



А.Г. Котов¹, Е.Е. Котова¹, Н.В. Хохленкова², Т.Г. Ярних², М.В. Буряк², Я.В. Груненко²

Дослідження з розробки та введення монографії на сировину кори дуба до Державної фармакопеї України

¹ДП «Державний науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», м. Київ,

²Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: кора дуба,
мікроскопія, макроскопія,
тонкошарова хроматографія.

Виконано порівняльний аналіз показників якості кори дуба відповідно до вимог Європейської фармакопеї для з'ясування можливості гармонізації вимог національної законодавчої бази на кору дуба з Європейською фармакопеею. Наявність у монографії Європейської фармакопеї таких показників, як макро- та мікроскопія, ідентифікація, кількісне визначення танінів допускає прийняття цих методів аналізу якості лікарської рослинної сировини у відповідній монографії Державної фармакопеї України. Проте досліджена вітчизняна рослинна сировина не відповідала вимогам монографії Європейської фармакопеї за вмістом танінів. Показано необхідність введення до монографії національної частини з ідентифікацією кори дуба методом тонкошарової хроматографії.

Исследования по разработке и введению монографии на сырье дуба кора в Государственную фармакопею Украины

А.Г. Котов, Э.Э. Котова, Н.В. Хохленкова, Т.Г. Ярных, М.В. Буряк, Я.В. Груненко

Проведен сравнительный анализ показателей качества коры дуба в соответствии с требованиями Европейской фармакопеи для определения возможности гармонизации требований национальной законодательной базы на кору дуба с Европейской фармакопеей. Наличие в монографии Европейской фармакопеи таких показателей, как макро- и микроскопия, идентификация, количественное определение таннинов, допускает принятие этих методов анализа качества лекарственного растительного сырья в соответствующей монографии Государственной фармакопеи Украины. Однако исследованное отечественное растительное сырье не всегда удовлетворяло требованиям монографии Европейской фармакопеи по содержанию таннинов. Показана необходимость введения национальной части к монографии с идентификацией коры дуба методом тонкослойной хроматографии.

Ключевые слова: кора дуба, микроскопия, макроскопия, тонкослойная хроматография.

Research on the development and introduction of monographs on raw oak bark to SPh of Ukraine

A.G. Kotov, E.E. Kotova, N.V. Khokhlenkova, T.G. Yarnykh, N.V. Buryak, Y.V. Hrunenko

The comparative analysis of quality indexes by bark oak in accordance with requirements Eph is conducted for determination of possibility of harmonization of requirements of national legislative base on the oak bark with Eph. Presence in a monograph Eph such indexes, as macro- and microscopy, authentication, quantitative determination of tannins, acceptance of these methods of analysis of quality of plant materials assumes in the proper monograph of SPh of Ukrainian. The necessity of introduction to the monograph of national part is retined with authentication of raw material by the method of TLC.

Key words: oak bark, microscopy, macroscopy, TLC.

Порівняльний аналіз показників якості кори дуба відповідно до вимог Європейської фармакопеї (ЄФ) та ГФ XI показав, що у зазначених документах набір показників якості суттєво не відрізняється [1].

Мета роботи

Дослідження якості кори дуба, що використовується в Україні, для з'ясування можливості гармонізації вимог національної законодавчої бази – Державної фармакопеї України (ДФУ) – на даний вид лікарської рослинної сировини (ЛРС) з Європейською фармакопеею.

Матеріали і методи дослідження

Використовуючи раніше розроблений алгоритм [2,6] і враховуючи те, що кора дуба описана в ЄФ і ГФ XI, для досягнення мети необхідно дослідити вітчизняну сировину на відповідність вимогам ЄФ.

У якості об'єктів дослідження використано 10 зразків кори дуба, зібрані у 2007–2009 рр. у Житомирській області. Усі зразки – сировина промислової заготівлі, яку збирали, сушили і зберігали відповідно до вимог зберігання лікарської рослинної сировини.

Результати та їх обговорення

Макроскопічні дослідження показали, що за винятком показника товщини кори всі наявні серії сировини за зовнішніми ознаками відповідають вимогам монографії

ЄФ. Слід зазначити, що 60% сировини більш ніж 3 мм завтовшки. Це необхідно буде враховувати при розробці національної частини монографії ДФУ (табл. 1).

У ході мікроскопічних досліджень у всіх зразках виявлено діагностичні анатомічні структури, характерні для дуба звичайного (табл. 2, рис. 1–5).

Результати досліджень за показниками ідентифікація С (якісна реакція), сторонні домішки, втрата в масі при висушуванні, загальна зола та кількісне визначення наведено в таблиці 3. Слід зазначити, що за розділом «Сторонні домішки» жодна серія не відповідала вимогам ЄФ [7].

