О. С. КУХТЕНКО (<https://orcid.org/0000-0003-4908-6717>), канд. фарм. наук, доцент,

Н. Ю. БЕВЗ (<https://orcid.org/0000-0002-7259-8908>), канд. фарм. наук, доцент,

Е. В. ГЛАДУХ (<https://orcid.org/0000-0002-5739-9257>), д-р фарм. наук, проф.,

Г. П. КУХТЕНКО (<https://orcid.org/0000-0002-7914-8053>), канд. фарм. наук, доцент

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

ДОСЛІДЖЕННЯ З РОЗРОБКИ РІДКОГО ЕКСТРАКТУ КАРДІОТОНІЧНОЇ ДІЇ

Ключові слова: екстракт, поліфенольні сполуки, кардіотонічна дія, спектрофотометрія

О. S. KUKHTENKO (<https://orcid.org/0000-0003-4908-6717>),

N. Y. BEVZ (<https://orcid.org/0000-0002-7259-8908>),

Ie. V. GLADUKH (<https://orcid.org/0000-0002-5739-9257>),

H. P. KUKHTENKO (<https://orcid.org/0000-0002-7914-8053>)

National University of Pharmacy, Kharkiv

STUDY ON THE DEVELOPMENT OF LIQUID EXTRACT OF CARDIOTONIC ACTION

Key words: extract, polyphenolic compounds, cardiotonic action, spectrophotometry

Напружений ритм життя сучасної людини, пов'язаний з фізичним і психічним стресом, сьогодні ще більше посилюється економічною кризою. Хронічний стрес супроводжується різними порушеннями фізіологічних функцій організму, насамперед з боку серцево-судинної та нервової систем (вегетосудинною дистонією). Фізіологічними засобами зняття стресу є заняття фізкультурою, повноцінний відпочинок (фізичний і психічний), позитивні емоції. Однак це потребує певних умов або матеріальних витрат. Тому як альтернатива люди все частіше вдаються до лікарських препаратів. Найбільш оптимальним є використання фітопрепаратів кардіотонічної дії, які характеризуються м'якою дією і практичною відсутністю побічних ефектів, що дає можливість їх тривалого застосування. Вони можуть надавати кардіотонічну і седативну дію і здавна застосовуються при патології серцево-судинної системи [1, 2].

На кафедрі промислової фармації Національного фармацевтичного університету нами розробляється складний екстракт кардіотонічної дії, що містить у своєму складі витяги плодів глоду (*Crataegus oxyacanta*), трави собачої кропиви (*Leonurus cardiaca*), трави меліси (*Melissa officinalis*) та шишок хмелю (*Humulus lupulus*) у рівних пропорціях.

Метою роботи стало визначення кількісного виходу біологічно-активних речовин залежно від ступеня виснаження лікарської рослинної сировини екстрагентом.

Згідно з вимогами Державної фармакопеї України плоди, листя та квітки глоду та траву собачої кропиви стандартизують за наявністю речовин флавоноїдної природи [3, 4]. Шишки хмелю та трава меліси окрім ефірних олій містять речовини поліфенольної і флавоноїдної будови [5, 6, 7].

Таким чином, було доцільно вивчити характер абсорбційних спектрів поглинання спиртових розчинів витягів (екстрактів) плодів глоду, трави собачої кропиви, шишок хмелю, трави меліси та сумарного екстракту (рис. 1–5) з метою встановлення попереднього складу біологічно активних речовин у витягах при різному співвідношенні сировина:екстрагент.

Матеріали та методи дослідження*Методика проведення екстракції*

Для одержання складного екстракту використовували таку лікарську рослину сировину: плоди глоду (ПрАТ ФФ Віола, Запоріжжя, серія 81114), траву собачої кропиви (ПрАТ Ліктрави, Житомир, серія 31214), шишки хмелю (ПрАТ Ліктрави,

Житомир, серія 31214) та траву меліси (ПрАТ Ліктрави, Житомир, серія 20215). Кожна лікарська рослинна сировина, яку використовували під час одержання екстракту, була перевірена на відповідність вхідним нормативним документам та подібнена. Сировину подрібнювали до таких показників: шишки хмелю до розміру 2–4 мм, плоди глоду – 3–5 мм, траву кропиви собачої та меліси – 7–10 мм і просіювали крізь плетені сита. Перколяцію робили за допомогою лабораторного перколятора.

