



С.В. Романова, С.В. Ковальов, В.М. Ковальов

СТАНДАРТИЗАЦІЯ СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ СОЧЕВИЦІ ХАРЧОВОЇ

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: сочевиця харчова, сухий екстракт, флавоноїди, гідроксикоричні кислоти.

Ключевые слова: чечевица пищевая, сухой экстракт, флавоноиды, гидроксикоричные кислоты.

Key words: lentil, dry extract, flavonoids, hydroxycinnamomic acids..

Визначено деякі параметри стандартизації сухого екстракту з трави сочевиці харчової. Розроблено методики якісного визначення та кількісного вмісту фенольних сполук у сухому екстракті. Кількісний вміст флавоноїдів має бути не менше 6%, гідроксикоричних кислот – не менше 5,5%.

Определены некоторые параметры стандартизации сухого экстракта из травы чечевицы пищевой. Разработаны методики качественного и количественного содержания фенольных соединений в сухом экстракте. Количественное содержание флавоноидов должно быть не меньше 6%, гидроксикоричных кислот – не меньше 5,5%.

Some parameters of standardization of dry extract from herb of lentil were established. The methodics of identification of qualitative and quantitative content of dry extract were developed. The quantitative content of flavonoids must be not less then 6 %, hydroxycinnamomic acids – not less then 5,5 %.

Сочевицю харчову (*Lens culinaris M.*) здавна вважали лікарською рослиною. Давньоримські лікарі вважали, що систематичне вживання сочевиці робить людину спокійною і терплячою (тому її вживали у монастирях під час посту). Сочевицю використовують як сировину для продуктів антистресової направленості. В європейській медицині вона входила до складу ліків *Revalenta arabica*, які вважали панацеєю від багатьох хвороб. Так, російські знахарі використовували відвар сочевиці при закрепах. Для цього готується рідкий відвар. Густий відвар рекомендували як ефективний засіб при різних шлунково-кишкових розладах. Водний настій з лущиння бобів має протизапальну та протимікробну дію, застосовується зовнішньо при виразках і екземах. Борошно сочевиці має ранозагоювальну, протизапальну дію; суміш борошна сочевиці з вершковим маслом застосовують для лікування опіків, а з яєчним жовтком – при лікуванні ран [1,4].

Одним із основних напрямків у дослідженні лікарської рослинної сировини (ЛРС) та отриманих з неї фітопрепаратів є розробка методів стандартизації. Вимоги до розробки нормативних документів, що регламентують якість ЛРС, потребують кількісного визначення основних діючих речовин [5,6].

Проведені раніше дослідження трави сочевиці харчової показали наявність таких груп фенольних сполук, як гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, кумарини, дубильні речовини переважно конденсованої групи. Кількісний вміст фенольних сполук у траві сочевиці харчової складає: гідроксикоричних кислот – $2,16 \pm 0,03\%$, флавоноїдів – $2,32 \pm 0,04\%$, фенольних сполук – $3,18 \pm 0,05\%$ [8, 9].

Також розроблено технологію отримання комплексу біологічно активних речовин з трави сочевиці харчової та досліджено його фармакологічну активність. Встановлено, що сухий екстракт виявляє гепатопротекторну, анальгетичну активність і регенеруючу дію на підшлункову залозу [7].

МЕТА РОБОТИ

Визначення деяких параметрів стандартизації сухого екстракту з трави сочевиці харчової. Для досягнення мети по-

ставлено такі завдання: провести попередній фітохімічний і фармакогностичний аналізи та розробити методики кількісного визначення основних діючих речовин, таких як флавоноїди та гідроксикоричні кислоти.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для сухого екстракту з трави сочевиці харчової, отриманого раніше [7] такі числові показники, як розчинність, втрату в масі при висушуванні, ідентифікацію визначали за методиками ДФУ. Для кількісного визначення вмісту флавоноїдів і гідроксикоричних кислот використано метод спектрофотометрії в УФ-області [2,3].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отриманий сухий екстракт з трави сочевиці харчової являє собою аморфний порошок світло-коричневого кольору зі специфічним приємним запахом, гіркуватий на смак, легко розчинний у воді, частково – у 50% та 70% спирті етиловому, не розчинний у 96% спирті етиловому та органічних розчинниках. Встановлено, що втрата в масі при висушуванні сухого екстракту має бути не більше 6%. Наявність у сухому екстракті фенольних сполук і флавоноїдів визначали загальноприйнятими реакціями та за допомогою ТШХ.

