

ВМІСТ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ТА ГІПЕРФОРИНУ У ТРАВІ ЗВІРОБОЮ

Деркач Т.М., Хоменко В.Г., Шишова С.О., Піддяча Л.А.

Київський національний університет технологій та дизайну, кафедра промислової фармації, кафедра електрохімічної енергетики та хімії, м. Київ, Україна, e-mail: lyuda.poddyachaya@gmail.com

Статтю присвячено порівняльному аналізу складу трави звіробою звичайного від різних українських виробників. Визначено оптимальні методи для дослідження вмісту речовини-маркера гіперфорину та важких металів. Для кількісного визначення гіперфорину в траві звіробою звичайного запропоновано спектрофотометричну методику при довжині хвилі 272 ± 2 нм, для якої проведено валідацію та підтверджено специфічність, лінійність, правильність, збіжність та робастність. Встановлено, що ступінь забруднення важкими металами дослідженої трави звіробою загалом можна оцінити як низький та безпечний, однак вміст Кобальту є завищеним. Запропоновано шляхи вдосконалення системи контролю якості лікарської рослинної сировини.

Ключові слова: лікарська рослинна сировина, трава звіробою, важкі метали, гіперфорин, спектрофотометричний метод, атомно-абсорбційний метод.

CONTENTS OF HEAVY METALS AND HYPERFORIN IN HERB ST. JOHN'S WORT

Derkach T.M., Khomenko V.G., Shishova S.O., Piddyacha L.A.

Kyiv National University of Technologies and Design, Department of Industrial Pharmacy, Department of Electrochemical Energetics and Chemistry, Kyiv, Ukraine, e-mail: lyuda.poddyachaya@gmail.com

The article is devoted to the comparative analysis of grass composition of St. John's wort from different Ukrainian producers. Optimal methods of investigation for the detection and quantitative determination of the content of the marker substance of hyperforin and heavy metals have been determined. A spectrophotometric technique was developed to quantify the hyperforin in the grass of St. John's wort at a wavelength of 272 ± 2 nm, for which specificity, linearity, regularity, convergence and robustness were confirmed. It has been established that the degree of contamination by heavy metals of the studied grass with St. John's wort can be generally regarded as low and safe, but the content of Cobalt is too high. The ways of improvement of the system of quality control of medicinal plant raw materials are suggested.

Keywords: medicinal plant raw material, St. John's wort, heavy metals, hyperforin, spectrophotometric method, atomic absorption method.

Питання вдосконалення системи контролю якості лікарських засобів (ЛЗ), що виробляють з лікарської рослинної сировини (ЛРС), є актуальними на даний час. Важкі метали, які забруднюють природне середовище, акумулюються в тканинах рослин. Ці токсичні елементи можуть негативно впливати на процеси метаболізму в рослинах, що призводить до зменшення врожаю та до забруднення продуктів, що з них виробляються [1-4]. Існує небезпека підробки лікарських рослинних зборів і біологічно активних харчових добавок (БАД), оскільки нормативна документація на лікарські рослинні збори та БАД не повною мірою відповідає вимогам визначення доброякісності. Контроль якості часто обмежується лише оцінкою безпеки сировини за нормативною документацією для харчових продуктів [1, 2]. Тому розробка підходів і методів, що дозволяють надійно ідентифікувати конкретні види лікарської рослинної сировини в складі лікарських рослинних зборів і БАД, а також вдосконалення системи контролю якості такої сировини представляється актуальним завданням.

Мета дослідження: здійснення порівняльного аналізу вмісту важких металів у траві звіробою звичайного різних виробників, а також розробка методики ідентифікації цієї ЛРС за вмістом речовини-маркеру гіперфорину.

Матеріали і методи дослідження.

Об'єкт досліджень – трава звіробою різних виробників України:

1. Препарат «Звіробою трава» (Hyperici Herba) виробництва ЗАТ «Ліктрави» (Житомир) 2019 року (в подальшому – Виробник 1), термін придатності 3 роки. Упаковка: По 75 г у пачках із внутрішнім пакетом, по 1,5 г у фільтр-пакетах № 20.

