

УДК 61:615:322

3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.28 EDN: XIALEW

**МЕТОДОЛОГИЯ ПОВЕРХНОСТИ ОТКЛИКА В КОЛИЧЕСТВЕННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ ПОЛИСАХАРИДОВ В КОРНЯХ КУПЕНЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ****© Макарова Д.Ю., Новикова Е.К., Александрова Л.Ю.***Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14**Резюме*

**Цель.** Применение методологии поверхности отклика в количественном определении полисахаридов в корнях купены лекарственной для нахождения оптимальных гидромодуля и времени ультразвуковой экстракции.

**Методика.** Объектом исследования служат измельченные корни купены лекарственной (*Polygonatum officinale*), заготовленные в республике Крым; количественное определение полисахаридов проводится согласно ОФС.1.2.3.0019.15 «Определение сахаров спектрофотометрическим методом» по методике с пикриновым реактивом; для нахождения оптимальных значений гидромодуля и времени ультразвуковой экстракции используется программное обеспечение для обработки статистических данных «Minitab»: на первом этапе создается план эксперимента, состоящий из 13 опытов, на втором этапе выводится регрессионная модель и устанавливается значимость каждого параметра, на третьем этапе оптимизируются полученные данные и определяется теоретический выход полисахаридов.

**Результаты.** Для наибольшего выхода полисахаридов найдены гидромодуль, равный 1:60, и время, равное 15 мин. Теоретический выход полисахаридов составляет 13,73 %, практический выход равен 13,86 %.

**Заключение.** Подобраны оптимальные значения гидромодуля и времени в количественном определении полисахаридов в корнях купены лекарственной благодаря методологии поверхности отклика.

*Ключевые слова:* методология поверхности отклика, полисахариды, корни купены лекарственной

**RESPONSE SURFACE METHODOLOGY IN THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF POLYSACCHARIDES IN THE ROOTS OF THE POLYGONATUM OFFICINALE****Makarova D.Yu., Novikova E.K., Alexandrova L.Yu.***Saint-Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, 14, Professor Popov St., 197022, Saint-Petersburg, Russia**Abstract*

**Objective.** Application of the response surface methodology in the quantitative determination of polysaccharides in the roots of the *Polygonatum officinale* to find the optimal hydromodule and time in ultrasonic extraction.

**Methods.** The object of the investigation is the crushed roots of the *Polygonatum officinale* harvested in the Republic of Crimea; quantitative determination of polysaccharides is carried out according to the OFS.1.2.3.0019.15 "Determination of sugars by spectrophotometric method" according to the method with picrin reagent; to find the optimal values of the hydromodule and the time of ultrasonic extraction, the software for processing statistical data "Minitab" is used: at the first stage, an experimental plan consisting of 13 experiments is created, at the second stage a regression model is derived and the significance of each parameter is established, at the third stage the obtained data are optimized and the theoretical yield of polysaccharides is determined.

**Results.** For the highest yield of polysaccharides, a hydromodule equal to 1:60 and a time equal to 15 minutes are found. The theoretical yield of polysaccharides is 13.73%, the practical yield is 13.86%.

**Conclusion.** The optimal values of the hydromodule and time in the quantitative determination of polysaccharides in the roots of *Polygonatum officinale* due to the methodology of the response surface are selected.

**Keywords:** response surface methodology, polysaccharides, the roots of the *Polygonatum officinale*

## Введение

Одним из перспективных направлений в фармацевтической отрасли является разработка растительных лекарственных препаратов в связи с их популярностью на российском рынке, ценой и доступностью [5]. Особенно востребованы у населения фитопрепараты для лечения заболеваний верхних дыхательных путей [1,6]. В связи с этим изучение качественного и количественного состава растений остается актуальным.

Купена лекарственная – многолетнее травянистое растение, принадлежащее к семейству Лилейные (Liliaceae). Купена растет и культивируется в умеренных и субтропических поясах Северного полушария, распространяется в России. Широко применяется в Китае в качестве функционального продукта питания и в традиционной медицине для лечения различных заболеваний [4,8]. Купена в своем составе содержит полисахариды, которые могут оказывать различный спектр фармакологических эффектов [3].

Полисахариды являются незаменимыми макромолекулами, которые существуют практически во всех живых формах и выполняют важнейшие функции у растения. Благодаря своим физико-химическим свойствам полисахариды подвержены изменениям, приводящим к улучшению параметров, что является базовой концепцией для их обширного применения в фармацевтической области [7]. Определение количественного состава полисахаридов можно проводить с применением методологии поверхности отклика, которая устанавливает зависимость между переменными.

## Методика

В качестве объекта исследования применялись корни купены лекарственной. Фракционный состав сырья представлен в табл. 1.

