

УДК 615.07+582.635.5+616-0.8+616.594.1

М.І. Федоровська¹, Н.П. Половко², Л.А. Ковпак²**ТЕХНОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ
СОКУ КРОПИВИ ДВОДОМНОЇ В ПРОЦЕСІ РОЗРОБКИ ФІТОПРЕПАРАТУ
ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ОБЛИСІННЯ**

Івано-Франківський національний медичний університет¹,
м. Івано-Франківськ, Україна
Національний фармацевтичний університет²,
м. Харків, Україна

e-mail: maryanagavkalyuk@yahoo.com

Резюме: В статті показані перспективи розробки лікарського засобу для профілактики та лікування облисіння на основі трави соку кропиви дводомної. Розроблено лабораторну технологію соку із надземної частини кропиви. Здійснено стандартизацію одержаного продукту за органолептичними та фізико-хімічними показниками: опис, густина, рН, сухий залишок, ідентифікація і кількісне визначення основних груп біологічно активних речовин (гідроксикоричні кислоти, каротиноїди, хлорофіл).

Ключові слова: облисіння, сік кропиви дводомної, лабораторна технологія, стандартизація соку.

Вступ. Питання виділення фітокомплексів із свіжої лікарської рослинної сировини (ЛРС) є актуальним завданням сучасної фармацевтичної науки. Досвід застосування рослинних соків самостійно чи в складі лікарських засобів (ЛЗ) свідчить про їх численні переваги у порівнянні з ЛЗ із висушеної сировини⁹. Перспективною рослиною для розробки нових ліків із свіжої ЛРС є кропива дводомна, яка володіє цінними фармакологічними властивостями. В народній та традиційній медицині сік кропиви широко застосовують в терапії захворювань ротової порожнини, шлунково-кишкового тракту, шкіри та її придатків тощо⁴⁻⁶. Особливий інтерес представляє застосування соку із листя й надземної частини кропиви для профілактики та лікування надмірного випадання волосся (алопеції). За рахунок сумарного вмісту органічних та фенолкарбонових кислот, каротиноїдів, флавоноїдів, хлорофілу, кремнійвмісних сполук та інших мінеральних речовин сік кропиви виявляє регенеруючі, капіляропротекторні, протизапальні властивості, що в комплексі забезпечує відновлення та посилення росту клітин волоссяного фолікулу^{1,11}.

Враховуючи вищевикладене, актуальним є одержання соку із свіжої надземної частини кропиви дводомної та розробка на його основі ЛЗ для профілактичного й терапевтичного застосування при симптоматичній алопеції.

Мета дослідження. Опрацювання лабораторної технології та вивчення складу біологічно активних речовин (БАР) соку кропиви, їх кількісне визначення та обґрунтування вимог до ідентифікації та кількісного вмісту.

Матеріали та методи дослідження. В процесі отримання стабільного соку кропиви вивчали особливості пресування свіжозібраної сировини, умови інактивації ферментів, консервування та спосіб очистки соку⁵.

Аналіз одержаного соку проводили за наступними показниками: опис, густина, рН, сухий залишок (СЗ), ідентифікація і кількісне визначення основних груп БАР (гідроксикоричні кислоти, каротиноїди, хлорофіл).

Відносну густину соку визначали пікнометричним методом відповідно вимог статті 2.2.5. Державної Фармакопеї України 2 видання (ДФУ 2). Визначення рН проводили потенціометрично згідно з вимогами статті 2.2.3. ДФУ 2. СЗ соку встановлювали відповідно до статті 2.8.6 ДФУ 2².

Для ідентифікації гідроксикоричних кислот у соку кропиви використовували метод тонкошарової хроматографії (ТШХ)^{2,4,7}.

