



І. Л. Дячок, О. Р. Піняжко

Розроблення методу кількісного визначення органічних кислот у комплексному фітополіекстракті

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Ключові слова: ізовалеріанова кислота, органічні кислоти, рослини екстракти, кондуктометрія.

Мета роботи – розроблення чутливої, економічної та експресивної методики кількісного визначення органічних кислот у комплексному фітополіекстракті в перерахунку на ізовалеріанову кислоту із застосуванням цифрових технологій.

Матеріали та методи. Як об'єкт дослідження вибрали модельний багатокомпонентний фітополіекстракт седативної дії, до складу якого входять корені з кореневищами валеріани, шишки хмелю, листя м'яти перцевої, трава меліси лікарської, звіробою, плоди глоду та калини.

Виходячи з хімічного складу рослинних компонентів, основними фармакологічно-активними речовинами, котрі можуть потрапляти до складу комплексного фітополіекстракту є поліфенольні сполуки (флавоноїди), що є характерними для плодів глоду та калини, трави звіробою, листя м'яти перцевої, шишок хмелю; органічні кислоти, у тому числі ізовалеріанова, що міститься у кореневищах із коренями валеріани, листі м'яти перцевої, траві меліси, плодах калини; амінокислоти, що містяться у кореневищах із коренями валеріани.

Для визначення вмісту органічних кислот низької концентрації застосовували інструментальний безіндикаторний метод аналізу, а саме: кондуктометричне титрування, яке полягало в одержанні залежності електропровідності водного розчину фітополіекстракту від складу органічних кислот.

Результати. Сумісне вирішення отриманих аналітичних залежностей, які описують дотичні лінії до кондуктометричної кривої титрування до і після точки еквівалентності, дає можливість визначати об'єм титранту, котрий витратили на титрування, та здійснити процедуру кількісного визначення органічних кислот у цифровому режимі.

Висновки. Запропонована методика дає змогу визначати точку еквівалентності та здійснити кількісне визначення органічних кислот у перерахунку на ізовалеріанову кислоту із застосуванням цифрових технологій, що дає можливість комп'ютеризувати метод в цілому.

Разработка метода количественного определения органических кислот в комплексном фитополіекстракте

И. Л. Дячок, А. Р. Піняжко

Цель работы – разработка чувствительной, экономичной и экспрессивной методики количественного определения органических кислот в комплексном фитополіекстракте в пересчёте на изовалериановую кислоту с применением цифровых технологий.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования был выбран модельный многокомпонентный фитополіекстракт седативного действия, в состав которого входят корни с корневищами валерианы, шишки хмеля, листья мяты перечной, трава Melissa лекарственной, зверобоя, плоды боярышника и калины.

Исходя из химического состава растительных компонентов, главными фармакологически активными веществами, которые могут попадать в состав комплексного фитополіекстракта, являются полифенольные соединения (флавоноиды), характерные для плодов боярышника и калины, травы зверобоя, листьев мяты перечной, шишек хмеля; органические кислоты, в том числе изовалериановая, которая содержится в корневищах с корнями валерианы, листьях мяты перечной, траве Melissa, плодах калины; аминокислоты, содержащиеся в корневищах с корнями валерианы.

Для определения содержания органических кислот низкой концентрации применяли инструментальный безиндикаторный метод анализа, а именно: кондуктометрическое титрование, которое заключалось в получении зависимости электропроводности водного раствора фитополіекстракта от состава органических кислот.

Результаты. Совместное решение полученных аналитических зависимостей, которые описывают касательные линии к кондуктометрической кривой титрования до и после точки эквивалентности, позволяет определять объём титранта, использованного на титрование, и осуществлять процедуру количественного определения органических кислот в цифровом режиме.

Выводы. Предложенная методика даёт возможность определять точку эквивалентности и осуществлять количественное определение органических кислот в пересчёте на изовалериановую кислоту с применением цифровых технологий, что позволяет компьютеризовать метод в целом.

Ключевые слова: изовалериановая кислота, органические кислоты, растений экстракты, кондуктометрия.

