

УДК 615.32:615.453.3:543.544

**КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ОСНОВНИХ ГРУП  
РЕЧОВИН В ГРАНУЛАХ НА ОСНОВІ  
ЛІКАРСЬКОЇ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ ДЛЯ  
ЛІКУВАННЯ ЗАХВОРЮВАНЬ ШЛУНКОВО-  
КИШКОВОГО ТРАКТУ**

**Спиридонов С.В., Котов А.Г.**

**Національний фармацевтичний університет  
Державне підприємство «Фармакопейний центр  
України»**

Останнім часом спостерігається суттєве збільшення захворювань шлунково-кишкового тракту (ШКТ). Цьому сприяє неякісне та нерациональне харчування, забруднення навколишнього середовища, психологічний та стресорний стани тощо [1].

Дуже часто на ШКТ діє багато патологічних факторів, які також впливають на органи гепатосфери та сечостатевої системи. Також чималу роль відіграють супутні розлади з боку центральної нервової системи [2, 3]. Все це вимагає комплексного підходу до створення лікарських препаратів для застосування в гастроентерології, номенклатурний діапазон яких потребує розширення.

Вигідне положення в даному випадку займає фітотерапія з використанням препаратів на основі лікарської рослинної сировини (ЛРС), що діють на основні ділянки патологічного процесу [4, 5, 6, 7].

З цієї метою вченими Національного фармацевтичного університету (м. Харків, Україна) був створений комплексний рослинний препарат у вигляді гранул під умовною назвою «Полігербагастрин», що включає до себе порошки наступних видів ЛРС: квіток цмина піщаного, кукурудзяних рилець, трави хвоща, трави спориша, насіння гіркокаштана, коренів солодки і висівок пшеничних [8].

Квітки цмина піщаного містять флаванон нарінгенін (та його глікозид саліпурпозид), флавоно апігенін, флаванол кемпферол, а також каротиноїди, вітамін К, дубильні речовини, ефірні масла, стероли, органічні кислоти. Мають жовчогінну, протизапальну, антиоксидантну дію.

Кукурудзяні рильця містять флаваноїди, каротиноїди (кріптоксантин), сітостерол, стігмастерол, вітаміни К, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, С, сапоніни, смолянисті речовини, пантотенову кислоту. Надають жовчогінну, діуретичну дію, також сприяють нормалізації біохімічних показників жовчі.

Трава хвоща містить сапонін еквізетонін, флаваноїдні сполуки (еквізетрін), похідні апігеніна, лютеоліна, кемпферола, кверцетина, алкалоїди (еквізетін), кремнієву кислоту, молібден, селен. Має

сечогінну, кровоспинну, протизапальну дію, нормалізує водно-сольовий обмін.

Трава спориша містить у своєму складі флаваноїди (авікулярін, кверцетін, кверцетрін, гіперозид та ін.), катехіни, фенолкислоти (кавова, п-кумарова, хлорогенова, галова), похідні кремнієвої кислоти, аскорбінову кислоту, каротин, рутин, дубильні речовини, антраглікозид емодин. Має сечогінну, протизапальну, протимікробну, літолітичну, в'язучу дію.

Насіння каштана кінського містять широкий набір фенольних сполук, кумарин ескулін, флаваноїди, похідні кверцетина і кемпферола, тритерпенові сапоніни (есцин), дубильні речовини. Надає в'язучу, спазмолітичну, капіляррозміцнювальну, виражену протизапальну та антиоксидантну дію.

Корені солодки також містять велику кількість фенольних сполук – флаваноїдів, флаванонів (ліквіритигенін та його глікозид ліквіритин), а також неоліквіритин, уралозід; тритерпенові сапоніни, гліциризинову і гліциретинову кислоти, сапогеніни, халкони (ізоліквіритигенін), лікуразид, вуглеводи, моно- і дісахариди, пектини. Надають седативну, спазмолітичну, протизапальну, антимікробну, сечогінну, дезінтоксикаційну дію.