2. Препарат «Звіробою трава» (Hyperici Herba) виробництва ПрАТ Фармацевтична фабрика «Віола» (Запоріжжя), 2019 року (в подальшому –

Виробник 2), термін придатності 3 роки. Упаковка: По 50 г у пачках із внутрішнім пакетом, по 1,5 г у фільтр-пакетах № 20.

3. Препарат «Звіробойо трава» (Herba Hypericis) виробництва ТОВ «Тернофарм» 2019 року (в подальшому – Виробник 3), термін придатності 3 роки. Упаковка: По 75 г у пачках із внутрішнім пакетом.

Результати дослідження.

Вміст важких металів у трави звіробойо визначали в спиртових екстрактах атомно-абсорбційним методом у полум'ї ацетилен-повітря [5-8]. Були використані зразки трави чотирьох українських виробників.

Аналіз отриманих даних щодо вмісту Хрому в траві усіх виробників показав у трьох зразках практично однакові результати. Лише у четвертому зразку концентрація елементу виявилася майже у двічі більшою (рис. 1). Вміст Кадмію в усіх зразках трави практично не відрізнявся (рис. 2).

Граничні концентрації елементів у ЛРС Хрому та Кадмію коливаються у межах 0,3-1 мг/кг. Отримані результати у перерахунку на наважку показують значення нижче граничної концентрації [4].

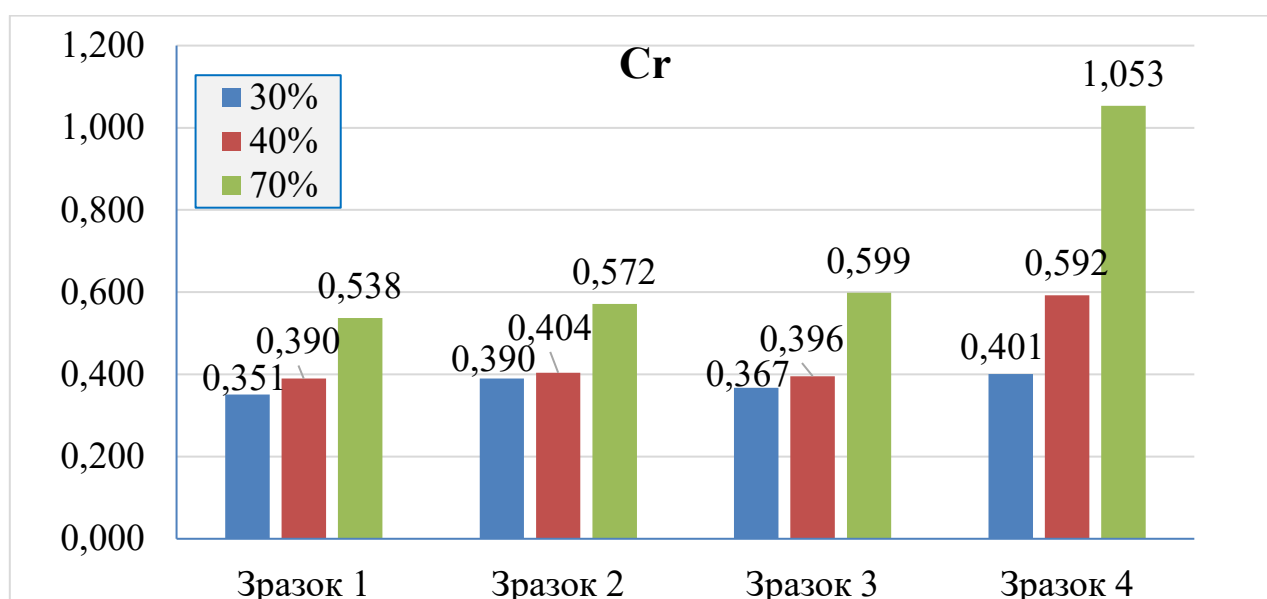


Рисунок 1. Вміст хрому в екстрактах звіробойо (мг/л).

