

SUMMARY

M.M. Konopleva

A QUANTITATIVE DETERMINATION OF
TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS IN THE
FRUITS OF FRAGARIA VESCA L.
METHOOLIES

A technique for a quantitative determination of total phenolic compounds in the fruits of *Fragaria vesca* is suggested by spectrophotometry, which technique is based on the oxidation of phenolic compounds by the phosphoromolybdenum-wolfram reagent. Optimum conditions have been established for the reaction.

The calculation of total phenolic compounds content was conducted with use of a specific indicator of absorption of gallic acid 850.

The relative error of proposed technique is 3,1%.

Key words: *Fragaria vesca*, phenolic compounds.

7. Булатов, М.И. Практическое руководство по фотоколориметрическим и спектрофотометрическим методам анализа / М.И. Булатов, И.П. Калинин // Химия. – Л., – 1976. – С. 59.

8. Коноплева, М.М. Количественное определение суммы фенольных соединений в листьях земляники лесной / М.М. Коноплева // Вестник фармации. – Витебск: ВГМУ. – 2008. – №3 (41). – С. 34 – 37.

Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
Витебский государственный
медицинский университет,
кафедра фармакогнозии и ботаники
с курсом ФПК и ПК,
тел. раб.: 8 (0212) 37-09-29.

Коноплева М.М.

Поступила 16.07.2009 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ 4388 «Плоды земляники лесной»
2. Попов, В.И. Лекарственные растения / В.И. Попов, Д.К. Шапиро, И.К. Данусевич. – Минск: Полымя, 1990. – С. 132 – 134.
3. Куркин, В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов / В.А. Куркин. – Самара: Сам ГМУ, 2004. – С. 787 – 789.
4. Коноплева, М.М. Методика количественного определения фенольных соединений в плодах земляники лесной / М.М. Коноплева // Новые методы диагностики, лечения, реабилитации и оценки лекарственных форм: сб. науч. трудов. – Витебск, ВГМИ, 1991. – С. 139-142.
5. Запрометов, М.П. Основы биохимии фенольных соединений / М.П. Запрометов. – М.: Высшая школа, 1974. – С. 75 – 76.
6. Государственная Фармакопея Республики Беларусь / под. общ. ред. Г.В. Годовальникова. – Минск: Минский государственный ПТК полиграфии, Т.1.: Общие методы контроля качества лекарственных средств. – 2006 – 656 с.

В.Н. Абдуллабекова

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ РУТИНА
В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ
МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО
ЭЛЕКТРОФОРЕЗА**

Ташкентский фармацевтический институт,
г. Ташкент

*Описана методика обнаружения рутина в лекарственных растениях. Изучена возможность использования метода капиллярного электрофореза для идентификации рутина. Подобраны оптимальные условия анализа на приборе HPCE Agilent Technologies с диодной матрицей DAD (Германия: капилляр - стандартный (эффективная длина – 56 см, внутренний диаметр – 50 мкм); напряжение – 20kV; полярность – положительная; инжекция – 150 мбар*сек; температура кассеты – 20⁰C; объем пробы – 50 мкл; рабочая длина волны - $\lambda=370$ нм).*

Ключевые слова: *рутин, методика обнаружения, капиллярный электрофорез.*

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственные средства растительного происхождения нашли широкое применение в современной фармакотерапии. К подобным лекарственным средствам относятся химически чистые вещества, очищенные комплексы природных веществ, настойки, экстракты, эликсиры, бальзамы и др.

Одними из важнейших действующих соединений таких средств являются флавоноиды. Данные соединения, будучи ценными биологически активными веществами растительного происхождения, обладают широким спектром фармакологической активности (гепатопротекторной, желчегонной, антиоксидантной, антирадиационной, капилляроукрепляющей) и сравнительно малой токсичностью. В связи с этим изучение химического состава растений, содержащих флавоноиды, разработка на их основе простых и экономичных способов получения эффективных лекарственных средств, особенно с использованием местного сырья, является актуальным и перспективным направлением фармацевтической промышленности Республики Узбекистан.

В настоящее время с целью расширения ассортимента отечественных лекарственных средств указанного спектра действия нами проводятся исследования по разработке лекарственных форм на основе флавоноидсодержащей флоры Узбекистана и методик объективного контроля их качества.

Следует отметить, что при создании лекарственных средств особое место занимает разработка методики постадийного контроля качества при их производстве.