Процес екстракції здійснювали в лабораторному перколяторі за такою методикою. У перколятор завантажують 50 г подрібненої сировини. Через патрубок подають екстрагент до «дзеркала» та настоюють в ньому упродовж 24 год. Після настоювання відбувається процес перколяції, суть якого полягає в одночасному зборі рідкого витягу та подачі свіжого екстрагента зі швидкістю 3–4 мл/хв. Зразки витягів збирали послідовно (з кроком DER 1:1), за рахунок чого отримали 10 витягів (табл. 1). Як екстрагент використовували етанол 70%. Процес екстракції здійснювали до одержання сумарного екстракту DER 1:10. Для кожного окремо зібраного зразка рідкого екстракту було визначено сухий залишок за допомогою аналізатора вологи Sartorius MA150C (Germany) [1]. Контролювали процес екстракції шляхом кількісного визначення поліфенольних сполук у екстрактах, одержаних порційно з кроком DER 1:1, методом спектрофотометрії на спектрофотометрі Evolution 60s (фірма Thermo Fisher Scientific, USA).

Методика визначення поліфенольних сполук

Випробовуваний розчин. 1,0 мл препарату (екстракт кропиви собачої, екстракт хмелю та сумарний кардіотонічний екстракт) або 5,0 мл препарату (екстракт глоду, екстракт меліси) вміщують в мірну колбу ємністю 250,0 мл, доводять об'єм 70%-м етанолом до мітки та перемішують.

Розчин порівняння. 0,0398 г кислоти галової вміщують у мірну колбу ємністю 25,0 мл, розчиняють у 10 мл 70%-го етанолу та доводять розчин тим самим розчинником до мітки. 1,0 мл одержаного розчину вміщують в мірну колбу об'ємом 100,0 мл, доводять тим самим розчинником до мітки та перемішують.

Компенсаційний розчин. 70%-й етанол.

Вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину та розчину порівняння на спектрофотометрі за довжини хвилі 278 нм у кюветі з шаром завтовшки 10 мм.

Вміст суми поліфенольних сполук (X , %) у перерахунку на кислоту галову обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 25 \cdot 1 \cdot 100}{A_0 \cdot V \cdot 25 \cdot 100},$$

де A – оптична густина випробовуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину стандартного зразка галової кислоти;

m_0 – маса наважки стандартного зразка галової кислоти, г;

V – об'єм препарату, взятий для аналізу, мл.

Результати дослідження та обговорення

Для визначення оптимальних умов екстрагування було одержано екстракт та витяг з використанням методу перколяції. Кожен з екстрактів/витягів відбирався фракційно з кроком DER 1:1 (drug extract ratio – співвідношення вихідного матеріалу до одержаного екстракту). Для кожного зразка було зроблено кількісне визначення [2]. Для попереднього встановлення складу біологічно активних речовин (БАР) рідких екстрактів вивчали абсорбційні спектри поглинання всіх досліджуваних об'єктів у 70%-му спирті в області від 220 нм (рис. 1–5).

Рис. 1. Абсорбційні спектри поглинання спиртових розчинів витягів плодів глоду

Рис. 2. Абсорбційні спектри поглинання спиртових розчинів витягів шишок хмелю

Рис. 3. Абсорбційні спектри поглинання спиртових розчинів витягів трави меліси

Рис. 4. Абсорбційні спектри поглинання спиртових розчинів витягів трави собачої кропиви

Рис. 5. Абсорбційні спектри поглинання спиртових розчинів сумарного екстракту кардіотонічної дії