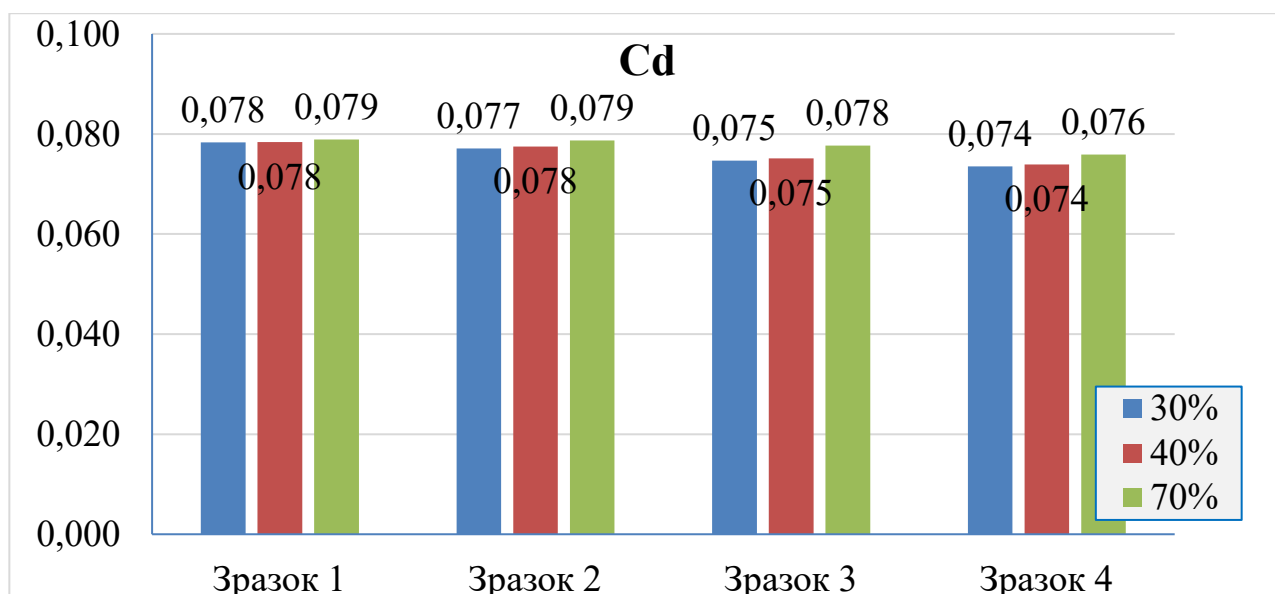


Рисунок 2. Вміст кадмію в екстрактах звіробою (мг/л).

Вміст Мангану в траві у зразках виробників 2 та 3 є майже однаковим. У зразках виробників 1 та 4 вміст цього елемента також співпадає, однак є майже вдвічі більшим. Гранично допустимі дози Мангану за даними різних організацій коливаються у межах 2-5 мг/кг [4]. Отримані концентрації елемента не є вищими за ці значення (рис. 3).

