



Л.І. Вишнеvsька, В.А. Георгіянци, В.К. Яковенко, Н. Бурд, К.О. Хохлова

**ХРОМАТОГРАФІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ МОНОНАСТОЙОК З
ЛІКАРСЬКОЇ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ ТА НАСТОЙКИ СКЛАДНОЇ «ГІНЕКОФІТ»**

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: хроматографічні дослідження, біологічно активні речовини, настойка.

Ключевые слова: хроматографические исследования, биологически активные вещества, настойка.

Key words: chromatography, tincture.

У роботі наведено результати хроматографічного (ТШХ, ПХ) та якісного вивчення хімічного складу індивідуальних настоек кореневищ айру, квіток ромашки, трави звіробою, трави барвінку малого, трави чистотілу, трави деревію, трави грициків звичайних, трави материнки та квіток нагідок, настоек складної «Гінекофіт». Доведено вміст у настоек складної «Гінекофіт» гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та алкалоїдів. Отримані результати використані при розробці аналітичної нормативної документації на препарат.

В работе представлены результаты изучения химического состава настоек кореневищ айра, цветков ромашки, травы зверобоя, травы барвинка малого, травы чистотела, травы тысячелистника, травы пастушьей сумки, травы душицы и цветков календулы, а также настоек сложной «Гинекофит». Доказано наличие в них гидроксикоричных кислот, флавоноидов и алкалоидов с использованием качественных реакций и хроматографических методов. На основании данных результатов разработана нормативная аналитическая документация на настойку сложную «Гинекофит».

Об'єктами дослідження стали настойка складна «Гінекофіт» та настоек з кореневищ айру, квіток ромашки, трави звіробою, трави барвінку малого, трави чистотілу, трави деревію, трави грициків звичайних, трави материнки і квіток нагідок, отримані за відповідною технологією [1].

Для встановлення якісного складу використовували загальноприйняті методи досліджень – якісні реакції, паперову хроматографію (ПХ) та тонкошарову хроматографію (ТШХ) [2, 3, 4, 5].

Гідроксикоричні кислоти визначали методом двомірної ПХ в системах н-бутанол–оцтова кислота–вода (4:1:2) та 15% оцтова кислота зі стандартним зразком хлорогенової кислоти (Sigma Chemical Company, США) та методом ТШХ в системі етилацетат–кислота мурашина–кислота оцтова льодяна–вода (41:3:3:3). Настоек упарювали до водного залишку та фракціонували етилацетатом. Для хроматогра-

фування використовували етилацетатні фракції отриманих водних залишків настоек. Сполуки етилацетатної фракції на хроматограмі дають позитивну реакцію з розчином хлориду заліза (III), що свідчить про їх фенольну природу. Сіро-зелений колір, що утворюється при цьому, доводить присутність в молекулах ортодіоксигрупи. З розчином бром-крезолowego зеленого дані сполуки утворюють синьо-зелене забарвлення, що підтверджує їхню кислотну природу. При хроматографуванні речовини етилацетатної фракції мають в УФ-світлі блакитне забарвлення різної інтенсивності, яке підсилюється або змінюється в зелено-блакитне під дією парів аміаку. Це характерно для похідних коричної кислоти. Таким чином у настойках було ідентифіковано не менше 3 похідних гідроксикоричної кислоти (табл. 1), у тому числі хлорогенову кислоту ($R_f = 0,35$) [2, 5, 10].

Таблиця 1

Результати хроматографії індивідуальних настоек та складної настоек «Гінекофіт» у системі етилацетат-кислота мурашина-кислота оцтова льодяна-вода (41:3:3:3)

Об'єкт дослідження	Значення R_f																					
	Фініш	0,95	0,9	0,85	0,80	0,75	0,7	0,65	0,6	0,55	0,5	0,45	0,4	0,35	0,3	0,25	0,2	0,15	0,1	0,05	старт	
«Гінекофіт»	чр, ж	син			син		бл		т/бл		т/бл		т	бл	т	ж						
Трава барвінку малого	чр										бл	ж		бл		ж	бл					ж
Кореневище айру	ж	син				бл		бл														
Квітки ромашки	т	син			син	т	бл		т	бл	бл		т									
Трава звіробою	чр		ф		син		т		т		т		ж		т							
Трава чистотілу	чр	син					ж	ж			бл		ж									
Трава деревію	чр													бл								
Трава грициків звич.														бл								
Трава материнки	ч р			бл	т				бл		т		т									
Квітки нагідок	ж	син			син		бл		т				т									

Примітки: ж – жовта, т – темна; син – синя; бл – блакитна; т/бл – темно-блакитна; чр – червона плями.

