



М.А. Дученко<sup>1</sup>, В.М. Ковальов<sup>2</sup>, С.В. Романова<sup>2</sup>

## ДО ПИТАННЯ СТАНДАРТИЗАЦІЇ СУХОГО ЕКСТРАКТУ ЛИСТЯ ГЛЕДИЧІЇ ЗВИЧАЙНОЇ

<sup>1</sup>Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова,

<sup>2</sup>Національний фармацевтичний університет, м. Харків

**Ключові слова:** листя, гледичія звичайна, сухий екстракт, якісне та кількісне визначення, фенольні сполуки, флавоноїди.

**Ключевые слова:** листья, гледичия обыкновенная, сухой экстракт, качественное и количественное определение, фенольные соединения, флавоноиды.

**Key words:** leaves, *Gleditsia triacanthos L.*, dry extract, qualitative and quantitative analyses, phenolic compounds, flavonoids.

Визначено параметри стандартизації сухого екстракту з листя гледичії звичайної. Запропоновано методики якісного та кількісного аналізу флавоноїдів, фенольних сполук. Отримані результати досліджень використано при розробці методик контролю якості «Гледичії листя екстракт сухий». Кількісний вміст флавоноїдів має бути не менше 5,0%, фенольних сполук – не менше 9,0%.

Определены параметры стандартизации сухого экстракта из листьев гледичии обыкновенной. Предложены методики качественного и количественного анализа флавоноидов, фенольных соединений. Полученные результаты исследований использованы для разработки методик контроля качества «Гледичии листья экстракт сухой». Количественное содержание флавоноидов должно быть не менее 5,0%, фенольных соединений – не менее 9,0%.

Some parameters of standardisation of dry extract from leaves of *Gleditsia triacanthos L.* were established. The methodics of qualitative and quantitative analyses of phenolic compounds and flavonoids were developed. The results of the research are used for MCQ «*Gleditsia leaves extract dry*». The quantitative content of flavonoids must be not less than 5,0 %, phenolic compounds - not less than 9,0 %.

Гледичія звичайна (*Gleditsia triacanthos L.*) належить до родини бобових. Походить з Північної Америки. В Україні широко культивують як декоративну рослину у парках, садах і парках, найбільше у степовій і лісостеповій зонах [4,10].

У медицині використовують лушпиння плодів і молоде листя, зібране у період розпускання. У молодому листі містяться алкалоїд триакантин, аскорбінова кислота, флавоноїди, у лушпинні плодів – антраглікозиди, дубильні речовини, вітамін К. Триакантин виявляє спазмолітичну дію, розширює кровоносні судини, знижує кров'яний тиск. Фармацевтична промисловість випускала препарат триакантин, використовуваний при гіпертонічній хворобі, бронхіальній астмі, виразковій хворобі шлунка й дванадцятипалої кишки, при спастичних колітах і хронічному холециститі, галенові препарати лушпиння плодів виявляють послаблюючу дію [4,7,9–11].

Аналіз даних наукової літератури показав, що детальніше вивчено хімічний склад бобів і лушпиння гледичії звичайної. Листя в хімічному й фармакологічному аспектах вивчено недостатньо.

У результаті комплексного фармакогностичного дослідження виявлено наявність полісахаридів, амінокислот, органічних кислот, тритерпенових сапонінів, алкалоїдів, гідроксикоричних кислот, кумаринів, флавоноїдів, антрацен похідних, дубильних речовин, жирних кислот, хлорофілів і каротиноїдів у листі. Для більшості з цих груп біологічно активних речовин (БАР) визначено кількісний вміст [5,6]. Виявлено оптимальні терміни заготівлі листя гледичії [6].

Отриманий сухий екстракт з листя гледичії виявив проти-запальну, знеболюючу та гіпотензивну активність *Gleditsia triacanthos L.* [8].

Важливим елементом впровадження сухого екстракту гледичії є розробка методик контролю якості (МКЯ).

