкл водно-спиртового извлечения. В качестве стандартных образцов на пластиинку наносили СО цинарозида, СО хлорогеновой кислоты, СО розмариновой кислоты, СО гиперозида, СО кверцетина. Хроматографический анализ: пластиинки с образцами помещают в хроматографическую камеру; хроматографирование проводили восходящим методом в системе с растворителем: хлороформ — этиловый спирт 70% — вода в соотношении 26:16:3; использовали пластиинки типа «Сорб菲尔-ПТСХ-АФ-Ф-УФ». Хроматограммы просматривали при дневном свете, а также под ультрафиолетовым светом при длинах волн 366 нм и 254 нм. Обрабатывали щелочным раствором ДСК и фосфорно-молибденовой кислотой для выявления или повышения контрастности анализируемых веществ. Методика извлечения гидроксикоричных кислот: используется однократная экстракция этиловым спиртом с различной концентрацией: 95%, 70%, 40%; экстракцию проводят на водяной бане при кипячении в течение 60 минут; после охлаждения извлечения фильтруют через бумажный фильтр, смоченный тем же спиртом, сбрасывая первые 10 мл фильтрата (раствор А). В мерную колбу 25 мл добавляют 1 мл фильтрата и доводят объем до метки спиртом (раствор Б). Определение содержания гидроксикоричных кислот: используется спектрофотометр СФ-102; оптическую плотность измеряют при длине волны 330 нм в этанольном растворе. Расчет содержания осуществляется по формуле (1):

$$X = \frac{D \times 100 \times 25 \times 100}{497 \times m \times 1 \times (100 - W)} \quad (1)$$

где D — оптическая плотность испытуемого раствора;

m — масса сырья, г;

W — потеря в массе при высушивании сырья (влажность), %;

497 — удельный показатель поглощения хлорогеновой кислоты при 330 нм.

Основные результаты

Результаты хроматографического анализа показали следующие данные (рис.2): оранжевое пятно с Rf = 0,44 (совпадает с СО хлорогеновой кислотой), желтое пятно с Rf = 0,64 (совпадает с СО цинарозида), с Rf = 0,69 (совпадает с СО кверцетина). Рекомендации по проведению качественного анализа: использовать хлорогеновую кислоту в качестве вещества-стандarta и производить расчет значений Rf для подтверждения идентичности компонентов. Методологические особенности: сравнение Rf исследуемых веществ с Rf стандартных образцов позволяет достоверно идентифицировать компоненты. Наличие характерных цветов пятен (оранжевый и желтый) дополнительно подтверждает идентификацию. Такой подход к анализу позволяет: достоверно идентифицировать присутствующие компоненты, подтвердить качество исследуемого сырья, обеспечить воспроизводимость результатов анализа.

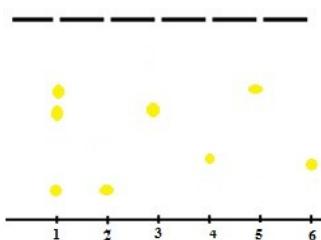


Рисунок 1 - Схема хроматограммы извлечения из травы вербены:

1 - извлечение из травы вербены; 2 - СО хлорогеновой кислоты; 3 - СО цинарозида; 4 - СО розмариновой кислоты;

5 - СО кверцетина; 6 - СО гиперозида

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.162.126.1>

В ходе исследования были выявлены два максимума поглощения: плечо при 290±2 нм и основной максимум при 330±2 нм. Максимум при 330±2 нм характерен для гидроксикоричных кислот. Расчет проводили в пересчёте на хлорогеновую кислоту. Применяется удельный показатель поглощения, равный 497 при $\lambda=330$ нм. [7], [8], [9]. Отсутствие необходимости в стандартном образце хлорогеновой кислоты позволяет упростить процесс анализа.