Оскільки гідроксикоричні кислоти забезпечують про-тизапальну дію [6, 12], яка суттєво впливає на загальний терапевтичний ефект складної настойки «Гінекофіт» та на хроматограмах проявляються інтенсивні плями цих сполук, то при проведенні стандартизації препарату потрібно проводити ідентифікацію гідроксикоричних кислот та контролювати їх кількісний вміст.

Для виявлення кумаринових сполук спирто-водні залишки настоек фракціонували ефіром.

Наявність флавоноїдів даної групи речовин визначали у водно-спиртових настоянках за допомогою загальновідомих якісних реакцій: ціанідинова проба за Бріантом, реакції з 3 % розчином хлориду заліза. За результатами реакцій робили висновок про присутність глікозидів флавоноїдної природи [2, 3, 7, 8, 9, 11].

Крім того, речовини флавоноїдної природи виявляли ПХ етилацетатних фракцій настоек в класичних системах н-бутанол–оцтова кислота–вода (4:1:2) та хлороформ–оцтова кислота–вода (13:6:2) та ТШХ в системі етилацетат–кислота мурашина–кислота оцтова льодяна–вода (41:3:3:3). Наявність даної групи сполук виявляли за флуоресценцією в УФ-світлі до і після обробки хроматограм парами аміаку та спиртовим розчином алюмінію хлориду. Встановлено, що в настоянках міститься не менше 4 сполук флавоноїдної природи.

Хроматографічний аналіз індивідуальних настоек та настойки складної «Гінекофіт» показав, що система етилацетат–кислота мурашина–кислота оцтова льодяна–вода (41:3:3:3) забезпечує кращий поділ речовин флавоноїдної природи, ніж класичні системи, тому ця система була обрана для проведення ідентифікації флавоноїдів в лікарському засобі «Гінекофіт». Результати хроматографування наведені в таблиці 1.

При хроматографуванні зі стандартними зразками встановлено, що речовина з $R_f = 0,3$ відповідає рутину, а речовина з $R_f = 0,6$ – гіперозиду. Аналогічна речовина з $R_f = 0,3$ була виявлена в настоянках трави звіробою та грициків звичайних, а речовина з $R_f = 0,6$ – в настоянках квіток ромашки, нагідків та трави звіробою. Крім того, в настойці «Гінекофіт» було ідентифіковано ще 2 речовини флавоноїдної природи з $R_f = 0,5$ (аналогічна речовина була ідентифікована в індивідуальних настоянках трави звіробою, грициків звичайних та материнки) та з $R_f = 0,4$ (аналогічна речовина була ідентифікована в індивідуальних настоянках квіток ромашки, нагідків та трави материнки).

Оскільки флавоноїди підвищують міцність кровоносних судин, забезпечують гемостатичну дію [6], що має велике значення для загального терапевтичного ефекту настойки складної «Гінекофіт», то при проведенні стандартизації препарату потрібно проводити ідентифікацію флавоноїдів та визначення їх кількісного вмісту.

Алкалоїди визначали методом ТШХ етилацетатних фракцій настоек. Для цього хроматограми, які залишилися після виявлення флавоноїдів у системі етилацетат–кислота мурашина–кислота оцтова льодяна–вода (41:3:3:3) проявляли спиртовим розчином реактиву Драгендорфа [3]. На

хроматограмі складної настойки «Гінекофіт» проявилися жовтогарячі плями з $R_f = 0,6$; $0,3$ відповідно, аналогічні плями проявилися на хроматограмі індивідуальної настойки трави чистотілу, крім того в складі останньої додатково проявилась пляма з $R_f = 0,35$; $0,5$, що свідчить про наявність у них алкалоїдів. Оскільки алкалоїди в малих дозах мають значну фармакологічну активність на організм людини, а у випадку з препаратом «Гінекофіт» забезпечують судинорозширювальну і спазмолітичну дію [6], при стандартизації препарату проводити їх ідентифікацію.