Дані рис. 1–5 свідчать про наявність в абсорбційних спектрах поглинання усіх досліджуваних екстрактів максимумів за довжини хвилі 278–282 нм, що може свідчити про наявність речовин поліфенольної будови. Крім того, в абсорбційних спектрах поглинання екстракту хмелю, меліси та складного кардіотонічного екстракту спостерігаються максимуми поглинання в області від 325 нм до 330 нм, що може свідчити про наявність гідроксикоричних кислот. Таким чином, доцільним є визначати вміст біологічно активних речовин в екстрактах у перерахунку на поліфенольні сполуки, використовуючи як стандарт 0,0016% розчин галоїчної кислоти у 70%-му етанолі, УФ-спектр поглинання якого у цьому розчиннику характеризується максимумом за довжини хвилі 278 нм (рис. 6).

Рис. 6. УФ-спектр поглинання 0,0016%-го спиртового розчину галоїтної кислоти

Одержані результати кількісного визначення вмісту поліфенольних сполук в витягах (екстрактах) у перерахунку на галоїтну кислоту наведено в таблиці.

Т а б л и ц я

Результати кількісного визначення вмісту поліфенольних сполук у перерахунку на галоїтну кислоту

Витяги зі співвідношенням сировина/екстрагент	Кількість поліфенольних сполук у витягах, %				
	глоду	собачої кропиви	меліси	хмелю	екстракт
1:1	0,096 ± 0,004	0,272 ± 0,013	0,075 ± 0,003	0,579 ± 0,027	0,479 ± 0,022
1:2	0,191 ± 0,003	0,478 ± 0,010	0,147 ± 0,003	1,108 ± 0,025	0,941 ± 0,020
1:3	0,285 ± 0,003	0,659 ± 0,008	0,215 ± 0,003	1,541 ± 0,026	1,392 ± 0,018
1:4	0,305 ± 0,002	0,686 ± 0,005	0,281 ± 0,002	1,728 ± 0,009	1,541 ± 0,010
1:5	0,319 ± 0,004	0,707 ± 0,004	0,303 ± 0,002	1,789 ± 0,008	1,615 ± 0,008
1:6	0,331 ± 0,003	0,722 ± 0,002	0,321 ± 0,002	1,841 ± 0,006	1,673 ± 0,005
1:7	0,340 ± 0,004	0,735 ± 0,002	0,335 ± 0,001	1,889 ± 0,005	1,722 ± 0,003
1:8	0,348 ± 0,003	0,744 ± 0,002	0,345 ± 0,001	1,934 ± 0,005	1,763 ± 0,003
1:9	0,352 ± 0,001	0,751 ± 0,001	0,353 ± 0,002	1,969 ± 0,004	1,795 ± 0,002
1:10	0,354 ± 0,001	0,754 ± 0,001	0,359 ± 0,001	2,011 ± 0,003	1,813 ± 0,001

П р и м і т к а. $n = 6$, $p = 0,95$.

Згідно з отриманими даними, можна стверджувати про поступове зростання кількості поліфенольних сполук у витягах (екстрактах) до співвідношення сировина:екстрагент 1:10 (DER 1:10).

Максимальний вихід поліфенольних сполук спостерігається із шишок хмелю (*Humulus lupulus*). Найменша кількість поліфенольних сполук вилучається із трави меліси (*Melissa officinalis*) та плодів глоду (*Crataegus oxyacanta*). Ця тенденція зберігається при всіх варіантах співвідношення сировина/екстрагент.

В и с н о в о к

Згідно з проведеними фізико-хімічними дослідженнями, було підтверджено наявність речовин поліфенольної природи в складі витягів досліджуваної лікарської рослинної сировини та сумарного екстракту. За результатами наявності поліфенольних сполук (у перерахунку на галоїтну кислоту) визначено, що максимальна кількість поліфенольних сполук вилучається із такої лікарської рослинної сировини – шишок хмелю (*Humulus lupulus*). Результати корелюються із раніше проведеними дослідженнями [1] по визначенню кратності екстракції за сухим залишком в екстракті та витягах індивідуальної рослинної сировини.

