

**ДОСЛІДЖЕННЯ РОСЛИННИХ СУМІШЕЙ ЛИСТЯ МАЛИНИ
(*RUBUS IDAEUS* L.)****Ключові слова:** листя малини, елагова кислота, стандартизація, багатокомпонентні рослинні суміші, ВЕРХ

Перспективним напрямом удосконалення процедур стандартизації багатокомпонентних лікарських засобів рослинного походження (БЛЗРП) є використання маркерних сполук – речовин, присутність яких характерна лише для окремої лікарської сировини. Впровадження методик якісного та кількісного аналізу, заснованих на використанні маркерів, має не лише велике практичне значення, але й суттєву наукову доцільність [5].

Одними з перспективних та широко використовуваних складових, що містяться у БЛЗРП, є сировина листя малини (*Rubus idaeus* L.), яку успішно застосовують в медичній практиці як у вигляді монопрепаратів, так і у вигляді складових частин БЛЗРП [2, 3]. Листя малини містять у своєму складі мінеральні речовини, вітаміни, цукри, фенольні сполуки, флавоноїди, дубильні речовини, амінокислоти, ефірні олії, чим зумовлений широкий спектр їхніх біологічних властивостей [7].

Згідно з даними літератури, сировина листя малини серед інших фенольних сполук містить елагову кислоту, яка виявляє широкий спектр біологічної активності, а саме: антиоксидантну, антимуутагенну, антиканцерогенну активність, має ранозаговальні властивості [6, 8, 9].

Таким чином, вважалося за доцільне дослідити можливість використання цієї сполуки як маркера для визначення листя малини в рослинних сумішах.

Мета роботи – визначення можливості виконання якісної та кількісної стандартизації листя малини в рослинних сумішах за наявністю та вмістом елагової кислоти.

Матеріали та методи дослідження

Сировину листя малини було зібрано у Вінницькій (Вінницький район), Київській (Переяслав-Хмельницький район), Харківській (Валківський район), Чернігівській (Ніжинський район) та Чернівецькій (околиці міста Чернівці) областях України у травні 2014 р.

Як стандартні розчини використовували водно-спиртові розчини елагової кислоти (Aldrich, каталожний № 4637) в етанолі.

Екстракцію елагової кислоти в досліджуваних об'єктах здійснювали згідно з методикою [1].

Хроматографічне вивчення досліджуваних екстрактів та розчинів стандартних зразків робили на хроматографі Shimadzu ser. 20 (Shimadzu, Японія), обладнаному діодно-матричним детектором, за таких умов: колонка Phenomenex Luna C18(2) розміром 250 мм x 4,6 мм, розмір частинок 5 мкм; температура колонки – 35 °С; довжина хвилі детектування – 330 нм; швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв; об'єм проби, що вводився – 5мкл; рухома фаза:

| Час хроматографування, хв | Елюент А, % | Елюент Б, % |
|---------------------------|-------------|-------------|
| 0–5 | 95 | 5 |
| 5–35 | 95 → 75 | 5 → 25 |
| 35–40 | 75 | 25 |
| 40–60 | 75 → 50 | 25 → 50 |
| 60–65 | 50 → 20 | 50 → 80 |
| 65–70 | 20 | 80 |
| 70–85 | 95 | 5 |

Елюент А – 0,1%-й розчин трифтороцтової кислоти в воді, елюент Б – 0,1%-й розчин трифтороцтової кислоти в ацетонітрилі.

При виконанні роботи використовували реактиви: ацетонітрил для градієнтного хроматографування (FLUKA, Німеччина); трифтороцтову кислоту (FLUKA, Німеччина); етанол ректифікований фармакопейної якості; воду бідистильовану.

Статистичне оброблення одержаних даних здійснювали з використанням t-критерію Стьюдента. [4]

Результати дослідження та обговорення

Як зазначалося, в сировині листя малини міститься біологічно активна речовина елагова кислота [8]. Виходячи з цього, із застосуванням методу вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) нами була розроблена хроматографічна методика визначення елагової кислоти в сировині листя малини. За розробленою методикою проаналізовано сировину листя малини, зібрану в різних регіонах України.

Вміст елагової кислоти в сировині листя малини, зібраної в різних регіонах України, подано в таблиці.