На сегодняшний день для разработки методик обнаружения и количественного определения флавоноидов в лекарственных средствах широко используются физико-химические методы анализа, в частности, высокоэффективная жидкостная

хроматография (ВЭЖХ) [1-4], а также капиллярный электрофорез (КЭ) [5-7].

КЭ имеет ряд преимуществ по сравнению с ВЭЖХ: высокая эффективность разделения, экономичность (малый расход реактивов), отсутствие дорогостоящих хроматографических колонок и прецизионных насосов высокого давления и экспрессивность.

Целью настоящей работы явилось изучение возможности использования метода КЭ для идентификации рутина в листьях фиалки полевой и траве зверобоя шероховатого, произрастающих в Узбекистане.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы листьев фиалки полевой собирали на территории Ташкентского ботанического сада, а траву зверобоя шероховатого - в Ташкентской области.

Экстракция суммы флавоноидов. Точную навеску (5,0 г) воздушно-сухого измельченного сырья размером не более 1 мм помещали в колбу с притертой пробкой, заливали 50 мл 80% этилового спирта и исчерпывающе экстрагировали с обратным холодильником при перемешивании и нагревании на водяной бане. Полученные экстракты фильтровали в горячем виде и объединяли. Объединенные экстракты сгущали под вакуумом, очищали от липофильных примесей путем обработки хлороформом. Далее из водного остатка флавоноиды экстрагировали последовательно этилацетатом и н-бутанолом по схеме, представленной на рис.1.

Полученные по выше описанной схеме экстракты сгущали, после чего проводили исследования на содержание флавоноидов методом ТСХ.

Хроматографирование осуществляли восходящим методом с использованием спиртового раствора стандарта (PCO) рутина.

Полученные хроматограммы высушивали при комнатной температуре и просматривали при дневном, а затем в ультрафиолетовом свете.



Рис. 1. Схема выделения флавоноидов

Для проявления пятен использовали концентрированный раствор аммиака и 5% спиртовой раствор хлорида алюминия. В результате были определены оптимальные условия разделения флавоноидов: пластинки “Sorbfil” ПЭТФ (10x10) УФ-254 (силикагель СТХ-1БЭ), система этилацетат-хлороформ-муравьиная кислота (2:2:1).

Установлено, что наибольшее число флавоноидов (желтые пятна), в том числе и рутина, наблюдается в этилацетатной фракции.

Определение рутина методом КЭ в этилацетатных фракциях, полученных из листьев фиалки полевой и травы зверобоя шероховатого, проводили на приборе HPCE Agilent Technologies с диодной матрицей DAD (Германия).

В ходе разработки методики нами было изучено влияние температуры анализа и давления при вводе пробы на разделение флавоноидов. Учитывая флавоноидный состав, в качестве стандарта был использован РСО рутина.

Предварительно был установлен характер спектра поглощения рабочего стан-

дартного образца рутина, максимум поглощения которого в этиловом спирте находится при длине волны 360 нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На основании проведенных исследований были выбраны следующие условия КЭ определения рутина:

- капилляр – стандартный, эффективная длина- 56 см, внутренний диаметр – 50 мкм;
- напряжение – 20kV;
- полярность – положительная;
- инъекция – 150 мбар*сек;
- температура кассеты – 20⁰С;
- боратный буфер с рН 9,24;
- объем пробы – 50 мкл (был доведен рабочим боратным буферным раствором с рН 9,3 до 400 мкл). Пики регистрировали при рабочей длине $\lambda=370$ нм. Между анализами капилляр кондиционировали два раза по 5 мин 1 и 0,1 М растворами NaOH, 5 мин боратным буферным раствором.

Результаты проведенных исследований представлены на рис. 2 и 3.