Висівки пшеничні є сировиною, що містить велику кількість рослинних волокон, широкий діапазон амінокислот, вітаміни групи С, В, РР, А, Е. Сприяють нормалізації внутрішньочеревного тиску, підвищенню евакуаторної функції кишківника, зниженню інтоксикації, збільшенню якісного та кількісного складу мікрофлори товстої кишки [9, 10, 11, 12, 13, 14].

Невід'ємною частиною роботи зі створення препарату є розроблення методик кількісного визначення основних груп біологічно активних речовин (БАР), що і стало метою даного дослідження.

**Експериментальна частина**

На даний момент існує чимало методів визначення кількісного вмісту БАР у ЛРС. Серед них фізико-хімічні методи, такі, як гравіметричні (вагові), тітріметричні, хроматоденсітометричні; електрохімічні методи, до яких відноситься потенціометрія; полярографічні методи, капілярний електрофорез.

В останні роки все більшого поширення отримали різні інструментальні методи аналізу, які здатні швидко і точно виявити навіть незначні кількості БАР. До таких методів належать газова хроматографія і високоефективна рідинна хроматографія. Однак, при розробці методів визначення кількісного вмісту БАР складних рослинних сумішей, залишаються актуальними методи спектрофотометрії у видимій та УФ частині області спектра. Дані методи досить добре вивчені, обладнані високоточною апаратурою, та є доступними. Також вони описані у нормативних

документах України і приводяться у провідних фармакопеях світу [15, 16, 17].

### Результати та їх обговорення

Як видно з даних, що наведені вище, до складу гранул входить рослинна сировина, яка містить, серед широкого спектра БАР флавоноїди і поліфеноли [18, 19, 20], по яких і проводилося кількісне визначення як по речовинах, характерних для даного виду ЛРС.

Для визначення використовувалися уніфіковані методики, наведені в монографіях фармакопей та інших довідкових літературних джерелах.

Визначення проводилося на спектрофотометрі HP 8543 UV-VIS фірми «Hewlett Packard», США. Для зважування наважки зразків використовувалися аналітичні ваги ANG 200 фірми «AXIZ», Польща.

Методика кількісного визначення флавоноїдів полягає у наступному: точну наважку препарату (0,7508 г.) поміщали у круглодонну колбу місткістю 50 мл, додавали 1 мл розчину 5 г/л гексаметилентетраміну Р, 20 мл ацетону Р і 2 мл кислоти хлористоводневої Р1. Одержану суміш кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 30 хв. Після охолодження суміш фільтрували крізь тампон із вати у колбу Ерленмейера місткістю 100 мл. Додавали тампон із вати до залишку у круглодонну колбу та екстрагували двома порціями, по 20 мл кожна, ацетону Р, кожний раз проводячи кип'ятіння зі зворотним холодильником протягом 10 хв, і охолоджували. Кожний екстракт фільтрували крізь тампон із вати у колбу. Після охолодження об'єднані ацетонові екстракти фільтрували крізь паперовий фільтр у мірну колбу та доводили об'єм розчину ацетоном Р до 100,0 мл, обполіскуючи колбу і паперовий фільтр. Після цього

10,0 мл одержаного розчину поміщали у ділительну лійку, додавали 20 мл води Р і струшували із однією порцією 15 мл, потім із трьома порціями, по 10 мл кожна, етилацетату Р. Одержані етилацетатні екстракти об'єднували у ділительній лійці, промивали двома порціями, по 50 мл кожна, води Р, фільтрували над 10 г натрію сульфату безводного Р у мірну колбу і доводили об'єм фільтрату етилацетатом Р до 50,0 мл.

Випробовуваний розчин готували наступним чином: до 10,0 мл вихідного розчину додавали 1 мл реактиву алюмінію хлориду Р і доводили розчином 5 % (об/об) кислоти оцтової льодяної Р у метанолі Р до об'єму 25,0 мл.

Для приготування компенсаційного розчину 10,0 мл вихідного розчину доводили розчином 5 % (об/об) кислоти оцтової льодяної Р у метанолі Р до об'єму 25,0 мл.

Далі на спектрофотометрі проводили визначення оптичної густини компенсаційного та випробованого розчинів. Оптичну густину випробованого розчину вимірювали не пізніше, ніж через 30 хв після приготування за довжини хвилі 425 нм. відносно компенсаційного розчину. Використовували питомий показник поглинання гіперозиду, який дорівнює 500 [17].