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. – 2016. – № 2 (21). – С. 48–51

The development of quantitative determination method of organic acids in complex poly herbal extraction

I. L. Dyachok, O. R. Pinyashko

Aim. The development of sensible, economical and expressive method of quantitative determination of organic acids in complex poly herbal extraction counted on izovaleric acid with the use of digital technologies.

Materials and methods. Model complex poly herbal extraction of sedative action was chosen as a research object. Extraction is composed of these medical plants: Valeriana officinalis L., Crataegus, Melissa officinalis L., Hypericum, Mentha piperita L., Húmulus lúpulus, Viburnum.

Based on chemical composition of plant components, we consider that main pharmacologically active compounds, which can be found in complex poly herbal extraction are: polyphenolic substances (flavonoids), which are contained in Crataegus, Viburnum, Hypericum, Mentha piperita L., Húmulus lúpulus; also organic acids, including izovaleric acid, which are contained in Valeriana officinalis L., Mentha piperita L., Melissa officinalis L., Viburnum; the aminoacid are contained in Valeriana officinalis L.

For the determination of organic acids content in low concentration we applied instrumental method of analysis, namely conductometry titration which consisted in the dependences of water solution conductivity of complex poly herbal extraction on composition of organic acids.

Result. The got analytical dependences, which describes tangent lines to the conductometry curve before and after the point of equivalence, allow to determine the volume of solution expended on titration and carry out procedure of quantitative determination of organic acids in the digital mode.

Conclusion. The proposed method enables to determine the point of equivalence and carry out quantitative determination of organic acids counted on izovaleric acid with the use of digital technologies, that allows to computerize the method on the whole.

Key words: Izovaleric Acid, Organic Acids, Plant Extracts, Conductometry.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2016; № 2 (21): 48–51

Зачікавленість у препаратах, що отримані на основі лікарської рослинної сировини, набуває все більшого значення у практичній медицині, через їхню високу ефективність, низьку токсичність. Цю тенденцію спостерігають не лише у країнах, які традиційно використовують лікарські рослини (Індія, Китай, В'єтнам), а також у країнах із розвинутою хіміко-фармацевтичною промисловістю, котрі мають значні можливості для синтезу лікарських субстанцій (США, країни Європи, Японія).

Дедалі вищі вимоги до якості лікарських засобів, зокрема і до одержаних із рослинної сировини, зумовлюють необхідність розроблення простих у виконанні й досконаліших методик стандартизації фітопрепаратів. Ці завдання можуть бути вирішені при застосуванні принципу основних класів діючих речовин, що входять до складу як готових комплексних фітополіекстрактів, так і до вихідної сировини, тобто алкалоїдів, флавоноїдів, поліцукрів, каротиноїдів, органічних кислот тощо.

Проблема кількісного та якісного визначення діючих речовин є доволі складним завданням щодо вибору аналітичного методу та його інструментального оформлення. Комплексні фітополіекстракти мало вивчені з позиції кількісного та якісного визначення. Відповідно до вимог ДФ України, для аналітично-нормативної документації необхідно розробляти методики, що дають змогу ідентифікувати у складі комплексних засобів основні групи біологічно-активних речовин рослинного походження. Об'єктивно обґрунтованим підходом до вирішення проблеми стандартизації є визначення діючих речовин за найбільш вагомих чи характерних компонентом (на-

приклад, флавоноїдів – за рутином або кверцетином, поліфенолів – хлорогеновою чи кавовою кислотою, дубильних – за таніном, сапонінів – за есцином тощо).

Мета роботи

Розроблення методу кількісного визначення органічних кислот у комплексному фітополіекстракті з лікарської рослинної сировини в перерахунку на ізовалеріанову кислоту із застосуванням цифрових технологій.

Матеріали і методи дослідження

Як об'єкт дослідження вибрали модельний багатоконпонентний фітополіекстракт седативної дії, до складу якого входять корені з кореневищами валеріани, шишки хмелю, листя м'яти перцевої, трава меліси лікарської, звіробою, плоди глоду та калини.