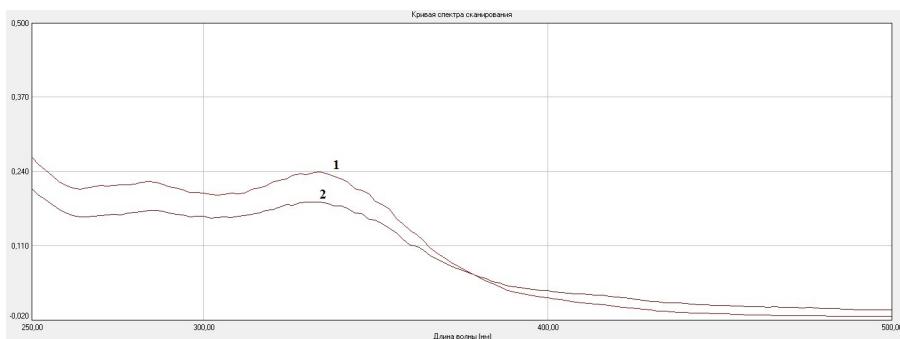


Рисунок 2 - Электронный спектр стандартного образца хлорогеновой кислоты (2) и извлечения из надземной части вербены лекарственной (1)

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.162.126.2>

В ходе разработки методики количественного определения гидроксикоричных кислот была проведена оптимизация параметров экстракции. В частности, исследовались такие параметры как степень измельчения сырья (табл.1), выбор экстрагента (табл.2), соотношение сырье-экстрагент (табл.3), время извлечения (табл.4). Анализ данных показал, что степень измельчения в диапазоне от 0,5 до 2 мм оказывает минимальное влияние на эффективность экстракции. В связи с этим была выбрана средняя степень измельчения — 1 мм, что обеспечивает баланс между удобством обработки и эффективностью извлечения. Эксперименты выявили, что максимальное извлечение гидроксикоричных кислот достигается при использовании этилового спирта 70% в качестве экстрагента. Оптимальное соотношение сырье-экстрагент составило 1:100, а время экстракции — 60 минут. Эти параметры позволяют обеспечить максимальную эффективность извлечения и воспроизводимость метода.

Таблица 1 - Влияние степени измельченности

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.162.126.3>

Экстрагент	Соотношение сырье – экстрагент	Измельченность, мм	Время извлечения, мин	Суммарное содержание гидроксикоричных кислот, %
Этанол 70 %	1:100	0,5	60	3,36±0,06
Этанол 70 %	1:100	1,0	60	3,42±0,09
Этанол 70 %	1:100	2,0	60	3,38±0,06
Этанол 70 %	1:100	3,0	60	3,34±0,08

Таблица 2 - Влияние экстрагента

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.162.126.4>

Экстрагент	Соотношение сырье – экстрагента	Измельченность, мм	Время извлечения, мин	Суммарное содержание гидроксикоричных кислот, %
Этанол 40 %	1-100	1,0	60	1,29±0,05
Этанол 70 %	1-100	1,0	60	3,42±0,09
Этанол 95 %	1-100	1,0	60	0,75±0,03

Таблица 3 - Влияние соотношения «сырье – экстрагент»

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.162.126.5>

Экстрагент	Соотношение сырье – экстрагента	Измельченность, мм	Время извлечения, мин	Суммарное содержание гидроксикоричных кислот, %
Этанол 70 %	1-50	1,0	60	2,90±0,09

Экстрагент	Соотношение сырье – экстрагента	Измельченность, мм	Время извлечения, мин	Суммарное содержание гидроксикоричных кислот, %
Этанол 70 %	1-100	1,0	60	3,42±0,09
Этанол 70 %	1-200	1,0	60	2,75±0,10

Таблица 4 - Влияние времени экстрагирования

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.162.126.6>

Экстрагент	Соотношение сырье – экстрагента	Измельченность, мм	Время извлечения, мин	Суммарное содержание гидроксикоричных кислот, %
Этанол 70 %	1-100	1,0	30	2,55±0,07
Этанол 70 %	1-100	1,0	60	3,42±0,09
Этанол 70 %	1-100	1,0	90	2,39±0,09

Суммарное содержание гидроксикоричных кислот извлекаемых из травы вербены в оптимальных условиях составило 3,42%.

Проведена метрологическая оценка предложенной методики. В результате пяти параллельных определений ($X_{cp} = 3,42$) установлена дисперсия ($S^2 = 0,005$), стандартное отклонение ($S = 0,071$), стандартное отклонение среднего результата ($SX_{cp} = 0,031$), относительное стандартное отклонение среднего результата ($RSD = 2,08\%$), полуширина доверительного интервала ($\Delta X_{cp} = 0,088$). Погрешность среднего результата ($\epsilon, \%$) суммы гидроксикоричных кислот с доверительной вероятностью ($P, \%$) 95% в сырье вербены лекарственной составила $\pm 2,58 \%$, в пересчете на хлорогеновую кислоту.