Для цього 25 мл препарату поміщали у колбу місткістю 100 мл і упарювали на киплячій водяній бані під вакуумом до злегка вологого залишку. Вміст колби охолоджували до кімнатної температури, додавали 15 мл оцтової кислоти розведеної, приєднували зворотній холодильник і нагрівали на водяній бані протягом 30 хв, щоб утворилися оцтові солі алкалоїдів і пройшла їх екстракція. Охолоджували до кімнатної температури і відстоювали при 10-12 °С протягом 30 хв. Фільтрували крізь лійку зі складчастим фільтром до ділильної лійки місткістю 100 мл, додавали близько 10 мл аміаку розчину концентрованого до рН 10 (за універсальним індикаторним папером) для переведення алкалоїдів у основи. Проводили екстракцію алкалоїдів 20 мл хлороформу, хлороформний витяг фільтрували до круглодонної колби місткістю 100 мл крізь лійку зі складчастим фільтром з 20 г натрію сульфату безводного для висушування екстракту. Процедуру екстракції та фільтрування проводили ще двічі, порціями по 15 мл хлороформу. Об'єднані хлороформні витяги упарювали на киплячій водяній бані під вакуумом до злегка вологого залишку. До залишку додавали ацетон і перемішували. На фільтрувальний папір в одну точку наносили 0,02 мл ацетонового розчину та обприскували розчином калію йодовісмутату. Наявність алкалоїдів підтвердило появу оранжевого забарвлення.

Проведені хімічні дослідження показали, що настойка «Гінекофіт» містить полісахариди, флавоноїди, кумарини, гідроксикоричні кислоти та алкалоїди. Виходячи з кількісного вмісту вказаних класів сполук та їх впливу на загальний фармакологічний ефект настойки, нами запропоновано проводити ідентифікацію складної настойки «Гінекофіт» за наявністю гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та алкалоїдів.

ВИСНОВКИ

1. Вивчено хімічний склад індивідуальних настоек кореневищ айру, квіток ромашки, трави звіробою, трави барвінку малого, трави чистотілу, трави деревію, трави грициків звичайних, трави материнки та квіток нагідків, а також настойки складної «Гінекофіт».

2. Доведено вміст у мононастойках та настойці складної «Гінекофіт» гідроксикоричних кислот, флавоноїдів і алкалоїдів за допомогою використання якісних реакцій, а також хроматографічних методів.

3. Отримані результати використані нами при розробці аналітичної нормативної документації на настойку складну «Гінекофіт».



ЛІТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України /Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-е вид. – Х.: ПІРЕГ, 2001. – 556 с.
2. Блажей А. Фенольные соединения растительного происхождения /А.Блажей, Л. Шутий. – М.: Мир, 1977. – 240 с.
3. Георгиевский В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений /В.П.Георгиевский, Н.Ф.Комиссаренко, С.Е.Дмитрук. – Ростов: Изд-во Ростовского ун-та, 1988. – 131 с.
4. Лабораторное руководство по хроматографическим и смежным методам анализа: В 2-х ч. /Под ред. О.Микеиша. – М.: Мир, 1982. – 781 с.
5. Хроматография. Практическое приложение метода: В 2-х ч., ч.1 /Э. Хедтман, Т. Кастер, А. Нидервизер и др. – М.: Мир, 1986. – 422 с.
6. Гиоргобиани Э.Д. Действие йодистоводородной и хлористоводородной кислот на природные кумарины /Э.Д. Гиоргобиани,

Н.Ф. Комиссаренко // Сообщ. АН ГрССР. – 1969. – Т. 32, № 2. – С. 265–268.