Вміст флавоноїдів (X), у відсотках, у перерахунку на гіперозид, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \times 1,25}{m}, \text{ де}$$

A – оптична густина випробованого розчину за довжини хвилі 425 нм,  
m – маса наважки випробовуваної сировини, у грамах.

Overlaid Spectra:

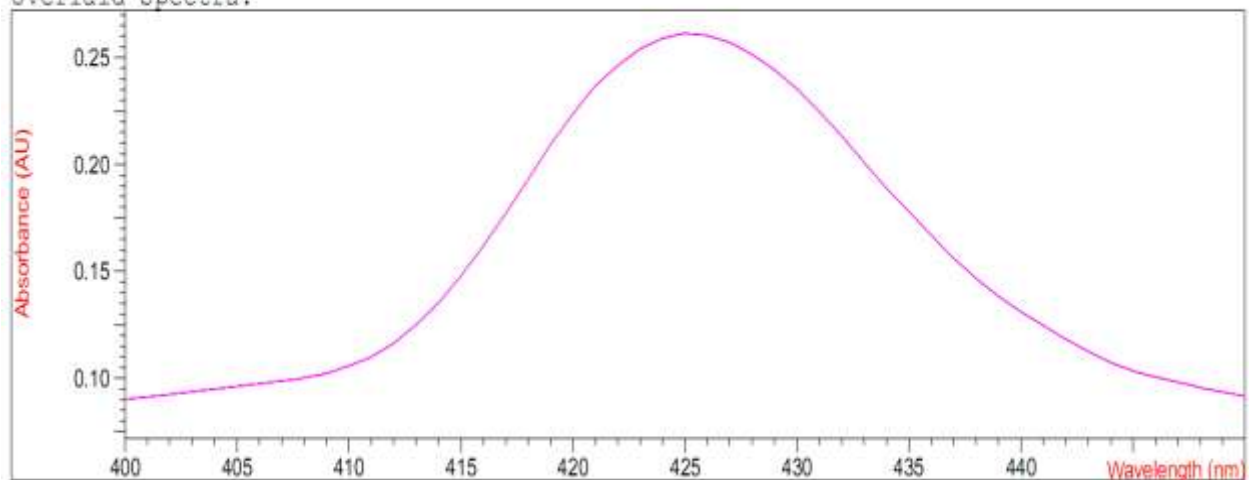


Рис. 1. Типовий спектр поглинання випробованого розчину досліджуваних гранул, отриманий в умовах проведення методики кількісного визначення флавоноїдів

Масу наважки випробовуваної сировини та отримані середні значення показників спектра

поглинання випробованого розчину досліджуваних гранул, наведеного на рис.1, підставляли у формулу 1 та визначали кількісний вміст флавоноїдів (показник  $X_i$  у таблиці 1).

Метрологічні характеристики методики кількісного визначення флавоноїдів у досліджуваних гранулах в перерахунку на гіперозид наведені у таблиці 1.

**Таблиця 1. Метрологічні характеристики методики кількісного визначення флавоноїдів у досліджуваних гранулах в перерахунку на гіперозид**

$X_i$	$X_{cp}$	$S^2$	$S_{cp}$	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	$\varepsilon_{\%}$
0,43467	0,43465	$9 \cdot 10^{-9}$	$4,14 \cdot 10^{-5}$	0,95	2,78	0,4346± 0,00012	0,0265
0,43450							
0,43474							
0,43470							
0,43462							

Для кількісного визначення поліфенолів нами взята за основу методика ДФУ «Визначення танінів в лікарській рослинній сировині» або ЕФ “Determination of tannins in herbal drugs” [16, 21], також відповідно до якої проводили випробування методом абсорбційної спектрофотометрії.