Виходячи з хімічного складу рослинних компонентів, а також літературних даних, основними фармакологічно-активними речовинами, що потенційно можуть потрапляти до складу комплексного фітополіекстракту, є поліфенольні сполуки (флавоноїди), котрі є характерними для плодів глоду та калини, трави звіробою, листя м'яти перцевої, шишок хмелю; органічні кислоти, у тому числі ізовалеріанова, що міститься переважно у кореневищах із коренями валеріани, а також частково у листі м'яти перцевої, траві меліси, плодах калини; амінокислоти, котрі містяться в кореневищах із коренями валеріани; гіперозид і гіперечин із трави звіробою [1,2,4,7].

Для визначення вмісту органічних кислот низької концентрації слід застосовувати інструментальні, безіндикаторні методи аналізу: потенціометрію або кондуктометрію. Потенціометричний метод аналізу є точним і надійним, однак основним його недоліком є тривалість

встановлення точки еквівалентності внаслідок тривалого встановлення постійного значення потенціалу після додавання чергової порції титранту.

Тому у випадку визначення точки еквівалентності під час титрування розчинів органічних кислот низької концентрації більш заощадливим щодо затрати часу є метод кондуктометричного титрування, котрий полягає у залежності електропровідності розчинів електролітів від їхнього складу. Лінійність і діапазон застосування методу за результатами попередніх досліджень перебуває в межах концентрацій органічних кислот від $1,10^{-4}$ до $8,10^{-4}$ моль/л.

Методика кондуктометричного визначення точки еквівалентності при титруванні розчинів органічних кислот, які є в комплексному фітополіекстракті, була такою: відібрану пробу фітополіекстракту, що становила від 5 до 10 мл, вносили у склянку для титрування й розводили дистильованою водою до об'єму 100 мл. Тоді в розведений розчин занурювали електроди кондуктометра. Після цього розчини, що одержали, титрували водним розчином 0,025 М КОН порціями по 1 мл й записували значення питомої електропровідності, за якими отримали кондуктометричну криву титрування (рис. 1).

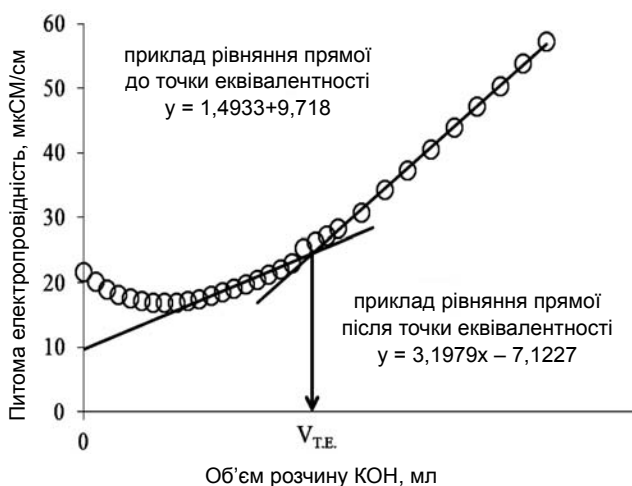


Рис. 1. Кондуктометрична крива титрування розчину комплексного фітополіекстракту розчином КОН.

Результати та їх обговорення

Детальний аналіз кондуктометричної кривої титрування (рис. 1), що отримали, дає можливість виділити дві ділянки – плата. Перша, можна прогнозувати, відповідає вмісту кислоти ізовалеріанової, друга – сумарному вмісту інших органічних кислот, зокрема аскорбінової, яблуневої, лимонної тощо. Прямолинійні ділянки кондуктометричної кривої зміни електропровідності розведеного розчину фітополіекстракту до і після точки еквівалентності дають змогу провести прямі лінії та записати їхні аналітичні рівняння (рис. 1). Сумісне вирішення аналітичних рівнянь стосовно X здійснили за допомогою пакета символічної математики комп'ютерної програми Mathcad із використанням функції *solve*. Результат дав можливість обчислити об'єм титранту ($V_{ТЕ}$), який витратився на титрування сумарного вмісту органічних кислот.