Для випробування методом ТШХ сік кропиви упарювали досуха, залишок розчиняли у 50% спирті та знову упарювали. Залишок розчиняли в метанолі. Для хроматографування використовували хроматографічні пластинки *Merck Silica gel F₂₅₄* і систему розчинни-

ків мурашина кислота безводна – вода – метанол – етилацетат (2,5:4:4:50). Для проявлення хроматограм використовували розчин 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру в метанолі. Оцінку результатів проводили шляхом порівняння інтенсивності забарвлення та величини R_f зон на хроматограмі розчину порівняння і випробовуваного розчину. Для приготування розчину порівняння використовували наступні маркерні

речовини: ру-тин, хлорогенову кислоту, кофейну кислоту.

Для ідентифікації каротиноїдів та хлорофілу використовували спектрофотометричне вимірювання екстракту з соку кропиви. При вивченні спектральних характеристик екстракту спостерігали максимуми поглинання за довжини хвилі 442 ± 2 нм, що характерно для каротиноїдів (віолоксантин) та за довжини хвилі 667 ± 3 нм, що характерно для хлорофілу (рис. 1).

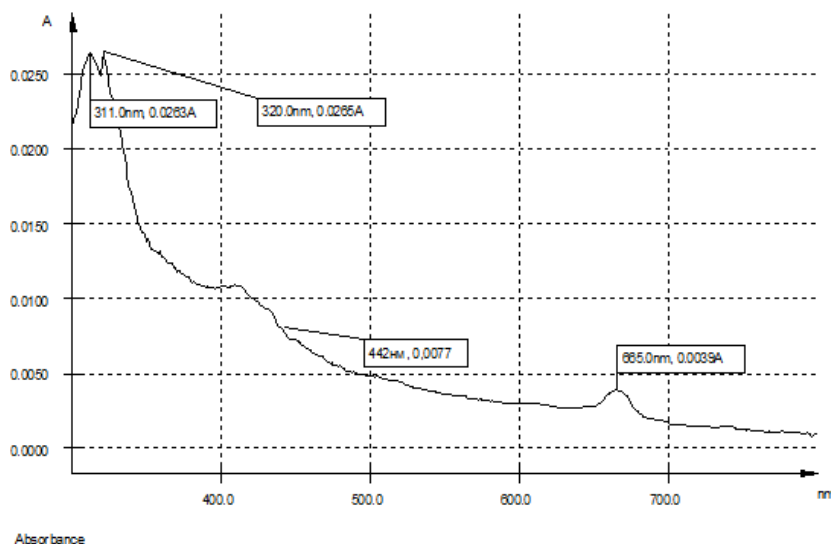


Рис. 1. УФ-спектр екстракту соку кропиви

Максимуми поглинання БАР, що досліджуються, не співпадають, тому можливо проводити одночасне визначення каротиноїдів та хлорофілу у соку кропиви спектрофотометричним методом без попереднього розділення.

Оцінку кількісного вмісту основних БАР у соку кропиви проводили спектрофотометричним методом на спектрофотометрі *Specord 200*. Усі використовувані реактиви відповідали вимогам ДФУ 2².

Для екстракції ліпофільних речовин (хлорофілу і каротиноїдів) використовували гексан. 1,5 г соку заливали 10 мл гексану, збовтували протягом 10 хв. Гексановий екстракт відокремлювали і фільтрували. Вимірювали оптичну густину отриманого гексанового екстракту: для хлорофілу за довжині хвилі 666 нм, для каротиноїдів – 442 нм.

Кількісний вміст хлорофілу (X) вираховували за формулою:

$$X = \frac{D_1 \times 10 \times 100}{m \times 944,5} \quad (1)$$

де D_1 – оптична густина гексанового екстракту за довжині хвилі 666 нм; m – маса наважки соку, г; 944,5 – питомий показник поглинання хлорофілу при 667 ± 3 нм; 10 – розведення; 100 – перерахунок на відсотки.

Кількісний вміст каротиноїдів (X) у перерахунку на віолоксантин вираховували за формулою:

$$X = \frac{D_1 \times 10 \times 100}{m \times 2500} \quad (2)$$

де D_1 – оптична густина гексанового екстракту за довжині хвилі 442 нм; m – маса наважки соку, г; 2500 – питомий показник поглинання віолоксантину при 442 ± 2 нм; 10 – розведення; 100 – перерахунок на відсотки.