### МЕТА РОБОТИ

Вибір методик ідентифікації та кількісного визначення діючих речовин в експериментальних зразках сухого екстракту листя гледичії звичайної для розробки проекту МКЯ.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єкти дослідження – 5 серій напрацьованих зразків екстракту. За результатами попередніх фізико-хімічних і технологічних досліджень встановлено, що оптимальним екстрагентом є вода очищена.

Критерії стандартизації сухого екстракту визначаються ДФУ 1 вид. у статті «Сухі екстракти» [2]. При вивченні критеріїв стандартизації оцінювали зовнішній вигляд, розчинність, якісні реакції ідентифікації, втрату в масі при висушуванні, важкі метали, мікробіологічну чистоту, кількісне визначення.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

**Опис.** Аморфний гігроскопічний порошок жовтувато-коричневого кольору зі специфічним приємним запахом і гіркуватим присмаком.

**Розчинність.** Легко розчинний у воді, частково – в етанолі (50, 70% об/об), не розчинний в етанолі (96% об/об) та органічних розчинниках.

**Ідентифікація.** Оскільки основними діючими речовинами листя гледичії є флавоноїди, похідні флавону та флавонову, в проекті МКЯ в розділі «Ідентифікація» запропоновано кольорові реакції для визначення флавоноїдів і фенольних сполук. Вміст флавоноїдів і фенольних сполук визначали за такою методикою: до 1 мл 1% розчину екстракту додають 2–3 краплі розчину 2% алюмінію хлориду. В УФ-світлі (366 нм) спостерігають зеленувато-жовту флуоресценцію



(флавоноїди). При додаванні до 1 мл 1% розчину сухого екстракту 2–3 крапель розчину заліза (III) хлориду з'являється зелено-брунатне забарвлення (фенольні сполуки).

**Тонкошарова хроматографія.** Випробуваний розчин. До 1,0 г сухого екстракту додають 10 мл метанолу, нагрівають на водяній бані за температури 60–65°C протягом 10 хв, охолоджують до кімнатної температури та фільтрують. Фільтрат доводять метанолом до об'єму 10 мл. У якості розчинів порівняння використовують 0,01% метанольні розчини рутину та кислоти хлорогенової. Як рухомих фаз використовують систему: кислота мурашина безводна – кислота оцтова льодяна – вода – етилацетат (11:11:26:100). На лінію старту хроматографічної пластинки смугами наносять 20 мкл досліджуваного розчину та по 10 мкл розчинів порівняння. Коли фронт розчинників пройде 10 см від лінії старту, пластинку виймають з камери, сушать за температури 100–105°C, теплу пластинку оприскують розчином 10 г/л аміноетилового ефіру дифеніл борної кислоти у метанолі. Потім пластинку оприскують розчином 50 г/л макроголу 400 у метанолі, сушать на повітрі протягом 30 хв і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

На хроматограмі випробовуваного розчину мають виявлятися темно-жовта флуоресціююча зона на рівні зони рутину та блакитна флуоресціююча зона на рівні зони кислоти хлорогенової. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також слабші флуоресціюючі зони. Втрата в масі при висушуванні не має перевищувати 7,0% [2]. Вміст важких металів має складати не більше 0,01% [3].

**Мікробіологічна чистота.** В 1 г екстракту має бути не більше 100 мікроорганізмів, у тому числі грибів. Не допускається наявність бактерій родин *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus* [2].

Суму флавоноїдів визначали за фармакопейною методикою [1]. Сума флавоноїдів у перерахунку на рутин і абсолютно сухої речовини має бути не менше 5,0%.

**Сума фенольних сполук.** У мірну колбу місткістю 100 мл вносять 1 мл розчину А і доводять розчин до позначки етанолом (70% об/об). Оптичну густину отриманого розчину вимірюють при довжині хвилі 270 нм у кюветках з товщиною шару 10 мм на спектрофотометрі СФ-46. У якості розчинів порівняння використовують етанол (70% об/об).