7. Лазуревский Г.В. Практические работы по химии природных соединений /Г.В. Лазуревский, И.В. Терентьева, А.А. Шампури. – М.: Высш. шк., 1996. – 335 с.
8. Ковальов В.М. Фармакогнозія з основами біохімії рослин /В.М. Ковальов, О.І. Павлій, Т.І. Ісакова і ін. – Х.: Прапор, 2000. – С. 350, 357, 638.
9. European Pharmacopoeia. – 4 th ed. – Strasbourg: Council of Europe, 2002. – 2416 p.
10. Bicchi C., Brunelli C., Cordero C. et al. // J. Chromatogr. A. – 2004. – Vol. 1024, №№ 1-2. – P. 190-207.
11. Stuhlemmer U. // Z. Phytother. – 2003. – Vol. 24. – №3. – P. 120-218.
12. Theiss B., Theiss P. The Family Herbal. – Rochester, Vermont: Healing arts press, 1999. – 281 p.
13. WHO monographs on selected medicinal plants. – Geneva: World Health Organization, 2002. – Vol. 2. – 357 p.

Відомості про авторів: Вишнеvsька Лілія Іванівна – кандидат фармацевтичних наук, доцент, декан фармацевтичного факультету; тел. 7586761; 8-050-570-34-65; Георгіянц Вікторія Акілівна – доктор фармацевтичних наук, професор, завідувачка кафедри якості, стандартизації і сертифікації ліків; Яковенко Володимир Костянтинович – кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри промислової фармації та економіки; Хохлова Катерина Олександрівна – студентка 5 курсу фармацевтичного факультету.

УДК: 615.9:615.076.9:615.35:615.454.1

С.М. Запорожська, Л.М. Малоштан, І.М. Грубник

ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ І ТОКСИКОЛОГІЧНОЇ ДІЇ ВІТАМІННОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ГЕЛЮ ДЛЯ ДІТЕЙ

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: біологічна дія, токсикологічна дія, вітаміни, гель.

Ключевые слова: биологическое действие, токсикологическое, действие, витамины, гель.

Key words: biological, toxicological, vitamins, gel.

Розроблено методики вивчення імунотекторної дії при впливі вітамінного гелю на проникність капілярів і на стан клітинних мембран на моделі спонтанного гемолізу еритроцитів, а також методика визначення гострої токсичності при внутрішньошлунковому введенні, що дозволяє контролювати їх якість у розробленому препараті та використовувати для лікування та профілактики гіповітамінозів.

Разработаны методики изучения иммунопротекторного действия при влиянии витаминного геля на проницаемость капилляров и на состояние клеточных мембран на модели спонтанного гемолиза эритроцитов, а также методика определения острой токсичности при внутрижелудочном введении что позволяет контролировать их качество в разработанном препарате и использовать для лечения и профилактики гиповитаминозов.

The methods of studying an immune-protective action are developed at the influence of vitamin gel on permeability of capillaries and on the state of cellular membranes in the model of spontaneous haemolysis of erythrocytes. We have also developed the method of determination of an acute toxicity at intragastric introduction that allows to control their quality in the developed care and to use it for treatment and prophylaxis of hypovitaminosis.

У педіатричній практиці актуальною проблемою є лікування і профілактика гіповітамінозів різної етіології, оскільки вітаміни не виробляються в організмі, а їх надходження до організму дитини необхідне для здійснення нормального обміну речовин в період росту, а також для підвищення захисної реакції організму – імунітету [3].

Нами було розроблено препарат направленої дії для корекції вмісту в організмі дитини життєвоважливих вітамінів, необхідних для щоденного вживання, а саме поліпшення імунотекторної дії організму дитини [1].

Поряд з дослідженням фармакологічної активності необхідним етапом роботи було вивчення токсичних властивостей: організм дитини має малу масу при великій поверхні тіла, високу проникність мембран, великий об'єм позаклітинної рідини. Для дітей характерна незрілість

регуляторних механізмів, особливості імунного стану, і понижений кліренс. Знешкоджуюча функція печінки дозріває у дітей лише у 12-річному віці, а видільна спроможність нирок набагато нижча ніж у дорослих. У зв'язку з цим ряд лікарських засобів більш токсичні для дітей ніж для дорослих [3,8].

МЕТА РОБОТИ – розробка методик вивчення імунотекторної дії на організм дитини і визначення ступеня нешкідливості розробленого гелю.

ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Вивчення імунотекторної дії виконувалось за двома методиками [6,8]: вплив вітамінного гелю: 1 - на зміну проникності капілярів шкіри, 2 - на стан клітинних мембран на моделі спонтанного гемолізу еритроцитів.