Для визначення кількісного вмісту суми гідроксикоричних кислот у соку кропиви обрано методику, що описана у ДФУ 2 в монографії «Кропиви листя»³. Методика ґрунтується на реакції комплексоутворення з розчином солей натрію молібдату і натрію нітриту, в результаті чого в лужному середовищі утворюється рожево-оранжевий розчин, колір якого залежить від співвідношення похідних кислоти коричневої в сировині. Довжина хвилі вимірювання залежить від максимуму поглинання комплексу стандартної речовини, в перерахунку на яку проводять розрахунок кількісного вмісту гідроксикоричних кислот.

Кількісне визначення суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на кислоту кофейну.

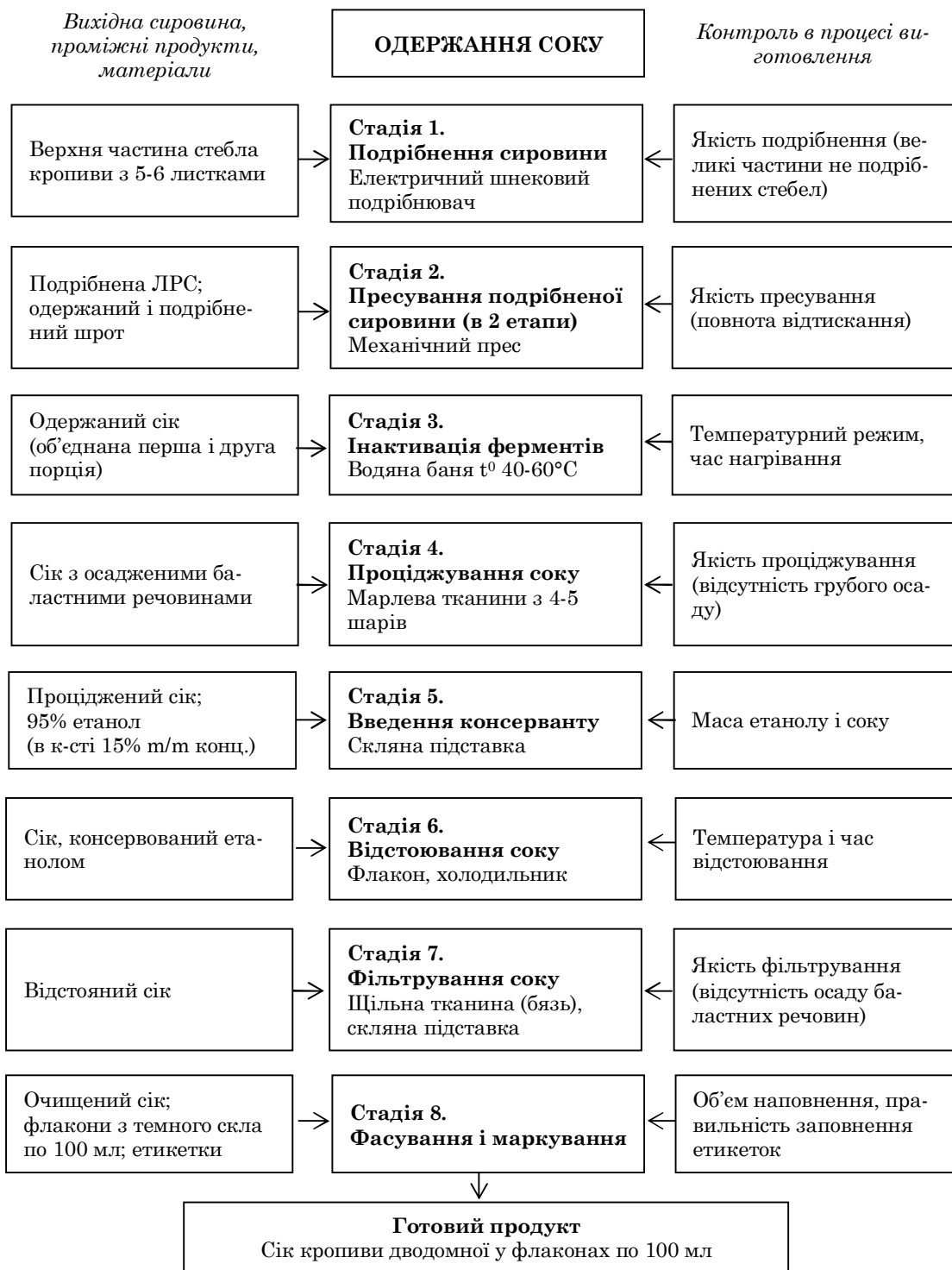


Рис.2. Технологічна схема одержання соку кропиви

Вихідний розчин: 20 г соку поміщають у колбу, додають 10 мл спирту 96%, нагрівають зі зворотнім холодильником на водяній бані протягом 1 год., охолоджують та фільтрують.

Досліджуваний розчин: 1,0 мл вихідного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додають, перемішуючи після кожного додавання, 2 мл 0,5 М розчину хлористоводневої кислоти, 2 мл свіжоприготованого

розчину 10 г натрію нітриту і 10 г натрію молибдату у 100 мл води, 2 мл натрію гідроксиду розчину розведеного, доводять об'єм розчину водою до позначки та перемішують.

Компенсаційний розчин: 1,0 мл вихідного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додають, перемішуючи після кожного додавання, 2 мл 0,5 М розчину хлористоводневої кислоти, 2 мл натрію гідро-

кисиду розчину розведеного, доводять об'єм розчину водою до позначки та перемішують.