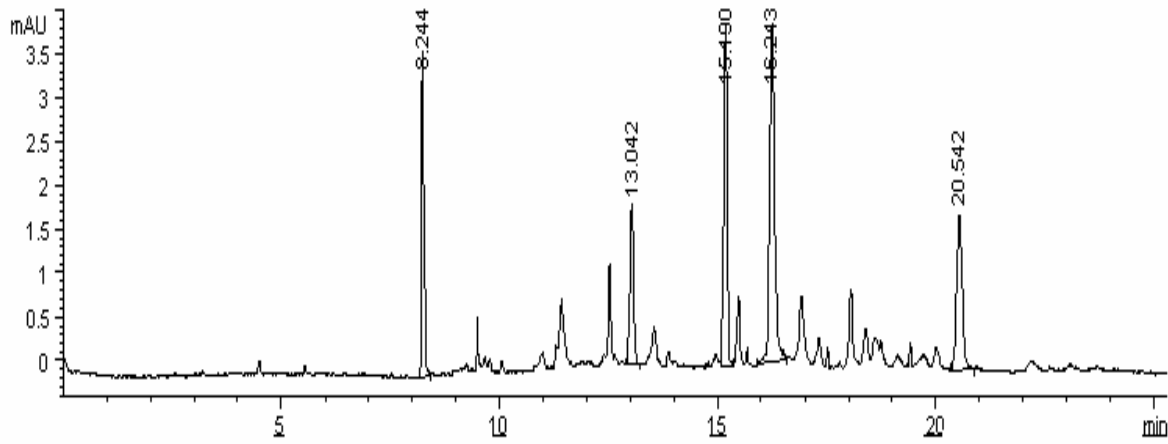


Рис. 2. Электрофореграмма этилацетатной фракции листьев фиалки, где по оси абсцисс – время удерживания, мин.; по оси ординат – высота пиков

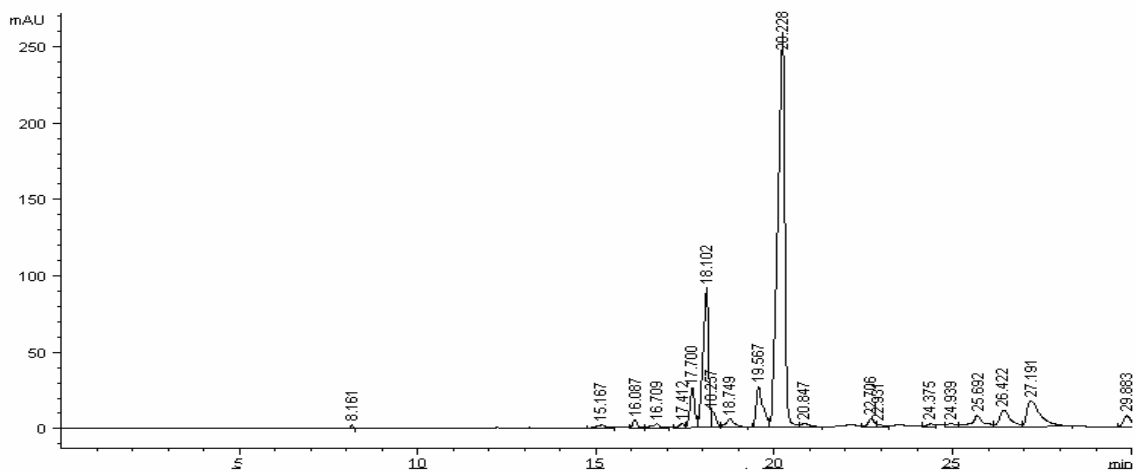


Рис. 3. Электрофореграмма этилацетатной фракции травы зверобоя, где: по оси абсцисс – время удерживания, мин; по оси ординат – высота пиков

Идентификацию рутина в этилацетатных фракциях, полученных из фиалки и зверобоя, проводили путем сопоставления времен удерживания пиков в электрофоре-

граммах. Для этого в найденных условиях капиллярного электрофореза был произведен анализ раствора рабочего стандартного образца рутина (рис.4).