Для приготування випробовуваного розчину точну наважку (0,6018 г) здрібненої на порошок сировини поміщали у колбу місткістю 200 мл, додавали 70 мл води Р і нагрівали зі зворотним холодильником на водяній бані протягом 30 хв. Далі охолоджували до кімнатної температури, кількісно переносили за допомогою 25 мл води Р у мірну колбу місткістю 100 мл, доводили об'єм розчину водою Р до позначки і перемішували. Фільтрували крізь фільтрувальний папір, відкидаючи перші 20 мл фільтрату.

2,0 мл одержаного розчину поміщали в мірну колбу місткістю 25 мл, додавали 1,0 мл фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву Р, 10 мл води Р, перемішували, доводили об'єм розчином натрію карбонату Р до позначки і знову перемішували.

Для приготування розчину порівняння точну наважку (0,0252 г.) пірогалолу Р поміщали у мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняли у воді Р, доводили до позначки тим же розчинником і перемішували.

5,0 мл одержаного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 100 мл, доводили водою Р до позначки і перемішували.

2,0 мл одержаного розчину поміщали в мірну колбу місткістю 25 мл, додавали 1,0 мл фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву Р, 10 мл води Р, перемішували, доводили об'єм розчином натрію карбонату Р до позначки, після чого перемішували.

Через 30 хвилин вимірювали оптичну густину випробовуваного розчину і розчину порівняння на спектрофотометрі за довжини хвилі 760 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, відносно води Р.

Вміст загальних поліфенолів ( $X_1$ ), у перерахунку на пірогалол та суху сировину, у відсотках, обчислювали за формулою:

$$X_1 = \frac{D \times m_0 \times 1000}{D_0 \times m \times (100 - W)}$$

де: D – оптична густина випробовуваного розчину;

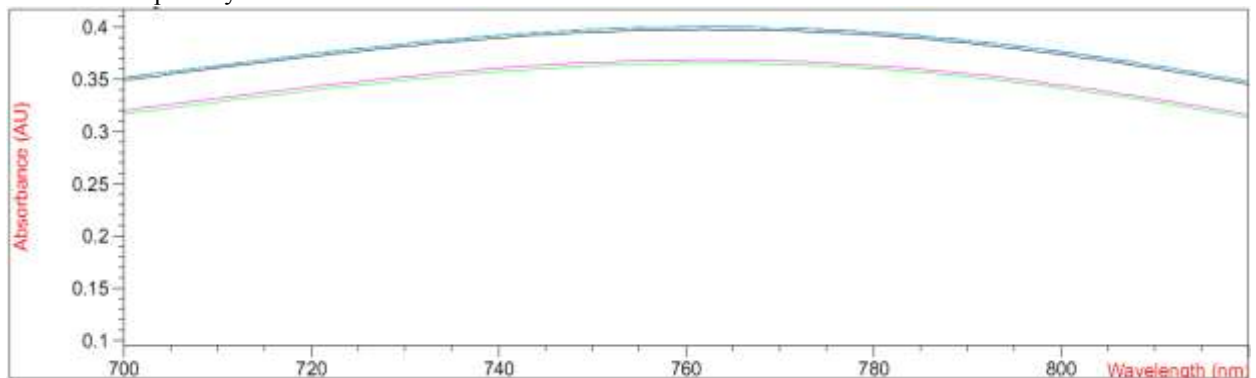
$D_0$  – оптична густина розчину порівняння;

$m_0$  – маса наважки пірогалолу, у грамах;

$m$  – маса наважки сировини;

W – втрата в масі при висушуванні.

Втрата в масі при висушуванні у відсотках визначалася шляхом взвішування наважки сировини до та після висушування (до постійної маси) у сушильній шафі при температурі 105°C та складала 12,1751%.



**Рис. 2. Типові спектри поглинання випробовуваного розчину і розчину пірогалолу досліджуваних гранул, отриманий в умовах проведення методики кількісного визначення поліфенолів.**

Далі, підставляючи у формулу маси наважки пірогалолу та наважки сировини, втрату в масі при висушуванні та середні значення показників поглинання випробуваного розчину і розчину пірогалолу (які наведені на рис. 2), визначали вміст загальних поліфенолів (показник

$X_{ip}$  у таблиці 2) у препараті в перерахунку на пірогалол.

Метрологічні характеристики методики кількісного визначення поліфенолів у досліджуваних гранулах в перерахунку на пірогалол наведені у таблиці 2.