Т а б л и ц я

Вміст елагової кислоти в досліджуваній сировині листя малини залежно від регіону зростання

| № з/п | Сировина | Регіон збору сировини | Вміст елагової кислоти у перерахунку на висушену сировину, %, $n = 5$ |
|-------|--------------|-----------------------|---|
| 1 | Листя малини | Вінницька область | $0,47 \pm 0,0162$ |
| 2 | » | Київська область | $0,39 \pm 0,0214$ |
| 3 | » | Харківська область | $0,31 \pm 0,0827$ |
| 4 | » | Чернігівська область | $0,42 \pm 0,0201$ |
| 5 | » | Чернівецька область | $0,53 \pm 0,0362$ |

Згідно з даними, наведеними в таблиці, в усіх пробах була ідентифікована та кількісно визначена елагова кислота. Її вміст у досліджуваній сировині знаходиться в межах від $0,31 \pm 0,0827\%$ до $0,53 \pm 0,0362\%$ у перерахунку на висушену сировину.

За цих самих умов здійснено аналіз рослинної сировини, що часто входить до складу багатокомпонентних препаратів зі вмістом листя малини, а саме листя кропиви дводомної, коренів цикорію дикого, насіння льону, коренів імбиру, коренів куркуми, кореневищ лепехи та зерен вівса.

У результаті досліджень ми дійшли висновку, що за наявності та кількісним вмістом елагової кислоти можна стандартизувати листя малини у сумішах із 7 вищенаведеними рослинними компонентами.

Для підтвердження можливості стандартизації листя малини за наявності та вмістом елагової кислоти в присутності вищезазначеної сировини були виготовлені багатокомпонентні модельні суміші рослинної сировини зі вмістом та без вмісту листя малини.

Рослинна суміш зі вмістом листя малини: листя малини – 1 г, листя кропиви дводомної – 1 г, коренів цикорію дикого – 1 г, насіння льону – 1 г, коренів імбиру – 1 г, коренів куркуми – 1 г, кореневищ лепехи – 1 г, зерен вівса – 1 г.

Рослинна суміш без вмісту листя малини: листя кропиви дводомної – 1 г, коренів цикорію дикого – 1 г, насіння льону – 1 г, коренів імбиру – 1 г, коренів куркуми – 1 г, кореневищ лепехи – 1 г, зерен вівса – 1 г.

Зазначені суміші були проаналізовані за розробленою хроматографічною методикою. Хроматограми стандартного розчину елагової кислоти, екстрактів зазначених сумішей та екстракту листя малини наведено на рисунку.