Тест «Ідентифікація С» витримали всі зразки. Ця якісна реакція, заснована на утворенні червоного забарвлення при взаємодії випробовуваного розчину кори дубу з розчином ваніліну у кислоті хлористоводневій, не є специфічною для даної сировини. Наприклад, з розчинами кори вільхи, ясеню, осики воно також утворюється.

Тому, на нашу думку, актуальним є дослідження з розробки уніфікованого методу, що дозволить чітко ідентифікувати кору дуба серед інших рослинних об'єктів. У процесі пошуку інформації з теми та аналізу інших фармакопейних прийнятних методик з використанням доступних речовин порівняння вибір зупинили на підході до ідентифікації сировини методом тонкошарової

Таблиця 1

Результати макроскопічних досліджень кори дуба згідно до вимог монографії ЄФ «Oak bark»

Вимоги ЄФ, монографії «Oak bark»	Зразок									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Трапляються жолобчасті та зморщені шматочки кори завтовшки не більше 3 мм	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+
	(1,1)	(3,1)	(3,4)	(2,5)	(2,9)	(3,5)	(5,0)	(6,1)	(4,5)	(2,8)
Зовнішня поверхня світло-зелена або зеленувато-сірого кольору	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Зовнішня поверхня гладенька, зрідка з сочевичками	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Внутрішня поверхня матова, коричневого або червоно-коричневого кольору	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Внутрішня поверхня має злегка рельєфні подовжні борозенки від 0,5 мм до 1 мм завширшки	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
У зламі заїдлива та волокниста	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примітка: «+» – сировина відповідає вимогам монографії ЄФ «Oak bark».

Таблиця 2

Результати мікроскопічних досліджень кори дуба згідно до вимог монографії ЄФ «Oak bark»

Вимоги ЄФ, монографії «Oak bark»	Результати аналізу (усі зразки)
Порошок від світло-коричневого до червонувато-коричневого кольору, волокнистий	+
У порошку виявляються: – групи товстостінних волокон, оточених помірно потовщеними паренхімними обкладками, що містять призми кальцію оксалату;	+
– фрагменти корка, змішані з тонкостінними плоскими клітинами з коричнюватим або червонуватим вмістом;	+
– численні поодинокі або згруповані склереїди, деякі великі, з потовщеними багат шаровими оболонками та розгалуженими порами;	+
– інші склереїди – менші за розміром, з тоншими оболонками та простими порами, часто з густим коричневим вмістом;	+
– фрагменти паренхіми, що містять друзи кальцію оксалату;	+
– фрагменти тонкостінних ситовидних трубок з ситовидними полями на скошених кінцях.	+



Рис. 1. Групи товстостінних волокон, оточених помірно потовщеними паренхімними обкладками, що містять призми кальцію оксалату.

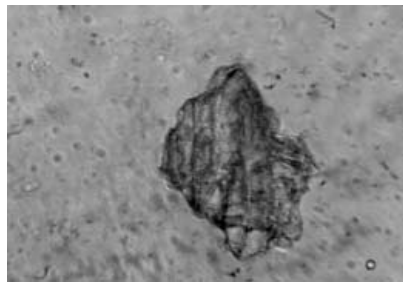


Рис. 2. Фрагменти корка, змішані з тонкостінними плоскими клітинами з коричнюватим або червонуватим вмістом.

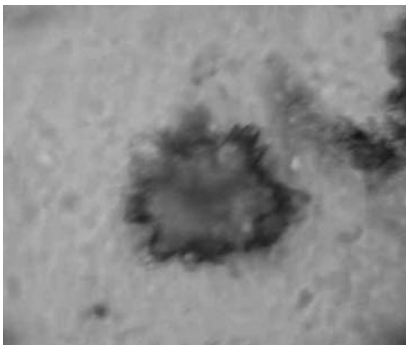


Рис. 4. Фрагменти паренхіми, що містять друзи кальцію оксалату.

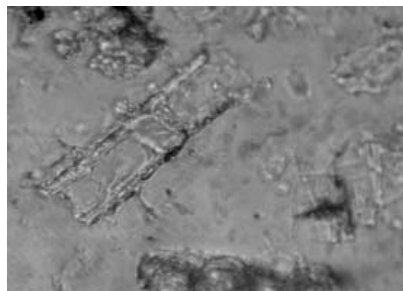


Рис. 5. Фрагменти тонкостінних ситовидних трубок з ситовидними полями на скошених кінцях.