**Таблиця 2. Метрологічні характеристики методики кількісного визначення поліфенолів у досліджуваних гранулах в перерахунку на пірогалол**

$X_{ip}$	$X_{cp}$	$S^2$	$S_{cp}$	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	$\varepsilon$ , %
0,43887	0,43935	$2,44 \cdot 10^{-7}$	$2,21 \cdot 10^{-4}$	0,95	2,78	0,4394± 0,00061	0,1399
0,43958							
0,43885							
0,44001							
0,43944							

### Висновки

1. Проведено визначення кількісного вмісту БАР в гранулах на основі лікарської рослинної сировини для лікування захворювань шлунково-кишкового тракту.
2. У досліджуваних зразках гранул встановлений вміст флавоноїдів в перерахунку на гіперозид, який дорівнює 0,43% і поліфенолів у перерахунку на пірогалол, який дорівнює 0,44%.
3. Отримані дані можуть бути використані при створенні нормативно-технічної документації.

### References

1. Health care and morbidity of Ukraine 2010: Statistical bulletin / State Statistics Committee of Ukraine. – Kyiv, 2011. – 88 p.
2. Cross R. Gastroenterology Pocket / R. Cross. – Maryland, Baltimore, Borm Bruckmeier Publish, 2014. – 520 p.
3. Greenberg N. Current Diagnosis & Treatment Gastroenterology, Hepatology, & Endoscopy, Second Edition (Lange current series). – USA: McGraw-Hill Company publish, 2011. – 624 p.
4. Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy. / M. Heinrich, J. Barnes, S. Gibbons, E. Williamson. – Edinburgh: Churchill Livingstone. –Elsevier, 2012. – 336 p.
5. Traditional Herbal Medicine Research Methods: Identification, Analysis, Bioassay, and Pharmaceutical and Clinical Studies / Ed. by W. J.H. Liu. – Hoboken: John Wiley & Sons Publish, 2011. – 466 p.
6. Modern Phytomedicine: Turning Medicinal Plants into Drugs / Ed. by I. Ahmad, F. Aqil, M. Owais. – Weinheim.: WILEY-VCN Publish, 2007. – 386 p.
7. Hoffman D. Medical Herbalism: The Science Principles and Practices Of Herbal Medicine / D. Hoffman. – Rochester: Healing Arts Press Publish. – 2003. – 668 p.
8. Spiridonov S.V. Development of composition and technology of granules obtain under the codenamed "GIT-1" for the treatment of digestive organs diseases /

S.V. Spiridonov, N. V. Donchenko / Zaporozh. med. jour. – № 2 (71). – 2012. – P. 104–106.

9. Chevallier A. Encyclopedia of Herbal Medicine: The Definitive Home Reference Guide to 550 Key Herbs with all their Uses as Remedies for Common Ailments / A. Chevallier. – DK publish, 2000. – 336 p.
10. National Geographic Guide to Medicinal Herbs: The World's Most Effective Healing Plants / R.L. Johnson, T.Low Dog, S. Foster, D. Kiefer. – Washington: Random House Publish, 2012. – 384 p.
11. Wyk B.E. Medicinal Plants of the World / B.E. van Wyk, M. Wink. – Portland: Timber Press Publish, 2004. – 484 p.
12. Plant Bioactives and Drug Discovery: Principles, Practice, and Perspectives / Ed. by V. Cechinel-Filho. – Hoboken, New Jersey: Jhon Wiley & Sons Publish, 2012. – 586 p.
13. Balch Ph. A. Prescription for Herbal Healing: An Easy-to-Use A-Z Reference to Hundreds of Common Disorders and Their Herbal Remedies / Ph. A. Balch. – NY.: Penguin Putnam publish, 2002. – 548 p.
14. Steele E. Determination of the generally recognized as safe (gras) status of wheat bran extract as a food ingredient. – Belgium: Fugeia NV, 2010, 120 p.
15. Ruhrkrautbluten // Deutesher Arzneimittel Codex. – Stuttgart: Deutsher Apotheker Verlag, 2000.
16. State Pharmacopoeia of Ukraine / State Enterprise «Scientific and Expert Pharmacopoeial Centre». – 1st ed. – Kharkov: RIREH, 2001. – 556 p.
17. State Pharmacopoeia of Ukraine / State Enterprise «Ukrainian scientific Pharmacopoeial center of drugs quality». – 1st ed. – Appendix 3 – Kharkiv: State Enterprise "Ukrainian scientific center pharmacopoeia quality of drugs", 2009. – 280 p.
18. Spiridonov S.V. Chromatographic research of granules from medicinal vegetable raw materials for use in gastroenterology / S.V. Spiridonov, A.G. Kotov // News of Pharmacy. – № 4 (72). – 2012. – P. 39-42.
19. The Science of Flavonoids / Ed. by E. Grotewold. – NY: Springer, 2007. – 274 p.
20. Flavonoids and Related Compounds: Bioavailability and Function / Eds. J. P. E. Spencer, A.