Якісні реакції. До 1 мл водного розчину додавали 3 мл 2% розчину алюмінію хлориду спиртового. При перегляді в УФ-світлі за довжини хвилі 366 нм спостерігали зеленувато-жовту флуоресценцію (флавоноїди).

Тонкошарова хроматографія. Готували випробуваний розчин: до 1,0 г сухого екстракту додавали 10 мл метанолу, нагрівали на водяній бані за температури 60–65°C протягом 10 хв при енергійному струшуванні, охолоджували до кімнатної температури та фільтрували. Отриманий фільтрат доводили метанолом до об'єму 10 мл. Хроматографування проводили у системі розчинників етилацетат – кислота мурашина безводна – кислота оцтова льодяна – вода (100:11:11:26). На лінію старту хроматографічної пластинки («Silyfol UV-366» (Чехія)), смугами наносили 20 мкл

Кількісний вміст флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у сухому екстракті з трави сочевиці харчової

m	v	X _{ср}	S ²	S _{ср}	P	T (P, v)	Довірчий інтервал	ε _н , %
Флавоноїди								
5	4	6,18	0,00818	0,0404	0,95	2,78	6,18±0,11	1,82
Гідроксикоричні кислоти								
5	4	5,64	0,00617	0,0351	0,95	2,78	5,64±0,09	1,73

випробуваного розчину та 10 мкл розчину порівняння. Пластинку сушили при температурі 100–105°C і теплу пластинку обприскували розчином 10 г/л аміноетилового ефіру дифеніл борної кислоти у метанолі. Потім пластинку обприскували розчином 50 г/л макроголу 400 P у метанолі, сушили на повітрі протягом 30 хв і переглядали в УФ-світлі за довжини хвилі 366 нм.

На хроматограмі випробуваного розчину виявлялась темно-жовта флуоресціююча зона на рівні зони рутину та блакитна флуоресціююча зона на рівні зони кислоти хлорогенової. На хроматограмі випробуваного розчину виявлялись також інші слабші флуоресціюючі зони.

Зважаючи на виявлену гепатопротекторну активність екстракту, доцільним було визначення кількісного вмісту за показником «Флавоноїди» та «Гідроксикоричні кислоти».

Кількісне визначення суми флавоноїдів

Близько 0,05 г (точна наважка) сухого екстракту вміщували у мірну колбу на 25 мл, розчиняли при нагріванні у 10 мл дистильованої води та доводили об'єм розчину 70% спиртом етиловим до позначки і перемішували. Отриманий мутний розчин, у якому утворився желеподібний осад полісахаридів, відфільтровували крізь паперовий фільтр (розчин А).

У мірну колбу ємністю 25 мл вміщували 5 мл розчину А, 5 мл 2% розчину алюмінію хлориду в 96% спирті етиловому і доводили об'єм розчину 96% спиртом етиловим до позначки, перемішували. Через 45 хвилин вимірювали оптичну густину розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі 410 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм. У якості розчину порівняння використовували розчин, що складається з 5 мл розчину А, 5 крапель розведеної оцтової кислоти і доведений 96% спиртом етиловим до позначки у мірній колбі місткістю 25 мл.

Паралельно вимірювали оптичну густину Державного стандартного зразку (ДСЗ) рутину, який готували аналогічно досліджуваного розчину.

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин і абсолютно сухої сировини розраховували за формулою:

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot 100 \cdot 25 \cdot m \cdot 5 \cdot (100 - W)} = \frac{A \cdot m_0 \cdot 500}{A_0 \cdot m \cdot 5 \cdot (100 - W)},$$

де А – оптична густина випробуваного розчину;
 А₀ – оптична густина ДСЗ рутину;
 m – маса наважки, г;
 m₀ – маса ДСЗ рутину, г;
 W – втрата в масі при висушуванні, %.

Вміст флавоноїдів у сухому екстракті з трави сочевиці харчової складає 6,18±0,11%. Результати статичної обробки кількісного вмісту флавоноїдів наведено в таблиці 1.