Відразу вимірювали оптичну густину випробовуваного розчину за довжини хвилі 510 нм, використовуючи як розчин порівняння компенсаційний розчин. Вміст суми гідроксикоричних кислот (X), у перерахунку на кофейну кислоту, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{D_1 \times 10 \times 30 \times m_0 \times 0,2 \times 98}{m_1 \times 1 \times 10 \times 10 \times D_0} \quad (3)$$

де D_1 – оптична густина випробовуваного розчину; m_1 – наважка соку, г; 30 – розведення соку; 10 – розведення соку; m_0 – наважка СЗ кофейної кислоти; D_0 – оптична густина СЗ кофейної кислоти; 0,2, 10 – розведення СЗ; 98 – кількісний вміст (%) кофейної кислоти у СЗ.

Результати дослідження та їх обговорення. На I-ому етапі роботи була розроблена лабораторна технологія соку із свіжої надземної частини кропиви дводомної, яка забезпечує кінцевий вихід соку не менше 50% (рис.2).

Для одержання соку була зібрана надземна частина кропиви (верхня частина стебла з 5-6 листками) в період з кінця травня до початку червня. Подрібнення сировини здійснювали за допомогою кухонного електричного шнеко-

вого подрібнювача (фірм *Bosch*). Подрібнену сировину пресували за допомогою механічного пресу та отримували першу порцію соку. Жмих повторно подрібнювали, відтискали та об'єднували першу і другу порцію рідини. Одержаний сік витримували 15-20 хв. на водяній бані при t^0 40-60°C для інактивації ферментів. Утворений осад супутніх речовини проціджували через декілька шарів марлі. В проціджений та охолоджений сік додавали 15% етанолу (96%) за масою з метою консервування та осадження баластних речовин. Після цього здійснювали остаточне очищення продукту: сік відстоювали при температурі 2-4°C в холодильнику протягом 10 днів; висвітлену рідину фільтрували з декантацією через щільну тканину (бязь). В кінцевому результаті одержували готовий сік у вигляді темно-коричневої прозорої рідини, яку фасували в скляні флакони з темного скла по 100 мл; здійснювали маркування.