Заключение

Для количественного определения суммарного содержания гидроксикоричных кислот в траве вербены разработана методика, основанная на спектрофотометрическом анализе при длине волны 330 нм. Этот метод позволяет с высокой точностью оценивать содержание данных биологически активных веществ, что критически важно для контроля качества лекарственного растительного сырья. Оптимизация условий экстракции является ключевым этапом в разработке методики. Экспериментально установлено, что оптимальными параметрами являются: степень измельчения сырья до 1 мм, что обеспечивает максимальную площадь поверхности для контакта с экстрагентом; использование 70% этианола в качестве экстрагента, поскольку он эффективно извлекает гидроксикоричные кислоты; соотношение сырья к экстрагенту 1:100, обеспечивающее полное извлечение целевых соединений; время экстракции 60 минут на кипящей водяной бане, что достаточно для достижения равновесия между сырьем и растворителем.

Содержание гидроксикоричных кислот в траве вербены, определённое с использованием разработанной методики, составило 3,42% в пересчёте на хлорогеновую кислоту. Этот показатель может служить критерием для оценки качества сырья и его пригодности для дальнейшего использования в фармацевтической промышленности. Разработанная методика и полученные результаты имеют практическое значение для стандартизации травы вербены как нового вида лекарственного сырья. Они могут быть использованы при разработке нормативной документации, включая фармакопейные статьи и технические условия, что позволит обеспечить стабильное качество и эффективность лекарственных препаратов на основе этого растения.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Ferreira S.S. Re-engineering plant phenylpropanoid metabolism with the aid of synthetic biosensors / S.S. Ferreira, M.S. Antunes // Front Plant Sci. — 2021. — № 12. — DOI: 10.3389/fpls.2021.701385.
2. Куркин В.А. Фенилпропаноиды как класс природных биологически активных соединений — органопротекторов / В.А. Куркин, Н.Р. Варина, Е.В. Авдеева [и др.] // Фармация и фармакология. — 2023. — № 5. — С. 399–411. — DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-399-411.