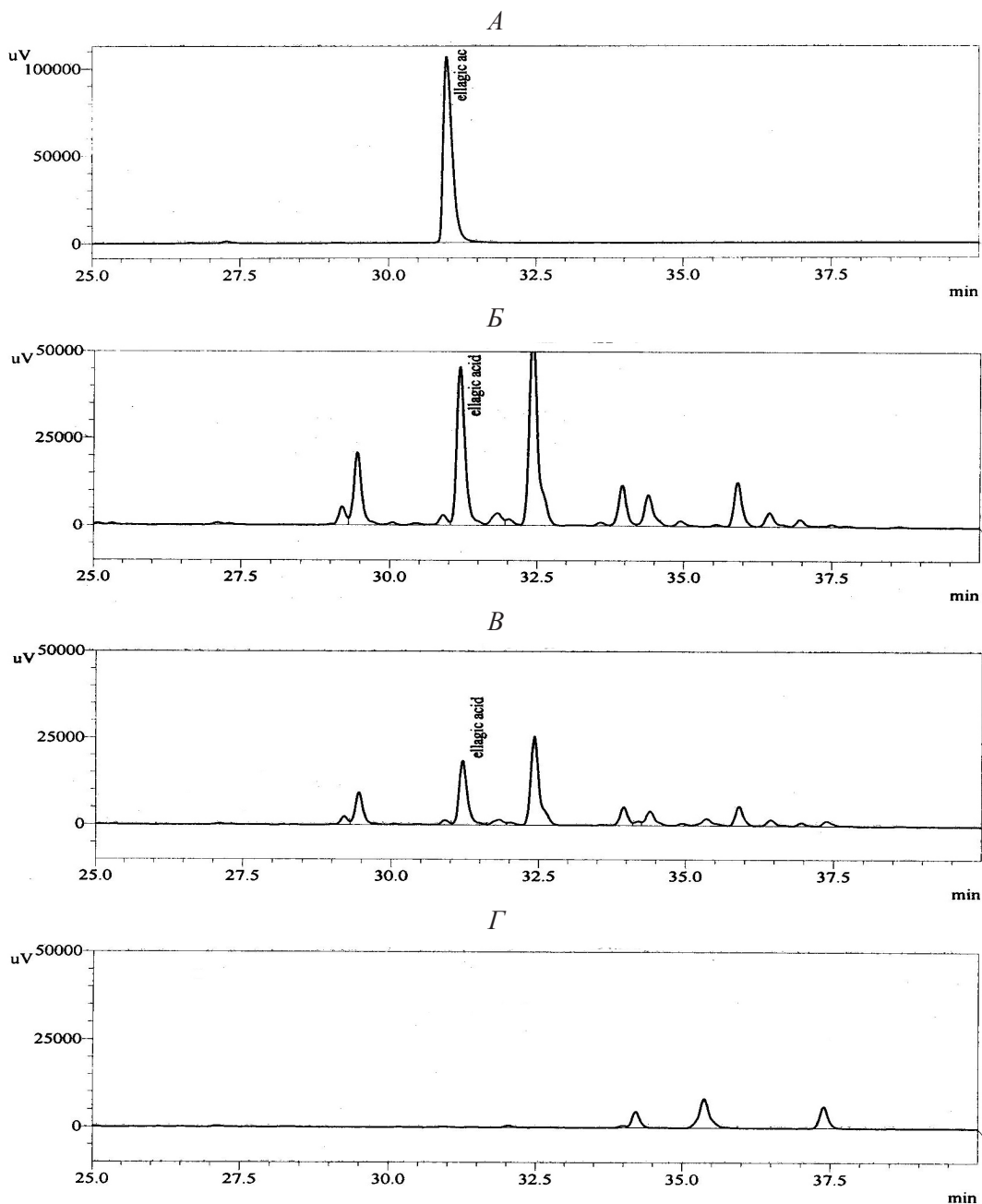


Рис. ВЕРХ-хроматограми досліджуваних розчинів:

A – розчин порівняння елагової кислоти; *B* – екстракт листя малини;
B – екстракт модельної суміші зі вмістом листя малини; *Г* – екстракт модельної суміші без вмісту листя малини

Як випливає з рисунку, на хроматограмі екстракту листя малини (*B*) ідентифіковано пік, що присутній на хроматограмі стандартного розчину елагової кислоти (*A*), час виходу якого становить 31,5 хв. Цей пік присутній на хроматограмі багатокомпонентної суміші зі вмістом листя малини (*B*), тоді як на хроматограмі багатокомпонентної суміші без вмісту листя малини (*Г*) цей пік відсутній.

Таким чином, виходячи з одержаних даних, у рослинних сумішах, до складу яких входять листя малини, листя кропиви дводомної, корені цикорію дикого, насіння льо-

ну, корені імбиру, корені куркуми, кореневища лепехи та зерна вівса, листя малини можна стандартизувати за наявністю та вмістом елагової кислоти.

Одержані результати планується використати для формування методів контролю якості на перспективні БЛЗРП, що містять у своєму складі листя малини.

В и с н о в к и

1. Розроблено методику визначення елагової кислоти в сировині листя малини за допомогою методу ВЕРХ.

2. Проаналізовано сировину листя малини, зібрану в п'яти регіонах України. В усіх пробах ідентифіковано та кількісно визначено елагову кислоту, вміст якої знаходився в межах від $0,31 \pm 0,0827\%$ до $0,53 \pm 0,0362\%$ у перерахунку на суху сировину.

3. Розроблено ВЕРХ-методику визначення елагової кислоти як маркера листя малини у багатокомпонентних рослинних сумішах. Встановлено, що за наявністю та вмістом елагової кислоти листя малини можна стандартизувати в сумішах із такою рослинною сировиною: листям кропиви дводомної, коренями цикорію дикого, насінням льону, коренями імбиру, коренями куркуми, кореневищами лепехи та зернами вівса.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Гудзенко А. В., Цуркан А. А. Разработка методики стандартизации коры дуба в растительных смесях по содержанию эллаговой кислоты с использованием метода ВЭЖХ // Вопросы биол. мед. фармакохимии. – 2013. – № 10. – С. 9–12.

2. Компендиум. Лекарственные препараты 2007. Т. 1. / За ред. В. М. Коваленка, О. П. Вікторова. – К: Моріон, 2007. – 1128 с.

3. Компендиум. Лекарственные препараты 2007. Т. 2. / За ред. В. М. Коваленка, О. П. Вікторова. – К: Моріон, 2007. – 1126 с.

4. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: Морион, 2000. – 320 с.

5. Разживин А. В., Решетняк В. Ю., Кузьменко А. Н., Нестерова О. В., Попков В. А. Возможность применения специфических маркеров определенных видов лекарственного растительного сырья при анализе многокомпонентных растительных сборов и фиточаев // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. – 2009. – Т. 50, № 2. – С. 129–132.