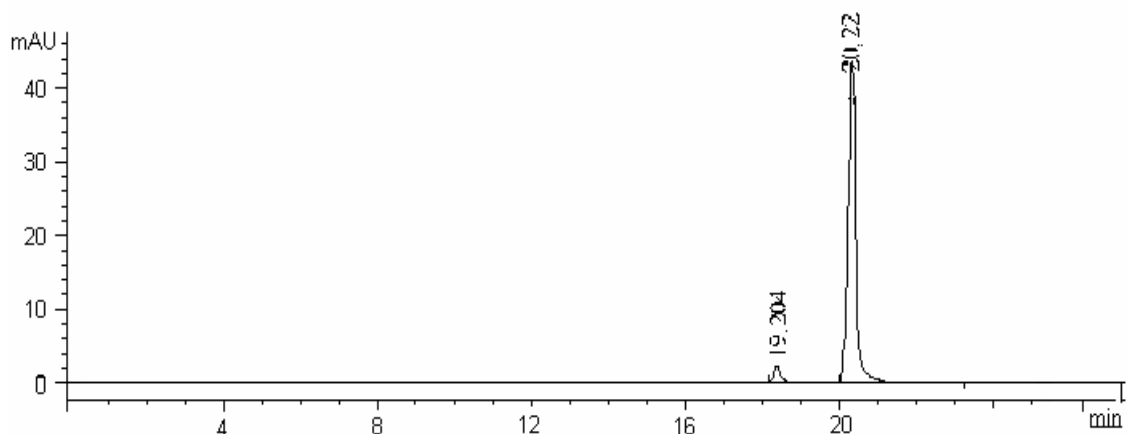


Рис. 4. Электрофореграмма раствора РСО рутина, где: по оси абсцисс – время удерживания, мин.; по оси ординат – высота пиков

Приведенные данные на рисунке 3 показывают, что рутин фиксируется на электрофореграмме со временем удерживания 20,22 мин., которому соответствуют сигналы на электрофореграммах извлечений из листьев фиалки полевой и травы зверобоя шероховатого (рис.1 и 2).

Выбранные условия разработанной методики КЭ позволяют идентифицировать рутин, отделять его от других флавоноидов, а также количественно определять.

При количественном определении рутина в исследуемых образцах содержание его составило 0,04% в траве зверобоя шероховатого и 0,35% в листьях фиалки полевой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучена возможность применения метода КЭ для обнаружения рутина в растительном сырье. Разработанная КЭ методика анализа рутина в листьях фиалки полевой и траве зверобоя шероховатого может быть использована для контроля качества как сырья, так и лекарственных форм, полученных на их основе. Данная методика может быть внедрена в практику контрольно-аналитических лабораторий на фармацевтических производствах.

SUMMARY

V.N. Abdullabekova

IDENTIFICATION OF RUTIN IN MEDICINAL PLANTS BY METHOD OF CAPILLARY ELECTROPHORESIS

The technique of rutin qualitative determination in medicinal plants has been described. A possibility of application of capillary electrophoresis method for rutin identification was studied. The optimal conditions for analysis at the apparatus of HPCE Agilent Technologies with a diode matrix DAD (Germany) were selected: a capillary is a standard one (effective length is 56 cm, internal diameter – 50µm); tension – 20kV; polarity – positive; injection – 150 nL; cassette temperature – 20°C; test volume – 50 nL; detecting – at wave length of 370 nm.

Key words: rutin, qualitative determination, capillary electrophoresis.

ЛИТЕРАТУРА

1. Conde, E. HPLC analysis of flavonoids and phenolic acids and aldehydes in Eucalyptus spp / E. Conde, E. Cadahia, Garcia-Vallejo // Chromatographia. – 1995. – 11/12 (41), P. 657 – 660.
2. Дейнека, В.И. ВЭЖХ в исследовании флавоноидов, определение рутина / В.И. Дейнека, А.М. Григорьев, В.М. Староверов // Хим.-фарм.журн. – 2004. – №9. – С. 23 – 26.
3. Бубенчиков, Р.А. Флавоноиды фиалки трехцветной / Р.А. Бубенчиков, И.Л. Дроздова // Фармация. – 2004. – №2. – С. 11 – 12.
4. Шовковский, А.В. Применение метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для анализа флавоновых глюкуроноидов в наземной части шлемника байкальского / А.В. Шовковский, А.Т. Шейн [и др.]; // Провизор. – 1999. – №10. – С. 22 – 28.
5. Altria, K.D. Capillary Electrophoresis and Pharmaceutical Analysis: a survey of the industrial application and their status in the United Kingdom and United States / K.D. Altria, M. Kersey // LC-GC Int. – 1995. – №8. – P. 201 – 208.
6. Seitz, U. Electrophoresis / U. Seitz, P. J. Oefner, S. Nathakarnkitkool. – 1992. – V.13. – №1–2. – P. 35 – 38.
7. Гаврилин, М.В. Использование ВЭЖХ и капиллярного электрофореза для количественного определения витексина-2-О-рамнозида в траве овса посевного / М.В. Гаврилин, С.П. Сенченко, Р.М. Гусов // Хим.-фарм.журн. – 2007. – №7. – С. 53 – 55.

Адрес для корреспонденции:

100015, Республика Узбекистан,
г. Ташкент, Мирабадский район,
пр. Ойбека, 45
Ташкентский фармацевтический институт,
кафедра фармацевтической химии,
e-mail: avn1960@mail.ru

Абдуллабекова В.Н.

Поступила 12.05.2009 г.
