



УДК 615.32

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ САПОНИНОВ В ТРАВЕ ГРЫЖНИКА ГОЛОГО – *Herniaria glabra* L.

ЗЛЬ МАБРУКИ ХАКИМ**И.Е. КАУХОВА****В.В. СОРОКИН****С.А. МИНИНА**

Санкт-Петербургская
государственная
химико-фармацевтическая
академия

e-mail: hakimelmaabrouki@yahoo.fr

В траве грыжника голого *Herniaria glabra* L. обнаружен комплекс биологически активных веществ (БАВ) и, в первую очередь, сапонины, которые, как известно, обладают широким спектром терапевтического действия [1]. Оценку качества травы грыжника голого предложено проводить по содержанию суммы сапонинов. Разработана методика количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов методом УФ-спектрофотометрии в пересчете на эсцин. Изучены условия извлечения сапонинов.

Для расчета суммы сапонинов в пересчете измеряли оптическую плотность окрашенного продукта, образующегося при взаимодействии с кислотой серной концентрированной при длине волны 325 нм. Относительная ошибка предложенной методики 2,20%. Содержание суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на эсцин в траве грыжника голого составляет $16,52\% \pm 0,60\%$.

Ключевые слова: сапонины, количественное определение, спектрофотометрия, трава грыжника голого.

Введение. Грыжник гладкий, или грыжник голый, *Herniaria glabra* L.— однолетнее травянистое растение семейства гвоздичные – *Caryophyllaceae*. В научной медицине России грыжник голый в настоящее время не применяется по причине отсутствия нормативной документации на сырьё, хотя в народной медицине с успехом используется при почечнокаменной болезни.

В результате фармакологических исследований установлено, что применение препаратов грыжника вызывает разрушение мочекаменных отложений и выведение их с мочой.

Для введения растения в список официальных в первую очередь необходима разработка объективных методик количественной оценки биологически активных веществ. Экспериментально установлено, что основными действующими веществами травы грыжника голого являются сапонины.

Целью настоящего исследования являлась разработка методики количественного определения суммы сапонинов в траве грыжника голого с использованием УФ-спектрофотометрии.

Объекты исследования. Объектом исследования являлась трава грыжника голого, приобретенная в фирме Фитокаса, г.Касабланка, Марокко.

Исследования проводили с тремя образцами грыжника голого травы.

В основе разработанного нами количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в траве грыжника голого в пересчете на эсцин методом прямой спектрофотометрии лежит способность сапонинов давать окрашивание при взаимодействии с кислотной серной, концентрированной [2, 3, 4]. Спектр поглощения продуктов реакции имеет максимум при длине волны 325 нм.

Результаты и обсуждение. Для установления полноты извлечения сапонинов из травы грыжника голого изучали влияние степени измельченности сырья, концентрации экстрагента, соотношения сырья и экстрагента, температуры экстракции, оптимального времени экстракции и времени, необходимого для созревания окраски продуктов взаимодействия сапонинов с серной кислотой, концентрированной.

При выборе степени измельченности травы грыжника голого исследовали сырьё с размером частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 0,2; 0,5; 1,2 и 3 мм (рис. 1).

Установлено, что максимально извлечение сапонинов из травы грыжника достигается при измельчении сырья до размера частиц 0,5 мм.

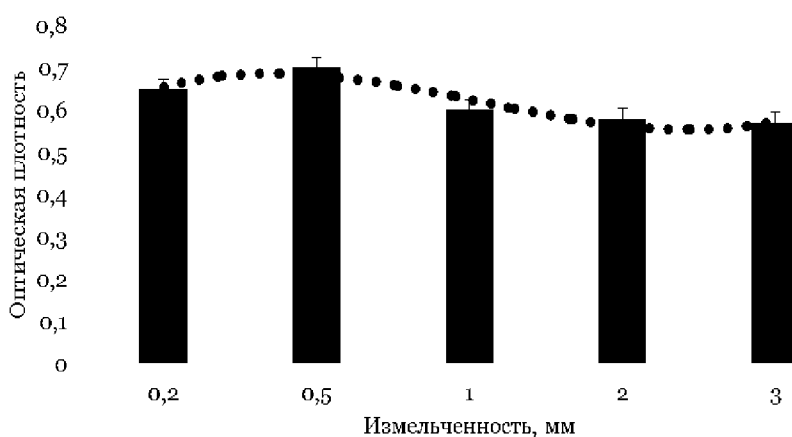


Рис. 1. Влияние степени измельченности сырья на извлечение сапонинов из травы грыжника голого

На основании проведенных исследований установлено, что лучшим экстрагентом для полного извлечения сапонинов из грыжника травы является спирт этиловый 70% при соотношении сырья и экстрагента 1:30 (табл. 1).