Кількісне визначення гідроксикоричних кислот

Близько 0,2 г (точна наважка) сухого екстракту вміщували у мірну колбу на 50 мл і додавали 20% спирт етиловий до позначки (розчин А). У мірну колбу місткістю 25 мл вносили 1 мл розчину А і доводили до позначки 20% спиртом етиловим. Оптичну густину отриманого розчину вимірювали за довжини хвилі 327 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм на спектрофотометрі СФ-46. Як розчин порівняння використовували 20% спирт етиловий.

Вміст суми гідроксикоричних кислот (Х) у перерахунку на кислоту хлорогенову обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 25 \cdot 25 \cdot 100}{E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot m \cdot 1 \cdot (100 - W)},$$

де А – оптична густина випробуваного розчину;
 m – маса сировини, г;
 W – втрата в масі при висушуванні сировини, %;

$E_{1\text{см}}^{1\%}$ – питомий показник поглинання хлорогенової кислоти,

($E_{1\text{см}}^{1\%} = 531$).

Вміст гідроксикоричних кислот у сухому екстракті з трави сочевиці харчової складає 5,64±0,07%. Статистичну обробку результатів наведено в таблиці 1.

ВИСНОВКИ

Встановлено такі показники стандартизації сухого екстракту з трави сочевиці харчової: опис, розчинність, втрата в масі при висушуванні, ідентифікація, кількісне визначення. Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин у сухому екстракті має бути не менше 6%, вміст гідроксикоричних кислот у перерахунку на кислоту хлорогенову – не менше 5,5%.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Васнева И.К. Чечевица – сырье для производства продуктов антистрессовой направленности / Васнева И.К., Бакуменко О.Е. // Пищевая промышленность. – 2010. – №8. – С. 20–22.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – Доповнення 1. – 2004. – 520 с.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – Доповнення 1. – 2004. – 520 с.



4. Лечебные свойства некоторых огородных растений семейства бобовых / *Киселева Т.Л., Смирнова Ю.А., Цветаева Е.В. [и др.]* // Традиционная медицина. – 2010. – №1 (20). – С. 39–44.
5. *Котова Э.Э.* Стандартизация плодов боярышника и лекарственных препаратов на их основе по показателю «Количественное определение» / *Э.Э. Котова, А.Г. Котов, Н.П. Хованская.* // Фармаком. – 2004. – №4. – С. 35–41.
6. *Куркина А.В.* Актуальные аспекты стандартизации лекарственного растительного сырья, содержащего флавоноиды / *Куркина А.В.* // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – №5. – С. 150–154.
7. Пат. № 63766 Україна, МПК А 61 К 36 / 48, А 61 Р 1 / 16, А 61 Р 1 / 18, А 61 Р 29 / 00. Спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з гепатопротекторною, анальгетичною активністю та регенеруючою дією на підшлункову залозу / *С.В. Романова, В.М. Ковальов; С.В. Ковальов, А.Р. Грицик, В. М. Кравченко;* патентовласник Нац. фармац. ун-т. – № u 2011101350; заявл. 07. 02. 2011; опубл. 25. 10. 2011, Бюл. № 20
8. *Романова С.В.* Кількісне визначення фенольних сполук *Lens culinaris* / *С.В. Романова, С.В. Ковальов* // Вісник фармації. – 2009. – №2 (38). – С. 24–26.
9. *Романова С.В.* Фітохімічне дослідження *Lens culinaris* / *С.В. Романова, В.М. Ковальов* // Тези доповідей Всеукраїнського конгресу «Сьогодні та майбутнє фармації» (16–19 квітня 2008 р., м. Харків) / Ред. кол.: В.П. Черних та ін. – Х.: Вид-во НФаУ, 2008. – С. 172.

Відомості про авторів:

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

Ковальов С.В., к. фарм. н., доцент каф. хімії природних сполук НФаУ.

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

Адреса для листування:

Ковальов Володимир Миколайович. 61123, м. Харків, вул. Тракторобудівників, 162, кв. 168.

Тел.: (0572) 67 92 08.

E-mail: gnosy@ukrfa.kharkov.ua

Поступила в редакцію 27.03.2012 г.