

Екстракційно-фотометричний аналіз вмісту тропанових алкалоїдів у лікарській рослинній сировині родини Solanaceae

Ю.С.Прокопенко, В.А.Міщенко, Н.Ю.Бевз

Національний фармацевтичний університет
Харків, Україна

У роботі наведено результати кількісного визначення вмісту тропанових алкалоїдів методом екстракційної фотометрії в екстрактах з трави беладони, листя дурману та листя блекоти, що ґрунтується на утворенні комплексів похідних тропану з бромтимоловим синім. Результати дослідження показали, що спектри поглинання випробовуваних розчинів з усіх рослин характеризуються наявністю максимумів поглинання за довжини хвилі 420 нм, аналогічно спектру поглинання розчину стандартного зразка атропіну, отриманого за таких самих умов. Розраховано кількісний вміст алкалоїдів у випробовуваних екстрактах у перерахунку на атропін.

Ключові слова: алкалоїди, лікарська рослинна сировина, атропін, екстракційна фотометрія.

ВСТУП

Алкалоїди тропанової групи викликають інтерес не тільки з дослідницької точки зору, а ще й завдяки широкому спектру фармакологічної активності, що притаманна цим сполукам. Взаємодіючи зі специфічними рецепторами та впливаючи на активність ферментних систем, тропанові алкалоїди здатні регулювати діяльність організму людини та надавати терапевтичну дію при лікуванні значної кількості захворювань. Широкий спектр фармакологічної активності алкалоїдів — похідних тропану — дозволяє використовувати ці сполуки для виробництва багатьох препаратів, що застосовуються для корекції патологічних станів у таких галузях медицини, як офтальмологія, неврологія, пульмонологія, кардіологія тощо [1-3].

Основними джерелами тропанових алкалоїдів є рослини родини Solanaceae, або пасльонових, зокрема беладона звичайна (*Atropa belladonna* L.), блекота чорна (*Hyoscyamus niger* L.) та дурман звичайний (*Datura stramonium* L.) [4].

Беладона звичайна (*Atropa belladonna* L.) є багаторічною рослиною, що зустрічається на території України переважно в Криму, Карпатах та Прикарпатті. Усі частини рослини є отруйними. Заготовляють тільки культивовану сировину на початку періоду цвітіння. Сировину швидко висушують при температурі 40-45 С для того, щоб запобігти її псуванню. Крім алкалоїдів, усі частини рослини містять тритерпенові сполуки, органічні кислоти, флавоноїди (7-глюкозидо-3-рамнозилгалактозид та 7-глюкозидо-3-рамнозилглюкозид кверцетину), нонакозан, кумарини (умбеліферон, скополетин). На сьогоднішній день беладона є офіційною рослиною в Україні. Стандартизацію сировини проводять за вмістом тропанових алкалоїдів, які ідентифікують за допомогою реакції із спиртовим розчином калію гідроксиду та методом ТШХ. Кількісне визначення алкалоїдів беладони в перерахунку на основний алкалоїд рослини атропін проводять методом алкаліметрії [5].

Блекота чорна (*Hyoscyamus niger* L.) — отруйна рослина, що росте як бур'ян на всій території України, Росії, крім Північних регіонів. Як лікарську рослинну сировину використовують листя та траву рослини, які заготовляють на початку цвітіння та в період дозрівання плодів відповідно. Основними діючими речовинами сировини є тропанові алкалоїди (гіосціамін, атропін, скополамін, гіосцин, тропін), крім того, у сировині містяться флавоноїди, основним з яких є рутин, стероїди, органічні кислоти [6].

Листя та насіння дурману звичайного (*Datura stramonium* L.) заготовляють у фазу

цвітіння рослини. Як і блекота, дурман добре розповсюджений по всій території України як бур'ян. Крім тропанових алкалоїдів, у рослині містяться дубильні речовини, фітостероїди, фенолокарбонові кислоти (хлорогенова, кавова, ферулова), флавоноїди [1, 6].

Описані рослини, на відміну від беладони, не є офіційними в Україні, проте листя дурману описано в монографії Європейської фармакопеї [7].

Метою дослідження було стандартизувати лікарську рослинну сировину дурману та блекоти для розробки рослинних препаратів на їх основі та порівняння вмісту суми тропанових алкалоїдів.

Враховуючи те, що національні вимоги до якості ЛРС гармонізовано з вимогами Європейської фармакопеї, стандартизацію листя дурману проводили за методикою, описану в даній монографії. Слід зазначити, що методики ідентифікації та кількісного визначення алкалоїдів у листі дурману є подібними до аналогічних методик визначення алкалоїдів у листі беладони, що ще раз підкреслює наближеність хімічного складу даних рослин. На сьогоднішній день вчені різних країн широко вивчають тропанові алкалоїди з використанням сучасних фізико-хімічних методів — спектроскопії ПМР [8], рентгеноструктурного аналізу [9, 10], спектрів циркулярного дихроїзму [11].