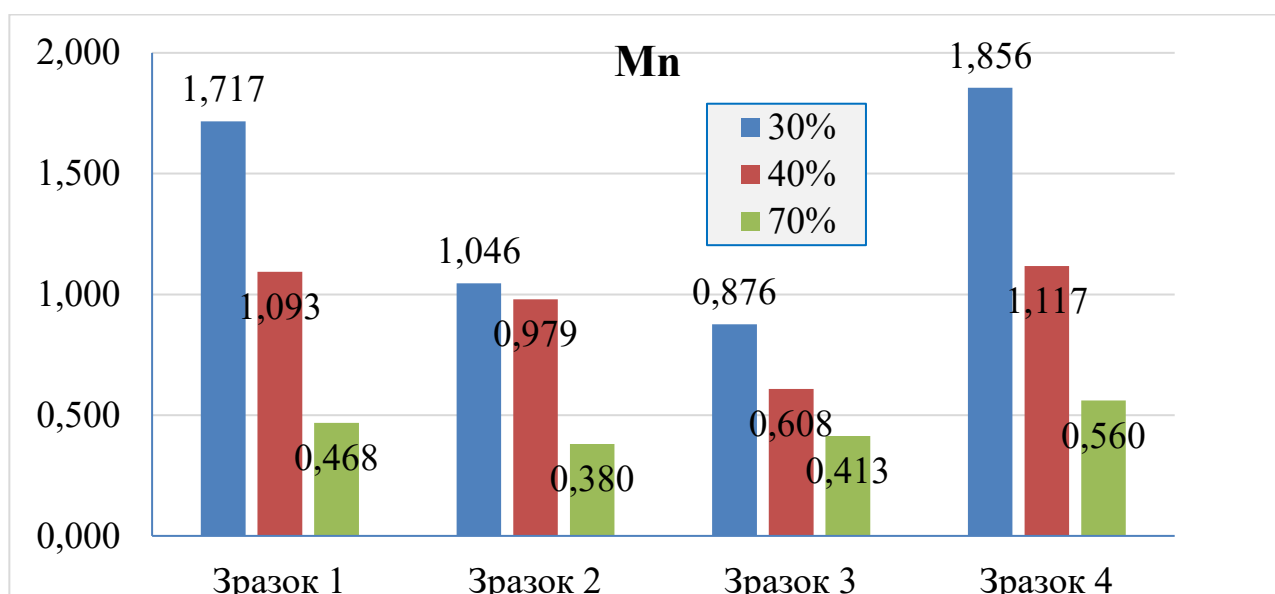


Рисунок 3. Вміст Мангану в екстрактах звіробою (мг/л).

Аналіз отриманих даних щодо вмісту Кобальту в траві звіробою у всіх зразках показав результати, що перевищують значення гранично допустимих доз елементів (0,01 мг/кг) [4]. Дані визначення вмісту елемента наведено на рис 4.

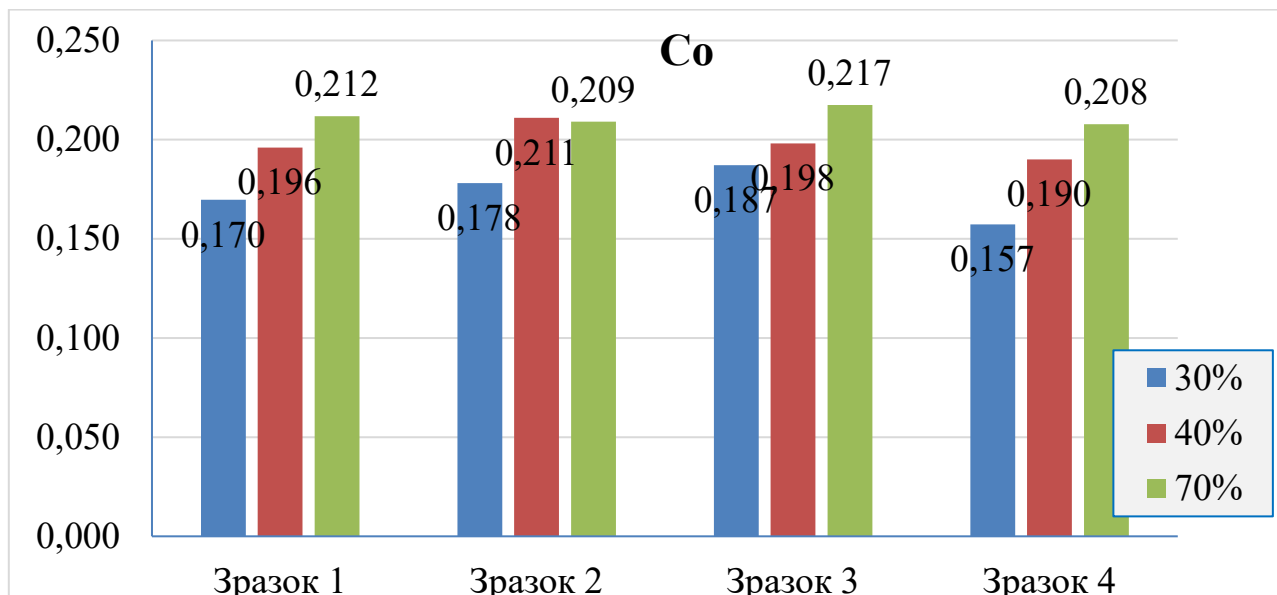


Рисунок 4. Вміст Кобальту в екстрактах звіробою (мг/л).

Результати вимірювання вмісту Феруму та Плюмбуму в дослідженій ЛРС дуже відрізняються. За даними міжнародних організацій, гранично допустимі дози для Феруму мають інтервал значень 8-58 мг/кг, для Плюмбуму – 2-10 мг/кг. Незважаючи на значний розкид результатів для різних виробників усі показники після екстрагування трави є нижчими від допустимих (рис. 5 і 6) [4].