Масову концентрацію органічних кислот у фітополіекстракті обчислили за формулою (1), використовуючи розрахований об'єм титранту ($V_{ТЕ}$), який пішов на титрування до точки еквівалентності:

$$C_t = \frac{C_{\text{КОН}} V_{\text{ТЕ}} \cdot 102}{V_{\text{проби}}} ; (1)$$

де C_t – значення масової концентрації органічних кислот у комплексному фітополіекстракті в перерахунку на ізовалеріанову кислоту, г/л;

$C_{\text{КОН}}$ – концентрація приготованого розчину КОН, моль/л;

$V_{\text{проби}}$ – об'єм відібраної проби фітополіекстракту, мл; 102 – молекулярна маса ізовалеріанової кислоти, г/моль.

Визначені значення концентрацій органічних кислот у комплексному фітополіекстракті в перерахунку на ізовалеріанову кислоту наведені в таблиці 1.

Відповідно до вимог ДФУ здійснено валідацію розробленої аналітичної методики згідно зі стандартизованою процедурою валідації методик кількісного аналізу лікарських засобів [6,9]. Під час процедури, окрім лінійності, визначили інші валідаційні характеристики: прецизійність, правильність, робастність.

Таблиця 1

Метрологічні характеристики визначення вмісту органічних кислот у комплексному фітополіекстракті в перерахунку на ізовалеріанову кислоту

№ п/п.	X, г/л	f	X _{ср}	S ²	S	P	t	ΔX _{ср}	ε	d
1	5,041	0								
2	5,053	1								
3	5,038	2								
4	5,051	3								
5	5,035	4	5,043	0,00005	0,007	0,95	2,78	0,0066	0,13%	

Висновки

1. Розробили нову чутливу, економічну та експресивну методику кількісного визначення органічних кислот у комплексному фітополіекстракті в перерахунку на ізовалеріанову кислоту.

2. Результати свідчать про перспективність досліджень у цьому напрямі, адже саме це дає можливість визначати точку еквівалентності та здійснювати кількісне визначення із застосуванням цифрових технологій, що дає можливість комп'ютеризувати методику в цілому.

3. Запропонована методика може бути використана як

для експрес-контролю перебігу технологічних процесів на фармацевтичних виробництвах, так і для розроблення стандартів підприємств та аналітично-нормативної документації.

Перспективи подальших досліджень. З метою визначення вмісту окремих представників органічних кислот у комплексному фітополіекстракті доцільно визначати вміст ізовалеріанової кислоти методом газової хроматографії та за різницею сумарного вмісту органічних кислот, вмісту ізовалеріанової кислоти кількісно встановлювати концентрацію інших органічних кислот.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Список літератури