Список використаної літератури

1. Кухтенко О. С., Гладух Є. В. Визначення кратності екстракції рослинної сировини кардіотонічної дії / Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології: зб. наук. праць. м. Харків, 18 листопада 2016 р. – Харків: Вид-во НФаУ. – 2016. – 348 – 350 с.
2. Слободянюк М. М., Байгуш Ю. В. Маркетинговий аналіз ринку серцево-судинних препаратів в Україні // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2016. – № 1. – С. 72–79. <https://doi.org/10.24959/uekj.16.7>
3. Державна фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 2-е вид., 1 том – Харків, 2015. – 1126 с.
4. Настойки, экстракты, эликсиры и их стандартизация / Под ред. проф. В. Л. Багировой, проф. В. А. Северцева. – СПб.: СпецЛит, 2011. – 223 с.
5. Чигиринець О. Е., Гальченко Г. Ю., Воробйова В. І. та ін. Протикорозійні властивості шишок хмелю // Наукові вісті НТУУ «КПІ». – 2012. – № 3. – С. 137–148.
6. Bernatoniene J., Kopustinskiene D., Jakstas V. et al. The Effect of Leonurus cardiaca Herb Extract and Some of its Flavonoids on Mitochondrial Oxidative Phosphorylation in the Heart // Planta Medica. – 2014. – V. 80, Issue 07. – P. 525–532. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1368426>
7. Горошко О. А., Пахомов В. П., Самылина И. А., Никулина И. Н. Использование хмеля в фитотерапии // Практическая фитотерапия. – 2010. – № 1. – С. 39–44.

References

1. Kukhtenko O. S., Hladukh Ie. V. Vyznachennia kratnosti ekstraktsii roslynnoi syrovyn kardiotonichnoi dii / Suchasni dosiahnennia farmatsevtichnoi tekhnolohii ta biotekhnolohii: zb. nauk. prats. m. Kharkiv, 18 lystopada 2016 r. – Kharkiv: Vyd-vo NFaU. – 2016. – S. 348–350.
2. Slobodianiuk M. M., Baihush Yu. V. Marketynhovyi analiz rynku sertsevo-sudynnykh preparativ v Ukraini // Upravlinnia, ekonomika ta zabezpechennia yakosti v farmatsii. – 2016. – № 1. – S. 72–79. <https://doi.org/10.24959/uekj.16.7>
3. Derzhavna farmakopeia Ukrainy / Derzh. p-vo «Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr». 2-e vyd., 1 tom – Kharkiv, 2015. – 1126 s.
4. Nastoiky, ekstrakty, elyksyry i ykh standartyzatsiya / Pod red. prof. V. L. Bahyrovoi, prof. V. A. Severtseva. – SPb.: SpetsLyt, 2011. – 223s.
5. Chyhyrynets O. E., Halchenko H. Yu., Vorobiova V. I. ta in. Protykoroziini vlastyvyosti shyshok khmeliu // Naukovi visti NTUU «KPI». – 2012. – № 3. – S. 137–148.
6. Bernatoniene J., Kopustinskiene D., Jakstas V. et al. The effect of Leonurus cardiac herb extract and some of its flavonoids on mitochondrial oxidative phosphorylation in the heart // Planta Medica. – 2014. – V. 80, Issue 07. – P. 525–532. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1368426>
7. Horoshko O. A., Pakhomov V. P., Samylina Y. A., Nykulyna Y. N. Ispolzovanye khmelia v fytoterapyi // Praktycheskaia fytoterapiya. – 2010. – № 1. – S. 39–44.

Надійшла до редакції 10 березня 2019 р.

Прийнято до друку 8 травня 2019 р.