Якщо брати до уваги потреби людини в хімічних елементах (табл. 1) та, наприклад, інструкцію до застосування екстракту звіробою звичайного, можна зазначити, що концентрація п'яти з досліджених шести важких металів у зразках не зашкодить організму людини при вживанні. Однак, результати аналізу на вміст Кобальту викликають занепокоєння та потребують продовження відповідних досліджень систематичного характеру [1-3].

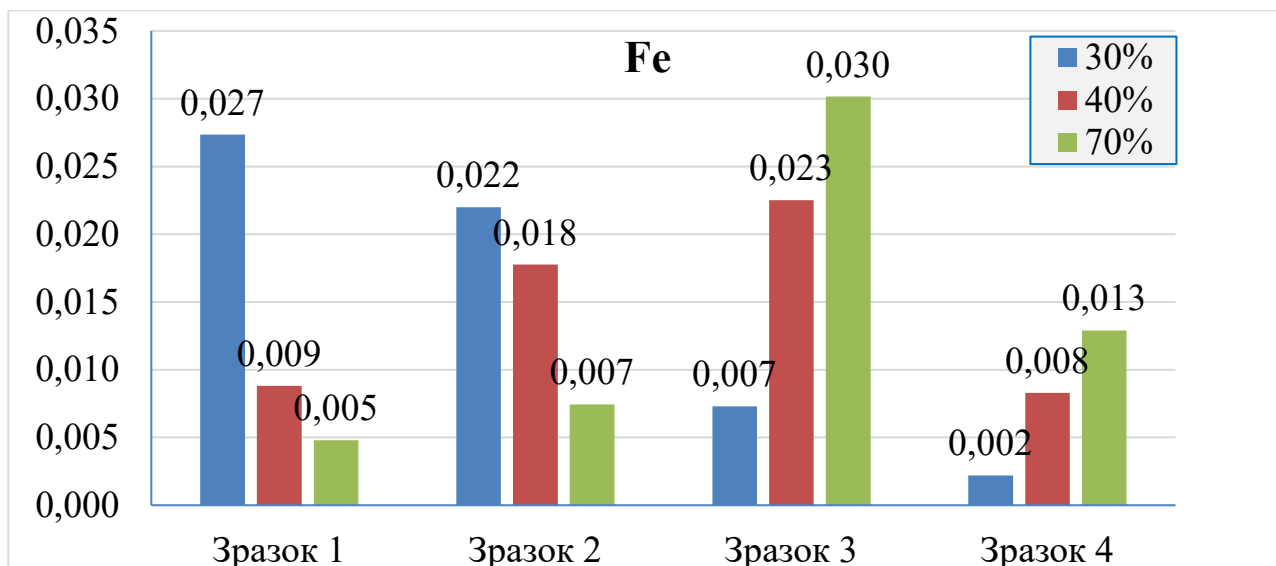


Рисунок 5. Вміст Феруму в екстрактах звіробію (мг/л).