Таблица 1

Влияние природы экстрагента и соотношения сырья: экстрагентна извлечение сапонинов из травы грыжника голого

№	Экстрагент	Содержание суммы сапонинов, %	Сырьё: экстрагент (70% спирт)
1	Вода	12,36±0,65	1:30
2	40% этанол	14,58±0,59	1:30
3	70% этанол	15,70±0,59	1:10
		15,95±0,64	1:20
		16,52±0,60	1:30
		16,55 ±0,68	1:40
4	90% этанол	12,57±0,69	1:30
5	96% этанол	09,78±0,51	1:30

Проведено изучение влияния времени экстрагирования на извлечение сапонинов из травы грыжника голого. Оптимальное время экстракции, согласно экспериментальным данным, представленным на рис. 2, составило 90 минут.



Рис. 2. Влияние времени экстракции на извлечение сапонинов из травы грыжника голого

При исследовании влияния температуры на процесс экстракции БАВ установлено, что максимально извлечение сапонинов из травы грыжника достигается при экстракции кипящей водой.

Время, необходимое для образования устойчивой окраски продуктов взаимодействия сапонинов с кислотой серной концентрированной, составило 30 минут.

Методика количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в траве грыжника голого в пересчете на эсцин.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размер частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 0,5 мм. Около 1,0 г сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 150 мл, прибавляют 30 мл 70% спирта, колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане в течение 90 минут.

Затем колбу охлаждают до комнатной температуры под струей холодной воды и фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100мл, фильтр промывают 70% спиртом и доводят объем фильтрата спиртом до метки (раствор А).

Для определения сапонинов методом спектрофотометрии необходимо провести очистку полученного извлечения от сопутствующих и балластных веществ, поглощающих в области, близкой к аналитической длине волны (325 нм). Для очистки извлечения применяли метод жидкость-жидкостной экстракции с различными органическими растворителями. Аликвоту очищенного раствора объемом 1 мл доводили до метки в колбе на 100 мл 70% спиртом этиловым (раствор Б).

К 1мл раствора Б в бюксе прибавляли 4 мл кислоты серной концентрированной, термостатировали 30 мин при 70°С, затем бюкс охлаждали 2–3 мин под струей холодной воды.

Определяли оптическую плотность на спектрофотометре *Uv-mini1240* в области 250–450 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствор сравнения – концентрированная серная кислота, параллельно определяли оптическую плотность стандартного раствора эсцина в аналогичных условиях. Полученные спектры продуктов реакции суммы тритерпеновых сапонинов (1) и стандарта эсцина (2) представлены на рис. 3.

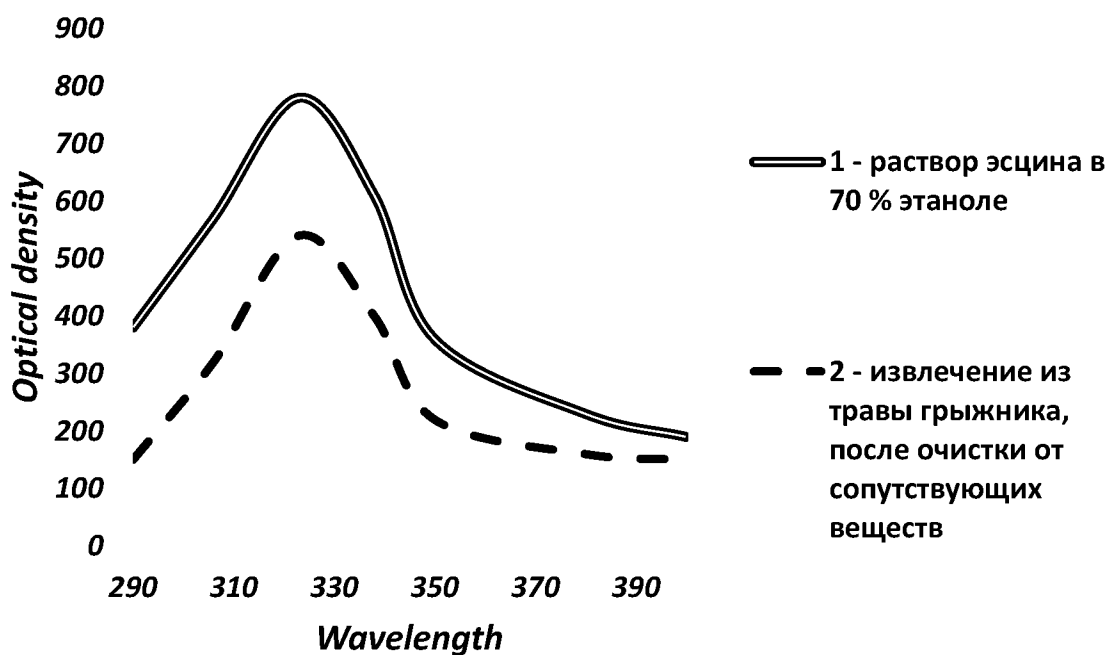


Рис.3. Спектр поглощения продуктов реакции сапонинов с кислотой серной концентрированной