Враховуючи подальшу перспективу застосування даних рослин у виробництві фітотерапевтичних засобів, було вирішено розробити швидку за виконанням та інформативну методику ідентифікації та кількісного визначення алкалоїдів у даній сировині. Нами був обраний метод екстракційної фотометрії у зв'язку з його високою специфічністю, точністю, чутливістю та експресністю [12]. За основу при розробці ме-

тодики було використано методику кількісного визначення атропіну в настійці беладони [13].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Досліджували надземні частини дурману звичайного, беладони звичайної та блекоти чорної, зібрані в різних регіонах України. З висушеної сировини готували екстракти 1:10, для чого використовували 40% спирт етиловий. З отриманих екстрактів готували випробовувані розчини.

Приготування випробовуваного розчину. 1 мл спиртового екстракту висушили досуха у випарювальній чашці, сухий залишок розчинили в буферному розчині з рН 7,5 та перенесли в ділильну лійку. Додали розчин бромтимолового синього, 10 мл хлороформу та збовтували протягом 3 хвилин. Хлороформну витяжку відфільтрували через паперовий фільтр з натрію сульфатом безводним у мірну колбу. Екстракцію хлороформом повторили ще двічі, відфільтрували через той самий фільтр, фільтр промили хлороформом. До об'єднаної хлороформної витяжки додали розчин борної кислоти, довели спиртом етиловим 96% до позначки. Отриманий розчин використовували для вимірювання оптичної густини.

Приготування розчину стандартного зразка атропіну. Субстанцію атропіну кількісно перенесли водою в ділильну лійку, додали концентрований розчин аміаку та тричі збовтували з хлороформом. Хлороформну витяжку перенесли в мірну колбу на 100 мл, довели розчинником до позначки. Аліквоту отриманого розчину перенесли в ділильну лійку, додали хлороформ, розчин бромтимолового синього, буферний розчин з рН 7,5 та збовтували протягом 3 хв. Хлороформну витяжку помістили у

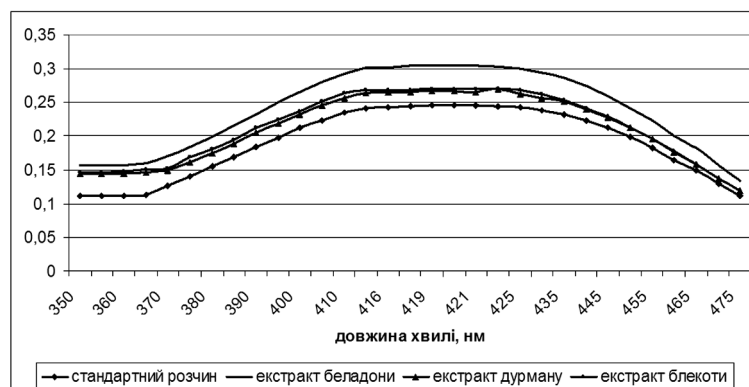


Рис. 1. УФ-спектри поглинання випробовуваних розчинів.

мірну колбу, додали розчин борної кислоти та довели спиртом етиловим 96% до позначки.

Приготування буферного розчину з рН 7,5. До 0,5 М розчину натрію гідроксиду додавали концентровану фосфорну кислоту до встановлення значення рН 7,5 потенціометрично.

Приготування розчину бромтимолового синього. Суміш, що складалася з рівних частин бромтимолового синього та натрію карбонату, розчинили в невеликій кількості води в мірній колбі при нагріванні. Після охолодження довели водою до позначки.

Приготування розчину борної кислоти. Субстанцію борної кислоти розчинили в суміші спирту етилового 96% та води при нагріванні.

Кількісний вміст алкалоїдів у випробовуваних екстрактах у перерахунку на атропін обчислювали за формулою: $X = A_1 * 0,0003 * 100 / A_0$, де A_1 – оптична густина випробовуваного розчину, A_0 – оптична густина розчину стандартного зразка атропіну, 0,0003 – вміст атропіну в розчині стандартного зразка, г.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані спектри поглинання випробовуваних розчинів зображені на рис. 1. Як видно, спектри поглинання випробовуваних розчинів та розчину стандартної речовини атропіну характеризувались наявністю максимумів поглинання за однаковою довжиною хвилі – 420 нм.

Результати розрахунку кількісного вмісту алкалоїдів в екстрактах з трави блекоти, листя дурману та листя беладони у перерахунку на атропін становили відповідно 0,033 г; 0,032 г та 0,037 г, що узгоджується з даними літературних джерел та може свідчити про те, що запропонована методика дозволяє коректно визначити вміст даної групи біологічно активних сполук у лікарській рослинній сировині.

ВИСНОВКИ

1. Розроблено та апробовано методику ідентифікації та кількісного визначення алкалоїдів в екстрактах з трави блекоти чорної, дурману звичайного та беладони звичайної методом екстракційної фотометрії.

2. Визначено, що найбільшим вмістом тропанових алкалоїдів у перерахунку на атропін характеризується екстракт з листя беладони (0,037 г), в екстрактах з трави блекоти та листя дурману вміст тропанових алкалоїдів у перерахунку на атропін є близьким та становить відповідно 0,032 г та 0,033 г.