Аналіз свіжо одержаного соку проводили за органолептичними та фізико-хімічними показниками, результати яких наведені в табл. 1.

Таблиця 1. Показники якості «Кропиви дводомної сік»

Показник	Метод визначення	Вимоги
Зовнішній вигляд	Органолептично	Темно-коричнева прозора рідина зі специфічним запахом
Відносна густина	Пікнометрично. ДФУ, 2.2.5	Від 0,994 до 1,106 г/мл
pH	Потенціометрично. ДФУ, 2.2.3	Від 6,5 до 7,0
Сухий залишок	Гравіметрично. ДФУ, 2.8.16	Не менше 3,5%
Ідентифікація		
1. Гідроксикоричні кислоти	ТШХ. ДФУ, 2.2.27	Хлорогенова кислота Кофейна кислота
2. Каротиноїди	УФ-спектрофотометрія. ДФУ, 2.2.25	Максимум поглинання при (442±2) нм
3. Хлорофіл	УФ-спектрофотометрія. ДФУ, 2.2.25	Максимум поглинання при (667±3) нм
Кількісне визначення		
1. Сума гідроксикоричних кислот	УФ-спектрофотометрія. ДФУ, 2.2.25	Не менше 0,01%%
2. Сума каротиноїдів	УФ-спектрофотометрія. ДФУ, 2.2.25	Не менше 2мг%
3. Хлорофіл	УФ-спектрофотометрія. ДФУ, 2.2.25	Не менше 3мг%

У результаті аналізу методом ТШХ в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм виявлені зони з блакитною флуоресценцією, що характерні для фенолкарбованих кислот. За збігом величини R_f та забарвленням зон на хроматограмі розчину порівняння та випробовуваного розчину у соку кропиви ідентифіковано кислоту хлорогенову та кофейну.

Методом УФ-спект-рофотометрії у соку кропиви ідентифіковано каротиноїди та хлорофіл.

При кількісному визначенні вмісту гідроксикорисних кислот спектрофотометричним методом отримали максимум поглинання розчину

за довжини хвилі 510 нм, що характерно для кофейної кислоти. Тому як маркер для розрахунку кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у соку кропиви визначено кислоту кофейну.

Отже, запропонована технологія дозволяє в лабораторних умовах одержати стабільний високий вихід соку кропиви, який позбавлений баластних речовин та, завдяки консервуванню етанолом, стійкий при зберіганні при температурі 2-4°C. В наступних дослідженнях будуть встановлені умови та термін зберігання соку.

Висновки:

1. Проаналізовано літературні дані про перспективи застосування соку кропиви дводомної в дермато-косметичних засобах для профілактики та лікування надмірного випадання волосся. Розроблено лабораторну технологію соку із надземної частини кропиви дводомної.
2. Встановлено критерії якості соку кропиви дводомної: опис; густина в межах від 0,994

до 1,106 г/мл; рН від 6,5 до 7,0; сухий залишок не менше 3,5%; ідентифікація (метод тонкошарової хроматографії) та кількісне визначення методом УФ-спектрофотометрії: гідроксикоричних кислот не менше 0,01%, каротиноїдів не менше 2 мг%, хлорофілу не менше 3 мг%.

Література:

1. Галкін О.Ю. Визначення оптимальних параметрів технології одержання фітопрепарату для лікування та профілактики різних форм алопеції / О.Ю. Галкін, А.Г.Котов // Фармацевтичний часопис. – 2011. – №1. – С. 35-38.
2. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. – Т. 1. – 1127 с.
3. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. – Т. 3. – С.358.
4. Копытько Я.Ф. Применение, химический состав и стандартизация сырья и препаратов *Urtica* (Обзор) / Я.Ф. Копытько, Е.С. Лапинская, Т.А. Сокольская // Химико-фармацевтический журнал. – 2011. – №10. – С.32-41.
5. Лежнева Л.П. Технологический поиск в процессе разработки растительного лекарственного средства с противовоспалительными и антимикробными свойствами для местной терапии / Л.П. Лежнева // Научные ведомости БГУ. Серия: Медицина. Фармация. – 2011. – № 4. – С. 118-121.
6. Разработка технологии и изучение противовоспалительного действия стоматологического геля на основе глюкозамина с соками крапивы и каланхоэ / С.А. Кулешова, Е.В. Компанцева, Д.В. Компанцев [и др.] // Курский научно-практ. вестник «Человек и его здоровье». – 2009. – № 1. – С. 136 – 142.
7. Скалозубова Т.А. Изучение фенольных соединений листьев крапивы двудомной / Т.А. Скалозубова, А.И. Марахова, А.А. Сорокина // Прикладная аналитическая химия. – 2011. – №3 (5). – С. 20-26.
8. Скалозубова Т.А. Титриметрический метод в определении биологически активных веществ листьев и настоя крапивы двудомной / Т.А. Скалозубова, А.И. Марахова, А.А. Сорокина // Прикладная аналитическая химия. – 2010. – №1. – С. 35 – 38.
9. Сучасний погляд на фітотерапевтичний сектор вітчизняного фармацевтичного ринку / О.Ф. Кучмістова, О.І. Майборода, О.А. Ігнатова, О.В. Кучмістов // Вісник науковця. – 2009: Збірник матеріалів Всеукраїнської науково-практичної конференції. – Миколаїв, 2009. – С. 103-104.
10. Тринеева О.В. Определение органических кислот в листьях крапивы двудомной / О.В. Тринеева, А.И. Сливкин, С.С. Воронцова // Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2013. – №2. – С.215-219.
11. Herbal medicines as an effective therapy in hair loss – A review / S.M. Patil, G.N. Sapkale, U.S. Surwase, B.T. Bomble // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2010. – Vol.1 – P.773-781.

УДК 615.07+582.635.5+616-0.8+616.594.1

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ СОКА КРАПИВЫ ДВУДОМНОЙ В ПРОЦЕССЕ РАЗРАБОТКИ ФИТОПРЕПАРАТА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОБЛЫСЕНИЯ

М.И. Федоровская¹, Н.П. Половко², Л.А. Ковчак²

Ивано-Франковский национальный медицинский университет¹, г. Ивано-Франковск, Украина
Национальный фармацевтический университет², г. Харьков, Украина

Резюме: В статье показаны перспективы разработки лекарственного средства для профилактики и лечения алопеции на основе травы сока крапивы двудомной. Разработана лабораторная технология сока из надземной части крапивы. Осуществлена стандартизация полученного продукта по органолептическим и физико-химическим показателям: описание, плотность, рН, сухой остаток, идентификация и количественное определение основных групп биологически активных веществ (гидроксикоричные кислоты, каротиноиды, хлорофилл).

Ключевые слова: облысение, сок крапивы двудомной, лабораторная технология, стандартизация сока.

UDC 615.07+582.635.5+616-0.8+616.594.1

TECHNOLOGICAL RESEARCH AND STANDARDIZATION OF NETTLE JUICE IN THE PROCESS OF DEVELOPING HERBAL REMEDY FOR HAIR LOSS TREATMENT

M.I. Fedorovsk¹, N.P. Polovko², L.A. Kovpak²

Ivano-Frankivsk National Medical University¹, Ivano-Frankivsk, Ukraine

National University of Pharmacy², Kharkiv, Ukraine

Summary: The article deals with the development prospects of drugs with nettle juice for the hair loss prevention and treatment. The laboratory technology of nettle juice obtaining from plant aerial parts was developed. Standardization of the obtained product was carried out considering the organoleptic and physical-chemical properties: description, density, pH, dry residue, identification and quantification of the major groups of biologically active substances (phenol carbonic acids, carotenoids, chlorophyll).

Keywords: hair loss, nettle juice, laboratory technology, standardization of juice

Надійшла до редакції 11.02.2016 р.