3. Neelam K.A. Phenylpropanoids and its derivatives: biological activities and its role in food, pharmaceutical and cosmetic industries / K.A. Neelam, K.K. Sharma // Crit Rev Food Sci Nutr. — 2020. — Vol. 60. — № 16. — P. 2655–2675. — DOI: 10.1080/10408398.2019.1653822.
4. Куркин В.А. Фенилпропаноиды как важнейшая группа биологически активных соединений лекарственных растений / В.А. Куркин // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. — 2015. — № 7. — С. 1338–1342.
5. Kubica P. Verbena officinalis (Common Vervain) — A Review on the Investigations of This Medicinally Important Plant Species / P. Kubica, A. Szopa, J. Dominiak [et al.] // Planta Medica. — 2020. — № 86. — Vol. 17. — P. 1241–1257.
6. Куляк О.Ю. Вербена лекарственная (*Verbena officinalis L.*): обзор фитохимических и фармакологических исследований / О.Ю. Куляк, Г.В. Адамов, А.И. Радимич [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. — 2019. — Т. 22. — № 11. — С. 9–18.
7. Компанцева Е.В. Бумажная и тонкослойная хроматография в идентификации гидроксикоричных кислот в растительном сырье (обзор). Сообщение 1 / Е.В. Компанцева, А.С. Саушкина // Химия растительного сырья. — 2023. — № 3. — С. 27–45. — DOI: 10.14258/jcprm.20230312090.
8. Компанцева Е.В. Определение гидроксикоричных кислот в растительном сырье спектрофотометрическим методом. Часть 1. Прямая спектрофотометрия (обзор) / Е.В. Компанцева, А.Ю. Айрапетова, А.С. Саушкина // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. — 2024. — № 2. — С. 181–195. — DOI: 10.30895/1991-2919-2024-14-2-181-195.
9. Государственная фармакопея Российской Федерации XV изд. — Москва, 2023. — URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (дата обращения: 03.05.2025).
10. Гуляев Д.К. Разработка методики определения содержания гидроксикоричных кислот в корнях ели обыкновенной / Д.К. Гуляев, В.Д. Белоногова, П.С. Машченко // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. — 2019. — № 2. — С. 80–86.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Ferreira S.S. Re-engineering plant phenylpropanoid metabolism with the aid of synthetic biosensors / S.S. Ferreira, M.S. Antunes // Front Plant Sci. — 2021. — № 12. — DOI: 10.3389/fpls.2021.701385.
2. Kurkin V.A. Fenilpropanoidy kak klass prirodnih biologicheski aktivnyh soedinenij — organoprotektorov [Phenylpropanoids as a class of natural biologically active organoprotective compounds] / V.A. Kurkin, N.R. Varina, E.V. Avdeeva [et al.] // Farmaciya i farmakologiya [Pharmacy and Pharmacology]. — 2023. — № 5. — P. 399–411. — DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-5-399-411. [in Russian]
3. Neelam K.A. Phenylpropanoids and its derivatives: biological activities and its role in food, pharmaceutical and cosmetic industries / K.A. Neelam, K.K. Sharma // Crit Rev Food Sci Nutr. — 2020. — Vol. 60. — № 16. — P. 2655–2675. — DOI: 10.1080/10408398.2019.1653822.
4. Kurkin V.A. Fenilpropanoidy kak vazhnejshaya gruppa biologicheski aktivnyh soedinenij lekarstvennyh rastenij [Phenylpropanoids as the most important group of biologically active compounds of medicinal plants] / V.A. Kurkin // Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij [International Journal of Applied and Fundamental Research]. — 2015. — № 7. — P. 1338–1342. [in Russian]
5. Kubica P. Verbena officinalis (Common Vervain) — A Review on the Investigations of This Medicinally Important Plant Species / P. Kubica, A. Szopa, J. Dominiak [et al.] // Planta Medica. — 2020. — № 86. — Vol. 17. — P. 1241–1257.
6. Kulyak O.Yu. Verbena lekarstvennaya (*Verbena officinalis L.*): obzor fitohimicheskikh i farmakologicheskikh issledovanij [Verbena officinalis L.: a review of phytochemical and pharmacological studies] / O.Yu. Kulyak, G.V. Adamov, A.I. Radimich [et al.] // Voprosy biologicheskoy, medicinskoy i farmacevticheskoy himii [Issues of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry]. — 2019. — Vol. 22. — № 11. — P. 9–18. [in Russian]
7. Kompantseva E.V. Bumazhnaya i tonkoslojnaya hromatografiya v identifikacii gidroksikorichnyh kislot v rastitel'nom syre (obzor). Soobshchenie 1 [Paper and thin-layer chromatography in the identification of hydroxycinnamic acids in plant raw materials (review). Message 1] / E.V. Kompantseva, A.S. Saushkina // Himiya rastitel'nogo syrya [Chemistry of vegetable raw materials]. — 2023. — № 3. — P. 27–45. — DOI: 10.14258/jcprm.20230312090. [in Russian]
8. Kompantseva E.V. Opredelenie gidroksikorichnyh kislot v rastitel'nom syre spektrofotometricheskim metodom. Chast' 1. Pryamaya spektrofotometriya (obzor) [Determination of hydroxycinnamic acids in plant raw materials by the spectrophotometric method. Part 1. Direct spectrophotometry (review)] / E.V. Kompantseva, A.Yu. Airapetova, A.S. Saushkina // Vedomosti Nauchnogo centra ekspertizy sredstv medicinskogo primeneniya. Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennyh sredstv [Bulletin of the Scientific Center for Expertise of Medical devices. Regulatory research and expertise of medicines]. — 2024. — № 2. — P. 181–195. — DOI: 10.30895/1991-2919-2024-14-2-181-195. [in Russian]
9. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii XV izd. [The State Pharmacopoeia of the Russian Federation XV ed.]. — Moscow, 2023. — URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (accessed: 03.05.2025). [in Russian]
10. Gulyaev D.K. Razrabotka metodiki opredeleniya soderzhaniya gidroksikorichnyh kislot v kornyah eli obyknovennoj [Development of a methodology for determining the content of hydroxycinnamic acids in the roots of spruce] / D.K. Gulyaev, V.D. Belonogova, P.S. Mashchenko // Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Himiya. Biologiya. Farmaciya [Bulletin of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy]. — 2019. — № 2. — P. 80–86. [in Russian]