Crozier. – Boca Raton, Florida: CRC Press, 2012. – 472 p.

21. European Pharmacopoeia, fifth ed., Strasbourg, France, 2005.

**UDC 615.32:615.453.3:543.544**

**QUANTITATIVE DETERMINATION OF MAIN GROUPS OF SUBSTANCES IN GRANULES ON THE BASIS OF MEDICINAL VEGETABLE RAW MATERIAL FOR TREATING GASTROINTESTINAL DISEASES**

**Spiridonov S.V., Kotov A.G.**

In the last time a significant increasing of gastrointestinal tract diseases has been observed. The poor quality and irrational feeding, environmental pollution, psychological and other factors is the causes of this. Very often the gastrointestinal tract has a multifactorial pathological effects, also affecting the hepatosphere organs and urogenital system. Also a great importance have accompanying disorders of the central nervous system. Thus we must to require a comprehensive approach to the creation of drugs for use in gastroenterology, the assortment range of which should be expanded. Advantageous position in this case takes a phytotherapy using drugs based on medicinal plant raw material, which acting on the main areas of the pathological process. For this purpose the scientists from the National University of Pharmacy (Kharkov, Ukraine) was created a complex herbal drug in the form of granules under the code name "Poligerbagastrin", includes the following types of medicinal plant raw material powders: helichrysum arenarium flowers, corn stigmas, horsetail grass, knotweed grass, horse chestnut seeds, licorice roots and wheat bran.

**Materials and methods**

To determine the quantity of biologically active substances the method of spectrophotometry in the visible and UV spectral region was used. This method is well studied and available, equipped with high-precision hardware. He also described in the Ukrainian normative documents and contained in the world's leading pharmacopoeias. For determination was used the unifieds methods, which shown in pharmacopoeia monographs and other reference literature.

Determination was carried out with a spectrophotometer HP 8543 UV-VIZ of «Hewlett Packard» company, USA.

**Results and discussion**

For the quantitative determination of flavonoids was used a methodology, which based on the complexation reaction of isolated by acid hydrolysis and extraction with ethylacetate hydrolysis products with aluminum chloride in methanol - ethyl acetate - acetic acid environment and calculation of flavonoid content as hyperoside recalculating. For the quantitative determination of polyphenols was used the methods of State Pharmacopoeia of Ukraine "Determination of tannins in herbal drugs" or European Pharmacopoeia «Determination of tannins in herbal drugs». The method is based on the color reaction of polyphenolic substances, which including in the plant raw material,

with phosphomolybdic-tungsten reagent and measuring the optical density of the resulting solution at the wavelength of 760 nm. The content of total polyphenols in the drug was determined as pyrogallol recalculating.

**Conclusions**

1. The determination of quantitative content of biologically active substances in granules based on medicinal plant raw material for the treatment of gastrointestinal tract diseases is carried out.

2. In the studied sample of granules contents of flavonoids, calculated as hyperoside, which equal to 0.43% and the polyphenols, calculated as pyrogallol, which equal to 0.44% has been established.

3. The data obtained can be used to develop the normative and technical documentation.

**Keywords:** gastrointestinal tract diseases, medicinal plants raw material, granules, spectrophotometry, quantitative determination.