1. Идентификация органических кислот методом ТСХ в извлечениях из растительных объектов / О.В. Тринева, И.И. Сафонова, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2013. – Т. 13. – Вып. 6. – С. 896–901.
2. Лекарственные растения. Самая полная энциклопедия / А.Ф. Лебеда, Н.И. Джуренко, А.П. Исаякина, В.Г. Собко. – М.: АСТ-ПРЕСС КНИГА, 2010. – 496 с.
3. Сировинні джерела продуктів біотехнології та їх аналіз: навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл. / В.С. Кисличенко, І.О. Журавель, О.В. Бухаріна та ін.; за ред. В.С. Кисличенко. – Х.: НФаУ: Золоті сторінки, 2009. – 304 с.
4. Практикум з ідентифікації лікарської рослинної сировини: навчальний посібник / В.М. Ковальов, С.М. Марчишин, О.П. Хворост та ін.; за ред. В.М. Ковальова, С.М. Марчишина. – Тернопіль: ТДМУ, 2014. – 264 с.
5. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств / под ред. член-кор. НАН Украины В.П. Георгиевского. – Х.: НТМТ, 2011. – Т. 2. – 474 с.
6. Державна Фармакопея України / Держ. п-во. «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2009. – Додаток 3. – 279 с.
7. Кортиков В.Н. Полная энциклопедия лекарственных растений / В.Н. Кортиков, А.В. Кортиков. – Ростов н/Д.: Проф-пресс, 2002. – 800 с.
8. Кьосев П.А. Лекарственные растения: самый полный справочник / П.А. Кьосев. – М.: Эксмо-Пресс, 2011. – 939 с.
9. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту // Державна Фармакопея України / Держ. п-во. «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: ПІПЕГ, 2001. – Додаток 1. – 2004. – С. 187–221.
10. Kozyra M. Phenolic acids in extracts obtained from the flowering herbs of *Cirsium vulgare* (savi) Ten. growing in Poland / M. Kozyra, K. Glowniak // Acta Societatis Botanicorum Poloniae. – 2013. – Vol. 82. – №4. – P. 325–329.
11. v izvlecheniyakh iz rastitel'nykh ob'ektov [Identification of organic acids by the TLC method in extraction from vegetable objects]. *Sorbcionnye i khromatograficheskie process*, 896–901 [in Russian].
12. Lebeda, A. F., Dzhurenko, N. I., Isajkina, A. P., & Sobko, V. G. (2010). *Lekarstvennye rasteniya. Samaya polnaya e'nciklopediya* [Medicinal plants. The most complete encyclopedia]. Moscow: AST-PRESS KNIGA. [in Russian].
13. Kyslychenko, V. S., Zhuravel, I. O., Bukharina, O. V., et al. (2009). *Syrovynni dzhherela produktiv biotekhnolohii ta yikh analiz* [Raw material sources of biotechnology products and its analysis]. Kharkiv: NFAU: Zoloti storinky. [in Ukrainian].
14. Kovalov, V. M., Marchyshyn, S. M., Khvorost, O. P., et al. (2014). *Praktykum z identyfikatsii likarskoi roslinnoi syrovyny* [Workshop on identification of medicinal plants]. Ternopil: TDMU. [in Ukrainian].
15. Georgievskij, V. P. (Ed). (2011). *Analiticheskaya khimiya v sozdanii, standartizacii i kontrole kachestva lekarstvennykh sredstv* [Analytical chemistry in the creation, standardization and quality control of medicines]. (Vol. 2). Kharkiv: NTMT. [in Ukrainian].
16. Derzh. p-vo «Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr» (2009) *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy* [State Pharmacopoeia of Ukraine], (Dodatok 3). Kharkiv [in Ukrainian].
17. Kortikov, V. N., & Kortikov, A. V. (2002) *Polnaya e'nciklopediya lekarstvennykh rastenij* [Complete Encyclopedia of Medicinal Plants]. Rostov na Donu: Prof-Press. [in Russian].
18. K'osev, P. A. (2011) *Lekarstvennye rasteniya: samyj polnyj spravochnik* [Medicinal plants: the most complete directory]. Moscow: E'ksmo-Press. [in Russian].
19. Derzh. p-vo «Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr» (2001) *Statystychni analiz rezultativ khimichnoho eksperymentu* [Statistical analysis of chemical experiment]. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy*, (Dodatok 1 – 2004). Kharkiv [in Ukrainian].
20. Kozyra, M., & Glowniak, K. (2013) Phenolic acids in extracts obtained from the flowering herbs of *Cirsium vulgare* (savi) Ten. growing in Poland. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 82(4), 325–329. doi: 10.5586/asbp.2013.039.

References

1. Trineeva, O. V., Safonova, I. I., Safonova, E. F., & Slivkin, A. I. (2013). Identifikaciya organicheskikh kislot metodom TSH

Відомості про авторів:

Дячок І. Л., асистент каф. фармакології, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, E-mail: irynalvivnadyachok@gmail.com.

Піняжко О. Р., д-р мед. наук, професор, зав. каф. фармакології, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького.

Сведения об авторах:

Дячок И. Л., ассистент каф. фармакологии, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, E-mail: irynalvivnadyachok@gmail.com.

Пиняжко А. Р., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. фармакологии, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого.

Information about authors:

Dyachok I. L., Assistant, Department of Pharmacology, Lviv National Medical University named after Danylo Halytskyj, E-mail: irynalvivnadyachok@gmail.com.

Pinyashko O. R., MD, PhD, DSci, Professor, Head of the Department of Pharmacology Lviv National Medical University named after Danylo Halytskyj.

Надійшла в редакцію 22.04.2016 р.