О. С. Кухтенко (<https://orcid.org/0000-0003-4908-6717>),

Н. Ю. Бевз (<https://orcid.org/0000-0002-7259-8908>),

Є. В. Гладух (<https://orcid.org/0000-0002-5739-9257>),

Г. П. Кухтенко (<https://orcid.org/0000-0002-7914-8053>)

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

ДОСЛІДЖЕННЯ З РОЗРОБКИ РІДКОГО ЕКСТРАКТУ КАРДІОТОНІЧНОЇ ДІЇ

Ключові слова: екстракт, поліфенольні сполуки, кардіотонічна дія, спектрофотометрія

АНОТАЦІЯ

На кафедрі промислової фармації Національного фармацевтичного університету нами розробляється складний екстракт кардіотонічної дії, що містить у своєму складі витяги такої лікарської рослинної сировини, що була взята у рівних пропорціях: плодів глоду (*Crataegus oxyacanta*), трави собачої кропиви (*Leonurus cardiaca*), трави меліси (*Melissa officinalis*) та шишок хмелю (*Humulus lupulus*).

Метою роботи стало визначення кількісного виходу біологічно-активних речовин залежно від ступеня виснаження лікарської рослинної сировини екстрагентом.

Кожна лікарська рослинна сировина, яку використовували під час одержання екстракту, була перевірена на відповідність вхідним нормативним документам та подрібнена. Перколяцію здійснювали за допомогою лабораторного перколятора.

Як екстрагент використовували етанол 70%. Процес екстракції виконували до одержання сумарного екстракту DER 1:10. Для кожного окремо зібраного зразка рідкого екстракту було визначено сухий залишок за допомогою аналізатора вологості Sartorius MA150C (Germany). Контролювали процес екстра-

кції шляхом кількісного визначення поліфенольних сполук у екстрактах, одержаних порційно з кроком DER 1:1 методом спектрофотометрії на спектрофотометрі Evolution 60s (фірма Thermo Fisher Scientific, USA).

Згідно з отриманими даними можна стверджувати про поступове зростання кількості поліфенольних сполук у витягах (екстрактах) до співвідношення сировина:екстрагент 1:10 (DER 1:10).

Максимальний вихід поліфенольних сполук спостерігається із шишок хмелю (*Humulus lupulus*). Найменша кількість поліфенольних сполук вилучається із трави меліси (*Melissa officinalis*) та плодів глоду (*Crataegus oxyacanta*). Ця тенденція зберігається при всіх варіантах співвідношення сировина/екстрагент.

За даними проведених фізико-хімічних досліджень було підтверджено наявність речовин поліфенольної природи в складі витягів досліджуваної лікарської рослинної сировини та сумарного екстракту. За результатами наявності поліфенольних сполук (у перерахунку на галову кислоту) визначено, що максимальна кількість поліфенольних сполук вилучається із такої лікарської рослинної сировини – шишок хмелю (*Humulus lupulus*). Результати корелюють із раніше проведеними дослідженнями по визначенню кратності екстракції за сухим залишком в екстракті та витягах індивідуальної рослинної сировини.

А. С. Кухтенко (<https://orcid.org/0000-0003-4908-6717>),

Н. Ю. Бевз (<https://orcid.org/0000-0002-7259-8908>),

Е. В. Гладух (<https://orcid.org/0000-0002-5739-9257>),

Г. П. Кухтенко (<https://orcid.org/0000-0002-7914-8053>)

Національний фармацевтичний університет, г. Харків

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ ЖИДКОГО ЭКСТРАКТА КАРДИОТОНИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

Ключевые слова: экстракт, полифенольные соединения, кардиотоническое действие,

спектрофотометрия

АННОТАЦИЯ

На кафедре промышленной фармации Национального фармацевтического университета нами разрабатывается сложный экстракт кардиотонического действия, содержащий в своем составе экстракты лекарственного растительного сырья, которые были взяты в равных пропорциях: плодов боярышника (*Crataegus oxyacanta*), травы пустырника (*Leonurus cardiaca*), травы мелиссы (*Melissa officinalis*) и шишек хмеля (*Humulus lupulus*).

Целью работы стало определение количественного выхода биологически активных веществ в зависимости от степени истощения лекарственного растительного сырья экстрагентом.