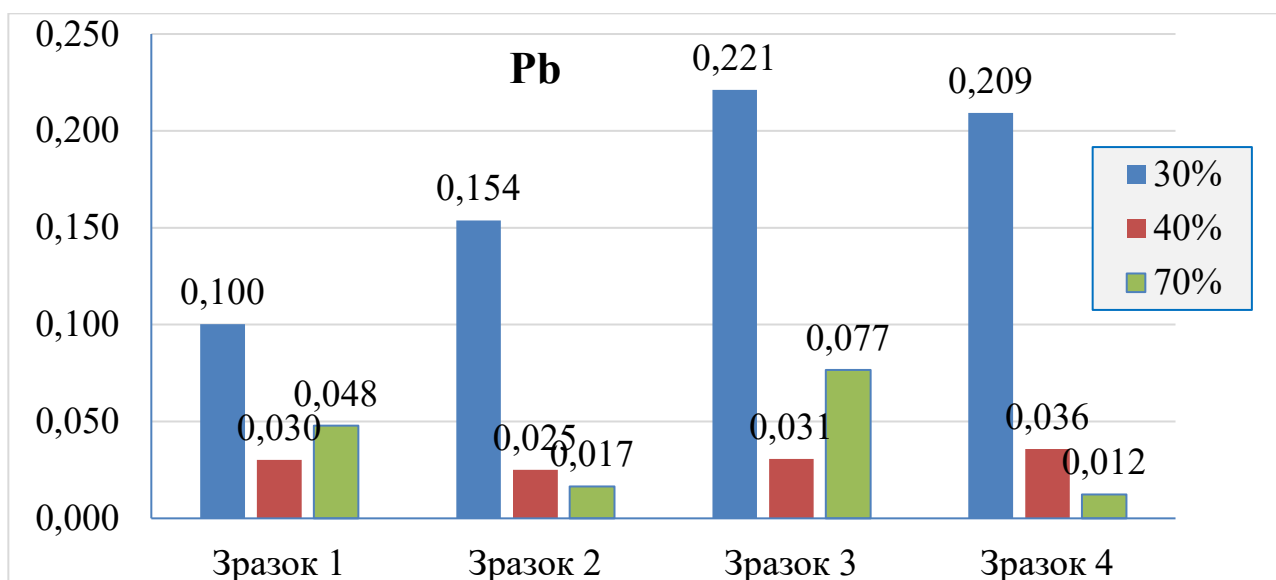


Рисунок 6. Вміст Пльомбуму в екстрактах звіробію (мг/л).

Таблиця 1. Показники допустимого вживання хімічних елементів людиною.

Хімічний елемент	Добова потреба	Токсична	Летальна доза
Кобальт (Co)	0,02-0,05 мг	500 мг	дані відсутні
Хром (Cr)	0,05-0,2 мг	200 мг	більше 3,0 г
Ферум (Fe)	10-20 мг	200 мг	7-35 г
Манган (Mn)	2,5-5 мг	40 мг	дані відсутні
Пльомбум (Pb)	0,01-0,02 мг	1 мг	10 г
Кадмій (Cd)	0,001-0,005 мг	3-330 мг	1,5-9 г

Запропоновано методику визначення речовини-маркеру у траві звіробою звичайному для ідентифікації ЛРС. Речовини-маркери є речовинами без терапевтичної активності або це біологічно активні речовини, які є специфічними для певних видів, родів або родин рослин і дозволяють їх ідентифікувати [9, 10]. Гіперфорин являє собою сполуку, яка виробляється деякими представниками роду *Hypericum*. У значних кількостях гіперфорин був виявлений тільки в *Hypericum perforatum* (звіробій звичайний), в той час як в деяких пов'язаних видах, наприклад, *Hypericum calycinum* (звіробій чашечкоподібний) його кількість дуже мала. Вважається, що він діє як інгібітор зворотного захоплення [11-13].

Ідентифікацію та кількісне визначення суми похідних гіперфорину у перерахунку на гіперфорин здійснено методом спектрофотометрії після екстракції гіперфорину і його похідних гексаном [14]. Вимірювали оптичну густину за довжиною хвилі 272 ± 2 нм. Екстракцію гіперфорину проводили гексаном протягом 30 хв у стані помірного кипіння. Для побудови градуовального графіку використовували стандартні розчини з концентрацією гіперфорину від 0,06 до 0,40 мг/мл. Проведено валідацію запропонованої аналітичної методики, якою підтверджено специфічність, лінійність, правильність, збіжність та робасність методики. Для кожної номінальної концентрації довірчий інтервал можна записати так: для С1 – $3 \times 1,39$; для С2 – $3 \times 0,34$; для С3 – $3 \times 0,14$. Виявлене стандартне відхилення було $< 1\%$ (0,63%). Було виявлено що гіперфорин, хоча повільно, але частково розкладався впродовж терміну зберігання. Такий висновок можна зробити, оскільки за результатами вимірювань середні значення концентрацій зменшувалися – приблизно на 2% по відношенню до вихідної концентрації за першу добу зберігання та на 4,5% по відношенню до вихідної концентрації за три доби. Отже, можна зробити висновок, що стандартні розчини, а також тестові розчини повинні бути проаналізовані відразу після підготовки.