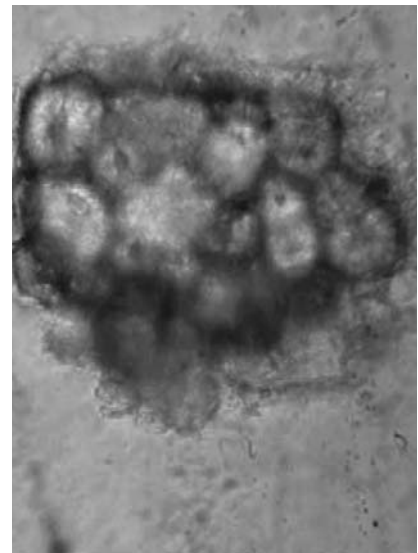


Рис. 3. Численні поодинокі або згруповані склереїди, деякі великі, з потовщеними багат шаровими оболонками та розгалуженими порами, інші склереїди менші за розміром, з тоншими оболонками та простими порами, часто з густим коричневим вмістом.

Таблиця 3

Результати дослідження зразків дуба кори на відповідність вимогам ЄФ і запропонованої національної частини

Показник	Вимоги	Зразок									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ідентифікація С Якісна реакція	Червоне забарвлення. З розчином ваніліну у кислоті хлористоводневій	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Сторонні домішки	Не більше 2%	4,5	5,3	4,2	6,2	5,6	9,6	4,2	4,5	7,3	8,6
Втрата в масі при висушуванні, %	Не більше 10%	8,38	7,48	8,21	8,49	7,65	8,06	7,55	8,23	7,08	8,24
Загальна зола, %	Не більше 8%	7,98	7,96	7,02	7,84	7,84	7,24	4,68	6,99	6,99	7,18
Вміст	Не менше 3% танінів в перерахунку на пірогалол і суху сировину	3,17	2,67	3,18	2,33	2,63	0,96	3,00	2,89	1,84	1,93
Ідентифікація А	Шматочки кори завтовшки зазвичай не більше 3 мм (до 6 мм).	1,1	3,1	3,4	2,5	2,9	3,5	5,0	6,1	4,5	2,8
Ідентифікація D	Послідовність зон на хроматограмах розчину порівняння та інші зони	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Сторонні домішки	Не більше 5% шматків кори, потемнілої з внутрішньої поверхні; не більше 5% шматків кори більше 6 мм завтовшки; не більше 2% сторонніх часток, у тому числі не більше 1% домішок мінерального походження	3,0	3,3	2,4	4,9	3,8	8,4	2,2	3,5	6,5	7,2
		1,5	2,0	1,8	1,3	1,8	1,2	2,0	1,0	0,8	1,4
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 15%	8,38	7,48	8,21	8,49	7,65	8,06	7,55	8,23	7,08	8,24
Вміст	Не менше 2,5% танінів у перерахунку на пірогалол і суху сировину	3,17	2,67	3,18	2,33	2,63	0,96	3,00	2,89	1,84	1,93

Примітка: «+» – сировина відповідає вимогам монографії ЄФ «Oak bark»

хроматографії (ТШХ) [4,8,9]. Цей метод описаний у монографії ЄФ «Tormentil» [7]. У його основі лежить на хроматографування досліджуваного розчину рослини з розчином порівняння (катехін) у суміші: кислота оцтова льодяна – ефір – гексан – етилацетат (20:20:20:40). Зони виявляють обробкою хроматограми розчином міцного синього в солі. При дослідженні кори дубу за цією методикою виявлено, що хроматографічний профіль досліджуваних розчинів рослини досить специфічний: крім катехіну (рис. 6, d) у верхній частині хроматограми виявляється кислота галова (рис. 6, i).

Відповідно до «Порядку розробки монографій на ЛРС» [2] останнім часом у методики якісного і кількісного аналізів вводять стандартизовані екстракти з відповідної сировини, наприклад ехінацеї [5]. Тому, враховуючи такий підхід, для розробки (у національну частину монографії) методики ідентифікації біологічно активних речовин (БАР) дуба звичайного напрацьовано стандартизовані сухі екстракти кори дубу, які застосовували для ідентифікації сировини у якості розчинів порівняння. Це дозволило достовірно ідентифікувати кору дуба.

При розробці методики у якості розчинів порівняння використовували фармакопейні стандартні зразки катехіну і пірогалолу, а також розчини стандартизованого екстракту кори дуба сухого і стандартизованого екстракту перстачу прямостоячого сухого. Хроматографування, виявлення зон, що ідентифікуються, проводили як описано вище (рис. 6).