Вміст суми фенольних сполук (X) у перерахунку на галову кислоту та сухої речовини у відсотках обчислюють за формулою:

$$X_1 = \frac{A \cdot m_0 \cdot 1 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot 100 \cdot 50 \cdot m \cdot 1 \cdot (100 - W)} = \frac{A \cdot m_0 \cdot 10000}{A_0 \cdot m \cdot (100 - W)},$$

де А – оптична густина випробовуваного розчину;

$A_0$  – оптична густина розчину ФСЗ ДФУ галової кислоти;  
 $m$  – маса наважки, в грамах;  
 $m_0$  – маса ФСЗ ДФУ галової кислоти, в грамах;  
 $W$  – втрата в масі при висушуванні, у відсотках.

Вміст суми фенольних сполук в екстракті у перерахунку на галову кислоту та сухої речовини має бути не менше 9,0 %.

## ВИСНОВКИ

1. Розроблено параметри стандартизації сухого екстракту листя гледичії звичайної.

2. Для кількісного визначення біологічно активних речовин запропоновано метод спектрофотометричного визначення суми флавоноїдів і фенольних сполук.

3. На основі отриманих даних і запропонованих методик контролю якості розроблено проект МКЯ на «Гледичії звичайної листя екстракт сухий».

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» – 1-е вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – 556 с.
3. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 1-е вид., доп. 3. – Харків: PIPEГ, 2009. – 280 с.
4. *Дерев'яно В.М.* Gleditsia triacanthos L. на півдні степової зони України / *В.М. Дерев'яно* // Чорноморський ботанічний журнал. – Херсон, 2005. – Т. 1, №2. – С. 59–62.
5. *Дученко М.А.* Вивчення ліпофільних сполук листя та насіння гледичії звичайної / *М.А. Дученко, С.В. Ковальов* // 36. наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. – 2009. – Вип. 18, кн. 3. – С. 417–422.
6. *Ковалев С.В.* Определение содержания фенольных соединений нуга обыкновенного, чечевицы пищевой и гледичии обыкновенной / *Ковалев С.В., Романова С.В., Черкашина А.В., Дученко М.А.* // Мат. Международной научно-практической конференции «Фармация Казахстана: интеграция науки, образования и производства»: Сборник. – Шымкент, Казахстан, 2009. – С. 236–239.
7. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / За ред. Академіка АН УРСР *Гродзінського А.М.* – К.: Голов. ред. укр. рад. енциклопедії ім. М.П. Бажана, 1991. – 344 с.
8. Пат. № 54663 Україна, МПК А 61 К 36 / 00, А 61 Р 29 / 00, А 61 Р 9 / 12. Спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з протизапальною, знеболюючою та гіпотензивною дією / *С.В. Ковальов, М.А. Дученко, О.В. Демешко, В.М. Ковальов*; патентовласник Нац. фармац. ун-т. – № у 201003407; заявл. 24. 03. 2010; опубл. 25. 11. 2010, Бюл. №22.
9. *Попова Н.В.* Лекарственные растения мировой флоры / *Попова Н.В., Литвиненко В.И.* – Харьков, 2008. – 510 с.
10. Chemical composition and functional properties of Gleditsia triacanthos gum / *L.S. Sciarini, F. Maldonadob, P.D. Ribotta, G.T. Perez, A.E. Leona* // Food Hydrocolloids. – 2009. – V. 23. – P. 306–313.
11. Chemical Constituents and Bioactivity of Gleditsia Plants / *Wang Jihua, Tang Jing, Li Duan, Zhou Ligang* // Chinese Wild Plant Resources. – 2008. – V. 6. – P. 1–4.

## Відомості про авторів:

Дученко М.А., асистент каф. фармацевтичної хімії ВНМУ ім. М.І. Пирогова.

Ковальов В.М., д. фарм. н., професор каф. фармакогнозії НФаУ.

Романова С.В., ст. лаборант каф. фармакогнозії НФаУ.

## Адреса для листування:

Романова Світлана Вікторівна. 61121, м. Харків, вул. Тимурівців, 35, к. 510.

Тел.: (057) 67 92 08. E-mail: gnosy@ukrfa.kharkov.ua

Поступила в редакцію 29.03.2012 г.