Результати визначення вмісту гіперфорину у зразках трьох виробників

наведено на рисунку 7. У зразках виробника 3 вміст гіперфорину майже втричі вищий, ніж у зразках виробника 1. Показники виробника 2 займають проміжну позицію, хоча все ж таки трохи ближче до показників виробника 1. Як бачимо, результати індивідуальних вимірювань сировини від різних виробників за вмістом гіперфорину не співпадають, що вказує на важливість контролю вмісту гіперфорину в сировині, як однієї з важливих діючих речовин трави звіробою.

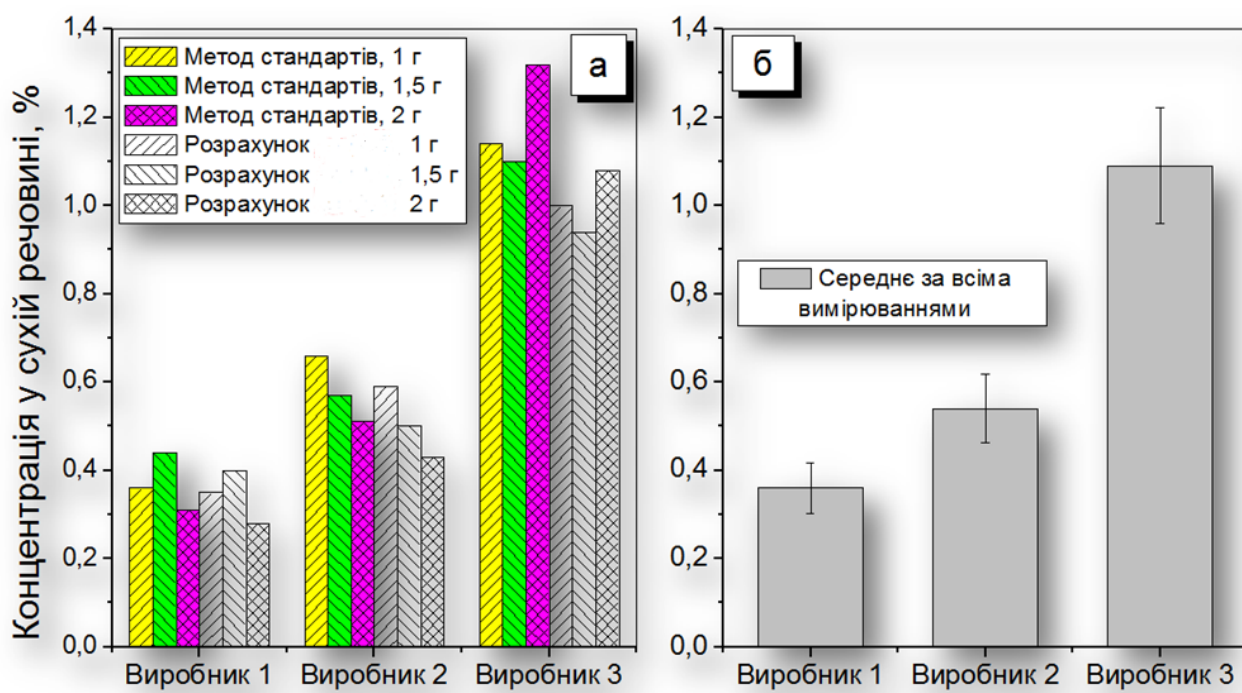


Рисунок 7. Концентрація гіперфорину у зразках виробників 1-3: а – визначення за методом стандартів у зразках, що виготовлені із різними наважками; б – середні дані за всіма вимірюваннями.

Виходячи з того, що гіперфорин є важливою складовою *Hypericum perforatum*, надаючи траві антидепресантних, антибактеріальних та ранозагоювальних властивостей [14, 15], необхідно контролювати вміст гіперфорину в сировині на початкових стадіях технологічного процесу.

Висновки.

1. Визначено, що ступінь забруднення важкими металами досліджених зразків трави звіробою звичайного загалом можна оцінити як низький та безпечний. Однак виявлено підвищений вміст Кобальту в рослині. Причини такого явища треба вивчати в подальших дослідженнях. Можливо, потребують коригування умови вирощування та культивування рослини.

2. Для ідентифікації сировини трави звіробою звичайного запропоновано методику спектрофотометричного визначення вмісту гіперфорину як речовини-маркеру. Методика характеризується достатньо високою точністю та має переваги з точки зору простоти, вимог до кваліфікації персоналу, швидкості та витрат.