6. Buricova L., Andjelcovic M., Cermakova A. Antioxidant Capacity and Antioxidants of Strawberry, Blackberry, and Raspberry Leaves // Czech. J. Food Sci. – 2011. – V. 29, N 2. – P. 181–189.

7. European Medicines Agency / Committee on Herbal Medicinal Products. – March 2012. – P. 4–6.

8. Gudej J., Tomczyk M. Determination of Flavonoids, Tannins and Ellagic Acid in Leaves from Rubus L. Species // Arch. Pharm. Res. – 2004. – V. 27, N 11. – P. 1114–1119.

9. Xiang L., Xing D., Lei F. et al. Effects of season, variety, and processing method of ellagic acid content in pomegranate leaves // Tsinghua science and technology. – 2008. – V. 13, N 4. – P. 460–465.

Надійшла до редакції 05. 12. 2016.

А. В. Гудзенко, Т. Н. Курапова, С. А. Власенко

ГУ «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины», г. Киев

**ИССЛЕДОВАНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ СМЕСЕЙ ЛИСТЬЕВ МАЛИНЫ
(RUBUS IDAEUS L.)**

Ключевые слова: листя малини, эллаговая кислота, многокомпонентные растительные смеси, ВЭЖХ

А Н Н О Т А Ц И Я

Стандартизация лекарственного растительного сырья и усовершенствование методов контроля качества поликомпонентных лекарственных средств растительного происхождения является одной из актуальных проблем современной фармацевтической химии. Перспективным направлением усовершенствования процедуры стандартизации поликомпонентных лекарственных средств растительного происхождения является использование маркерных соединений – веществ, наличие которых характерно только для определенного лекарственного сырья.

Цель работы – определение возможности проведения качественной и количественной стандартизации листьев малины в растительных смесях по наличию и содержанию эллаговой кислоты.

В качестве объектов исследования использовали растительные смеси и сырье листьев малины. Хроматографическое изучение исследуемого сырья осуществляли на жидкостном хроматографе Shimadzu ser. 20, оборудованном диодно-матричным детектором с использованием колонки Phenomenex Luna C18(2).

С использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии разработана методика определения эллаговой кислоты в сырье листьев малины. С использованием разработанной методики проанализировано сырье листьев малины, собранное в пяти регионах Украины в 2014 году.

Во всех пробах была идентифицирована и количественно определена эллаговая кислота, содержание которой находилось в пределах от $0,31 \pm 0,0827\%$ до $0,53 \pm 0,0362\%$ в перерасчете на сухое сырье. Определено, что по присутствию и количественному содержанию эллаговой кислоты листья малины можно стандартизировать в смесях с 7 лекарственными растениями.

A. V. Gudzenko, T. M. Kurapova, S. O. Vlasenko

State Institution «Institute of Pharmacology and Toxicology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv

RESEARCH OF PLANT MIXTURES OF RASPBERRIES (*RUBUS IDAEUS* L.) LEAVES

Key words: raspberry leaves, ellagic acid, multicomponent plant composition, HPLC

ABSTRACT

One of the most actual problem of modern pharmaceutical chemistry is standardization of herbal raw materials and improvement of methods of quality control multicomponent herbal medicines. A promising way to improve standardization procedures multicomponent herbal medicines is to use the marker compounds – substances whose presence is characteristic only for certain medicinal plants.

Purpose. Exploring the possibility of qualitative and quantitative standardization raspberries leaves included to plant mixture by the presence and content of ellagic acid.

The object of study was herbal mixture and raw materials from the raspberry leaves. Chromatographic studies of raw materials was carried out by liquid chromatograph Shimadzu ser. 20, equipped with a diode-array detector using a column Phenomenex Luna C18 (2).

Method for determination of ellagic acid in the raw materials from the raspberry leaves was developed using high performance liquid chromatography (HPLC). Using the developed methodology were analyzed 5 series of the raw materials from the raspberry leaves, that were collected at different regions of Ukraine. In all the samples were identified and quantified ellagic acid. Its content ranged from $0,31 \pm 0,0827\%$ до $0,53 \pm 0,0362\%$, based on the dry raw material. Determined that raspberry leaves can be standardized in the mixtures of 7 plant raw materials based on the presence and content of ellagic acid.

It was developed the method for determination of ellagic acid in the raw materials from the raspberry leaves using high performance liquid chromatography (HPLC). There were analyzed 5 series of the raw materials from the raspberry leaf, that were collected at different regions of Ukraine. Determined that raspberry leaves can be standardized in the mixtures of 7 plant raw materials based on the presence and content of ellagic acid.

Електронна адреса для листування з авторами: ganvi@yandex.ru