Приготовление стандартного раствора эсцина. Около 0,0059 г (точная навеска) государственного стандартного образца (ГСО) эсцина переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 70% спирте этиловом и доводят объем раствора до метки тем же растворителем. 1 мл приготовленного раствора помещают в бюкс, прибавляют 4 мл кислоты серной концентрированной и термостатируют.

Содержание суммы сапонинов в пересчете на эсцин (X) определяют по формуле (1):

$$X = \frac{D_x \cdot m_o \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{D_o \cdot m_x \cdot 100 \cdot (100 - W)}, (1)$$

где D_o – оптическая плотность исследуемого раствора; D_x – оптическая плотность раствора ГСО эсцина; m_o – масса ГСО эсцина, г; m_x – масса сырья, г; W – потеря в массе сырья при высушивании (5%).



Результаты статистической обработки данных параллельных измерений показали, что содержание сапонинов в траве грыжника голого в пересчете на эсцин составило $16,52\pm 0,60\%$, ошибка определения при доверительной вероятности 95% составила 2,20% (табл. 2).

Таблица 2

**Результаты количественного определения суммы сапонинов
в траве грыжника голого в пересчете на эсцин**

X(%)	$\bar{x}-x_i$	$(\bar{x}-x_i)^2$	Метрологические характеристики
16,05	0.47	0.2209	$\bar{x}=16,52\%$ $\sum(\bar{x}-x)^2=0.6005$ $S_x=\sqrt{\frac{\sum(\bar{x}-x)^2}{n(n-1)}}=0.141480$ $\Delta x=S_x \cdot t_x=0.363745$ $\varepsilon=2,20\%$
16,21	0.31	0.0961	
16,45	0.07	0.0049	
16,67	-0.15	0.0225	
16,83	-0.31	0.0961	
16,92	-0.40	0.16	
X=16,52		$\Sigma=0.6005$	

Выводы:

1. Разработаны условия извлечения сапонинов из травы грыжника голого для их количественного определения: размер частиц сырья – 0,5 мм, экстрагент – 70% спирт этиловый, метод экстрагирования – мацерация на водяной бане при температуре 100° С с обратным холодильником, время экстракции – 90 минут.

2. Разработана методика количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в сырье грыжника голого в пересчете на эсцин. Установлено, что содержание тритерпеновых сапонинов в траве грыжника голого составляет $16,52\pm 0,60\%$. Относительная ошибка определения при доверительной вероятности 95% находится в пределах 2,20%.

Литература

1. Акулышина, Е.В. Результаты фармакогностического изучения травы грыжника волосистого, г.седоватого, г.многобрачного / Е.В. Акулышина., В.Н. Дармограй. // Рос. Медико-биол. вестник имени И.П.Павлова. -2008. – №2. – С. 55-62.
2. Аналитическая химия. Проблемы и подходы / Под редакцией Р. Кельнера и др. В 2-х томах. – М.: Мир, 2004. – С. 467-470.
3. Сапонины и их определение в корневищах аралии маньчжурской в условиях Белгородской области / Д.И. Писарев [и др.] // Химия растительного сырья.-2009. – №4. – С.197-198.

**THE DEVELOPMENT TECHNIQUE OF QUANTITATIVE DEFINITION
SAPONINS IN THE GRASS HERNIARIA GLABRA L.**

**EL MABROUKI HAKIM
I.YE. KAUKOVA
V.V. SOROKIN
S.A. MININA**

*St. Petersburg State Chemical-
Pharmaceutical Academy*

*e-mail:
hakimelmabrouki@yahoo.fr*

A complex of biologically active substances (BAS) was found in herb of *Herniaria glabra* L. Saponins are the substances of top priority, which has a wide variety of therapeutic activity.

Herniaria glabra herb quality assessment was offered to perform on a sum of saponins. A method of the sum of triterpenic saponins quantitative analysis by UV spectrophotometry in terms of escin was developed. The conditions of the saponins extraction was studied.

The optical density of coloured product obtained by interaction of saponins and concentrated sulfuric acid at 325nm was measured to account calculate of the sum of saponins. Relative error of the method is 2,20%. The content of the sum of triterpenic saponins in terms of escin in *Herniaria glabra* herb is $16,52\pm 0,60\%$.

Key words: saponins, quantitative analysis, spectrophotometry, *Herniaria glabra* herb.