Список літератури.

1. Баула О.П. Сучасні підходи до контролю елементних домішок у лікарських засобах рослинного походження / О.П. Баула, Т.М. Деркач // Фармацевтичний журнал. – 2017. – Вип. 3-4. – С. 43 – 52.
2. Баула О.П. Забезпечення якості лікарських засобів рослинного походження: стан та перспективи / О.П. Баула, Т. М. Деркач // Фармацевтичний часопис. - 2017. - № 2. - С. 79-86.
3. Самчук А.І. Важкі метали в ґрунтах Українського Полісся та Київського мегаполісу: монографія / А.І. Самчук, І. В. Кураєва, О.С. Єгоров та ін. – К.: Наук. думка. – 2006. – 108 с.
4. Погорелов М.В. Макро- та мікроелементи (обмін, патологія та методи визначення): монографія / М.В. Погорелов , В.І. Бумейстер, Г.Ф. Ткач, С.Д. Бончев, В. З. Сікора, Л.Ф. Суходуб, С.М. Данильченко. – Суми: Вид-во СумДУ. 2010. – 147 с.

5. Derkach T.M. Pharmacopoeia methods for elemental analysis of medicines: a comparative study/ Tetiana M. Derkach , Olga P. Baula// Bulletin of Dnipropetrovsk University. Series Chemistry. Vol. 25, No 2 (2017) – P.73-83. DOI: 10.15421/081711.
6. Community herbal monograph on *Hypericum perforatum* L., herba (well-established medicinal use). London (UK): European Medicines Agency; 2009. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: https://www.ema.europa.eu/documents/herbal-monograph/final-community-herbal-monograph-hypericum-perforatum-l-herba-well-established-medicinal-use_en.pdf
7. Derkach T.M. Essential and Toxic Microelements in the Medicinal Remedy *Hyperichi herba* by Different Producers / T.M. Derkach, V.G. Khomenko // Res. J. Pharm. Technol. – 2018. – V.11, No2. – P.466-474. DOI: 10.5958/0974-360X.2018.00086.0/
8. Derkach T. Elemental Composition of the Medicinal Plants *Hypericum perforatum*, *Urtica dioica* and *Matricaria chamomilla* Grown in Ukraine: A Comparative Study / T. Derkach, V. Khomenko // Pharmacognosy J. – 2018. – V.10, No3. – P.486-491. DOI: 10.5530/pj.2018.3.80
9. Гудзенко А.В. Дослідження речовин-маркерів для розробки методик контролю якості лікарських рослин, їх сумішей та полікомпонентних фітопрепаратів [дисертація]. Київ: ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»; 2014. – 421 с.
10. Agarouda A. Quality control of *Hypericum perforatum* L. analytical challenges and recent progress / A. Agarouda, A. Booker, T. Kiss, J. Hohmann, M. Heinrich, D. Csupor // J. Pharm. Pharmacol. – 2017. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jphp.12711>. DOI: 10.1111/jphp.12711

11. Barnes J. St John's wort (*Hypericum perforatum* L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. Review / J. Barnes, L.A. Anderson, J.D. Phillipson // J. Pharm. Pharmacol. – 2001. – V.53, No5. – P.583-600. <https://doi.org/10.1211/0022357011775910/>
12. Butterweck V. St. John's wort: Role of active compounds for its mechanism of action and efficacy / V. Butterweck, M. Schmidt // Wien Med. Wochenschr. – 2007. – V.157, No13–14. – P.356–61. DOI 10.1007/s10354-007-0440-8/
13. Smelcerovic A., Spiteller M. Phytochemical analysis of nine *Hypericum* L. species from Serbia and the F.Y.R. Macedonia. Die Pharmazie journal. 2006. Vol. 61, No 3. P. 251-252.
14. Kabata-Pendias A. Trace Elements in Soils and Plants, fourth ed., CRC Press, Boca Raton, Fl, USA. 2011. – 548 p.
15. Sandip Das, Showkat Hussain Ganie, Priti Upadhyay. Authentication of medicinal plants by DNA markers. Plant Gene. 2015 No 4. P. 83–99.