Каждое лекарственное растительное сырье, используемое при получении экстракта, было проверено на соответствие входным нормативным документам и измельчено. Перколяцию осуществляли с помощью лабораторного перколятора.

Как экстрагент использовали этанол 70%. Процесс экстракции проводили до получения суммарного экстракта DER 1:10. Для каждого отдельно собранного образца жидкого экстракта был определен сухой остаток с помощью анализатора влаги Sartorius MA150C (Germany). Контролировали процесс экстракции путем количественного определения полифенольных соединений в экстрактах, полученных порционно с шагом DER 1:1 методом спектрофотометрии на спектрофотометре Evolution 60s (фирма Thermo Fisher Scientific, USA).

Согласно полученным данным можно утверждать о росте количества полифенольных соединений в выдержках (экстрактах) до соотношения сырье: экстрагент 1:10 (DER 1: 10).

Максимальный выход полифенольных соединений наблюдается из шишек хмеля (*Humulus lupulus*). Наименьшее количество полифенольных соединений извлекается из травы мелиссы (*Melissa officinalis*) и плодов боярышника (*Crataegus oxyacanta*). Эта тенденция сохраняется при всех вариантах соотношения сырье/экстрагент.

По данным проведенных физико-химических исследований было подтверждено наличие веществ полифенольной природы в составе жидких извлечений исследуемого лекарственного растительного сырья и суммарного экстракта. По результатам исследования определено, что максимальное количество полифенольных соединений изымается из такого лекарственного растительного сырья – шишек хмеля (*Humulus lupulus*). Результаты коррелируют с ранее проведенными исследованиями по определению кратности экстракции по сухому остатку в экстракте и извлечениях индивидуального растительного сырья.

O. S. Kukhtenko (<https://orcid.org/0000-0003-4908-6717>),
N. Y. Bevz (<https://orcid.org/0000-0002-7259-8908>),
Ie. V. Gladukh (<https://orcid.org/0000-0002-5739-9257>),
H. P. Kukhtenko (<https://orcid.org/0000-0002-7914-8053>)

National University of Pharmacy, Kharkiv

STUDY ON THE DEVELOPMENT OF LIQUID EXTRACT OF CARDIOTONIC ACTION

Key words: extract, polyphenolic compounds, cardiotonic action, spectrophotometry

ABSTRACT

At the Department of Industrial Pharmacy of the National University of Pharmacy, a complex cardiotonic action extract containing extracts of *Crataegus oxyacanta* fruits, *Leonurus cardiaca* herb, *Melissa officinalis* herb and *Humulus lupulus* seedballs in equals proportions is being developed.

The purpose of work was to determine the quantitative yield of biologically active substances, depending on the degree of depletion of medicinal plant raw materials extractant.

Each medicinal plant raw material used in obtaining the extract was tested for compliance with the incoming normative documents and crushed. Percolation was performed using a laboratory percolator.

As an extractant, 70% ethyl alcohol was used. The extraction process was carried out till obtaining a total extract of DER 1:10. For each separately collected sample of the liquid extract, the dry residue was determined using the Sartorius MA150C moisture analyzer (Germany). The extraction process was monitored by quantifying the polyphenolic compounds in extracts obtained in portions with DER step 1: 1 spectrophotometrically on the Evolution 60s spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, USA).

The maximum yield of polyphenolic compounds is observed from *Humulus lupulus*. The smallest amount of polyphenolic compounds is extracted from the grass of *Melissa officinalis* and *Crataegus oxyacanta*. This trend is maintained for all variants of the ratio of raw materials/extractant.

According to the physical and chemical research, the presence of polyphenolic nature substances in the composition of the extractions of the investigated medicinal plant material and the total extract has been confirmed. According to the results of the study, it was determined that the maximum amount of polyphenolic compounds is removed from the following medicinal plant material – *Humulus lupulus*. The results correlate with earlier studies to determine the multiplicity of extraction by dry residue in the extract and extractions of individual plant materials.

Електронна адреса для листування з авторами: kukhtenk@gmail.com

(Кухтенко О. С.)