3. Розроблену методику ідентифікації та кількісного визначення алкалоїдів можна використовувати для контролю якості препаратів з рослин родини Solanaceae на виробництві.

ЛІТЕРАТУРА

1. Фармакогнозія. Лікарська рослинна сировина та фітозасоби / За ред. П.І.Середі. – Вінниця: Нова Книга, 2006. – 352 с.
2. Gryniewicz G. Tropane alkaloids as medicinally useful natural products and their synthetic derivatives as new drugs / G.Gryniewicz, M.Gadzikowska // Pharmacol. Rep. – 2008. – Vol. 60. – №2. – P. 439-463.
3. Christen P. Tropane alkaloids: Old drugs used in modern medicine / P.Christen // Stud. Nat. Prod. Chem. – 2000. – Vol. 22. – №5. – P. 717-749.
4. Ковальов В.М. Фармакогнозія з основами біохімії рослин. 2-е вид. / В.М.Ковальов, О.І.Павлій, Т.І.Ісакова. – Х.: Вид-во НФаУ, МТК-книга, 2004. – 704 с.
5. Державна фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид., 2 доп., 2008. – 620 с.
6. Гаммерман А.Ф. Лекарственные растения научной медицины СССР, не включенные в фармакопею / А.Ф.Гаммерман. – Ашхабад, 1970. – 185 с.
7. European Pharmacopoeia 7th ed. – Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2011. – 5092 p.
8. Chirality and numbering of substituted tropane alkaloids / M.Humam, T.Shoul, D. Jeannerat, O.Mucoz, P.Christen // Molecules. – 2011. – №16. – P. 7199-7209
9. Structural study of tropane-3-spiro-4'-imidazol-5'-one / E.Galvez, M.Martinez, G.G.Trigo, F.Flores [et al.] // J. Mol. Struct. – 1981. – Vol. 75. – №2. – P. 241-254.
10. Bode J. The absolute configuration of the tropane alkaloid 6 α ,7 α -epoxy-16H,56H-tropan-3 α -yl(-)-2,3-dihydroxy-2-phenylpropionate from its n-butyl bromide / J.Bode, C.H.Stam // Acta Crystallogr. Sect. B: Struct. Crystallogr. Cryst. Chem. – 1982. – Vol. 38. – №2. – P. 333-335.
11. Absolute configuration of tropane alkaloids bearing two α,β -unsaturated ester functions using electronic CD spectroscopy: application to (R,R)-trans-3-hydroxy-seneciolyloxy-6-seneciolyloxytropane // M.Humam, P.Christen, O.Mucoz. [et al.] // Chirality. – 2008. – Vol. 20. – №1. – P. 20-25.
12. Георгиевский В.П. Физико-химические методы анализа биологически активных веществ растительного происхождения / В.П.Георгиевский, Н.А.Казаринов, М.О.Каррыев. – Ашхабад: Ылым, 1976. – 311 с.
13. Костеникова З.П. Оптимизация условий экстракционно-фотометрического определения алкалоидов группы тропана / З.П.Костеникова, И.В.Чичкова // Фармация. – 1989. – №5. – С. 35-39.

Ю.С.Прокопенко, В.А.Мищенко, Н.Ю.Бевз.
Экстракционно-фотометрический анализ содержания тропановых алкалоидов в лекарственном растительном сырье семейства Solanaceae. Харьков, Украина.

Ключевые слова: атропин, лекарственное растительное сырье, алкалоиды, экстракционная фотометрия. В работе представлены результаты количественного определения содержания тропановых алкалоидов методом экстракционной фотометрии в экстрактах из травы красавки, листьев дурмана и листьев белены, основывающегося на образовании комплексов производных тропана с бромтимоловым синим. Результаты исследования показали, что спектры поглощения испытуемых растворов из всех растений характеризуются наличием максимумов поглощения при длине волны 420 нм, аналогично спектру поглощения раствора стандартного образца атропина, полученного при таких же условиях. Рассчитано количественное содержание алкалоидов в испытуемых экстрактах в пересчете на атропин.

Yu.S.Prokopenko, V.A.Myshchenko, N.Yu. Bevz. **Analysis of the Tropan Alkaloids in the Natural Extracts of Solanaceae Family by the Method of Extractive Photometry. Kharkiv, Ukraine.**

Key words: atropine, natural extracts, alkaloids, extractive photometry

Determination of the tropan alkaloids in extracts from herb of *Atropa belladonna* L., leaves of *Datura stramonium* L. and leaves of *Hyoscyamus niger* L. was carried out by the method of extractive photometry based on formation of complexes of derivatives of the tropan with bromtimol dark blue. Research results has shown that all spectrums of absorption of examined solutions were characterized by the presence of maximums of absorption at length of wave of 420 nm, like the spectrum of absorption of solution of standard of atropine, got at the same conditions. Assay of alkaloids in examined extracts in a count on an atropine was carried out.

Надійшла до редакції 1.09.2011 р.