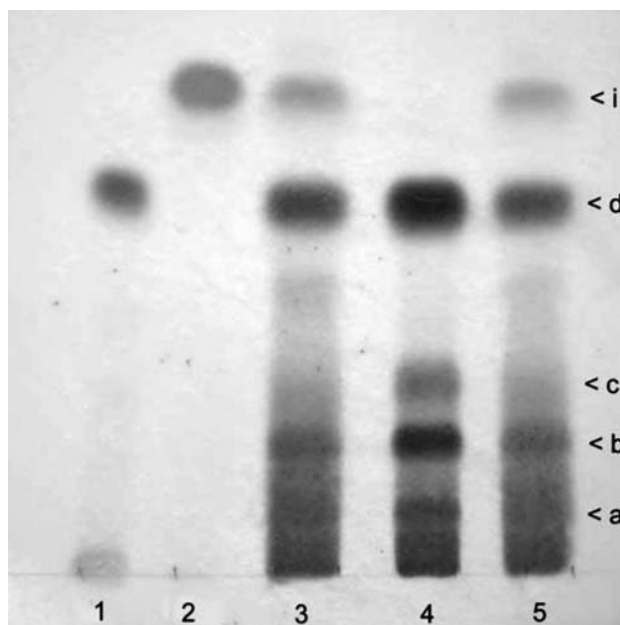


Рис. 6. Хроматограми, отримані у процесі розробки тесту «Ідентифікація. Метод ТШХ».

Примітки: 1 – розчин катехіну; 2 – розчин кислоти галової; 3 – випробовуваний розчин кори дуба; 4 – розчин сухого стандартизованого екстракту перстачу прямостоячого; 5 – розчин сухого стандартизованого екстракту дуба.

У процесі випробування серій кори дубу визначено, що у всіх зразках на хроматограмах виявлялись регламентовані зони, що відповідають катехіну та кислоті галовій, а також інші регламентовані зони (рис. б, а, b, с).

При проведенні тесту «Кількісне визначення», описаного у ЄФ, дослідження проводили відповідно до методики [3,7]. Як видно з отриманих даних, не всі зразки відповідали вимогам ЄФ за кількісним вмістом. Слід зазначити, що кореляцію між товщиною кори і вмістом танінів у перерахунку на пірогалол не визначено.

Список літератури

1. Котов А.Г. Порівняльний аналіз нормативної документації на сировину «Дуба кора» / А.Г. Котов, Е.Е. Котова, Н.В. Хохленкова, Т.Г. Ярних, М.В. Буряк, О.Г. Вовк // Фармаком. – 2010. – №3. – С. 57–61.
2. Котов А.Г. Дослідження з розробки та введення монографій на лікарську рослину сировину до Державної Фармакопеї України / А.Г. Котов // Фармаком. – 2009. – №1. – С. 5–19.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доповнення 2. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.
4. Лекарственные растения мировой и отечественной медицины: [Справочное пособие] / Н.В. Попова, Т.В. Ильина, В.Н. Ковалев, А.И. Павлий. – Х.: Б. и., 1995. – 96 с.
5. Питання введення до Державної Фармакопеї України монографії «Ехінацеї пурпурової корені» / Э.Э. Котова, А.Г. Котов, О.Г. Вовк, Т.М. Тихоненко, Я.А. Груненко // Фармаком. – 2009. – №3. – С. 5–15.
6. Проблемы введения монографий на лекарственное растительное сырье в Государственную Фармакопею Украины / Гризодуб А.И., Георгиевский Г.В., Тихоненко Т.М., Георгиевский В.П. // Фармаком. – 2004. – №4. – С. 3–17.
7. European Pharmacopoeia. – Strasbourg: Council of Europe, 2001. – 2416 p.
8. Herbal medicine. Expanded commission e monographs. First edition. – 2000. – P. 752.
9. Wichtl M. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals / Wichtl M., Bisset N.G. – Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 1994. – 566 p.

Відомості про авторів:

Котов А.Г., к. фарм. н., ст. наук. співроб., керівник наукового напрямку «Лікарська рослинна сировина» відділу ДФУ УНФЦЯЛЗ.

Котова Е.Е., к. фарм. н., ст. наук. співроб. відділу ДФУ ДП УНФЦЯЛЗ.

Хохленкова Н.В., к. фарм. н., доцент каф. технології ліків НФаУ.

Ярних Т.Г., д. фарм. н., професор, зав. каф. технології ліків НФаУ.

Буряк М.В., асистент каф. технології ліків НФаУ.

Груненко Я.В., ст. лаборант відділу ДФУ ДП УНФЦЯЛЗ.

Надійшла в редакцію 04.07.2012 р.