Таблица 1. Фракционный состав корней купены лекарственной

Диаметр отверстий сита, через которые проходит сырье, мм	Содержание, %
0,5	50
1	50

Определение содержания полисахаридов в сырье проводилось с использованием методики, описанной в ОФС.1.2.3.0019.15 «Определение сахаров спектрофотометрическим методом». В исследовании применяется метод, который основан на цветной реакции моносахаридов с пикриновой кислотой. Результатом реакции, представленной на рис. 1, является восстановление глюкозой группы  $\text{NO}_2$  до  $\text{NH}_2$  [2].

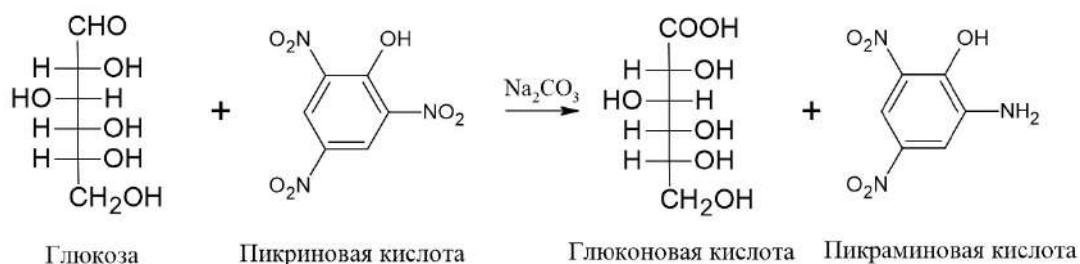


Рис. 1 Реакция глюкозы с пикриновой кислотой

Количественное определение полисахаридов проводилось следующим образом. Аналитическую пробу измельченных корней купены лекарственной массой 1,00 г экстрагируют в ультразвуковой ванне ПСБ-22. Полученное извлечение фильтруется через 5 слоев марли. Раствор перемещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят до метки (раствор А). Аликвоту раствора А объемом 10,0 мл и 1 мл хлористоводородной кислоты нагревают в колбе в течение 30 мин, после чего с применением 40% раствора гидроксида натрия получают раствор с рН 4,0-4,5. Раствор помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят до метки и фильтруют, отбрасывая первые 10-15 мл (раствор Б). К аликвоте раствора Б объемом 5,0 мл добавляют 2,5 мл 1% раствора пикриновой кислоты и 7,5 мл 20% раствора карбоната натрия и нагревают в течение 10 мин. Полученный раствор помещают в колбу вместимостью 100 мл и доводят до метки (раствор В).

Для определения оптимальных гидромодуля и времени используется программное обеспечение для обработки статистических данных «Minitab». На первом этапе создается план эксперимента: подбираются всего 2 фактора (гидромодуль и время), поэтому необходимо выполнить 13 опытов. На втором этапе устанавливается зависимость содержания полисахаридов от изучаемых параметров. На третьем этапе оптимизируются экспериментальные данные и определяется теоретический выход полисахаридов.

## Результаты исследования и их обсуждение

В табл. 2 представлены результаты количественного определения полисахаридов в соответствии с заданным планом эксперимента.

Таблица 2. Заданный план эксперимента

№	Гидромодуль	Время, мин.	Содержание полисахаридов, %
1	1:40	10	12,13
2	1:40	10	11,76
3	1:70	15	13,21
4	1:10	10	9,71
5	1:40	5	11,74
6	1:70	5	10,06
7	1:40	10	11,85
8	1:40	10	11,98
9	1:70	10	12,26
10	1:10	15	9,95
11	1:40	15	13,60
12	1:40	10	11,40
13	1:10	5	9,80

В соответствии с экспериментальными значениями получена регрессионная модель, где А – значение гидромодуля, В – значение времени, ПСХ – выход полисахаридов. Коэффициент смешанной корреляции равен 93,16, что свидетельствует о сильной положительной линейной взаимосвязи между переменными.

$$\text{ПСХ} = 9,79 + 0,1045 \times \text{А} - 0,289 \times \text{В} - 0,001509 \times \text{А}^2 + 0,0131 \times \text{В}^2 + 0,00500 \times \text{А} \times \text{В}$$

Следующим этапом регрессионного анализа является рассмотрение значимости подбираемых параметров по отношению к зависимой переменной. В таблице 3 представлены значения Р-критерия для каждого параметра. Если Р-критерий <0,05, то заданные параметры влияют на выход полисахаридов.

Таблица 3. Значение Р-критерия

Параметр	Р-критерий	Влияние на выход полисахаридов
Гидромодуль	0,001	+
Время	0,002	+
Гидромодуль×Гидромодуль	0,001	+
Время×Время	0,252	-
Гидромодуль×Время	0,011	-

Исходя из табл. 3, можно отметить, что наибольший вклад оказывают переменные гидромодуль, время и гидромодуль×гидромодуль. Графически можно представить на диаграмме Парето (рис. 2).

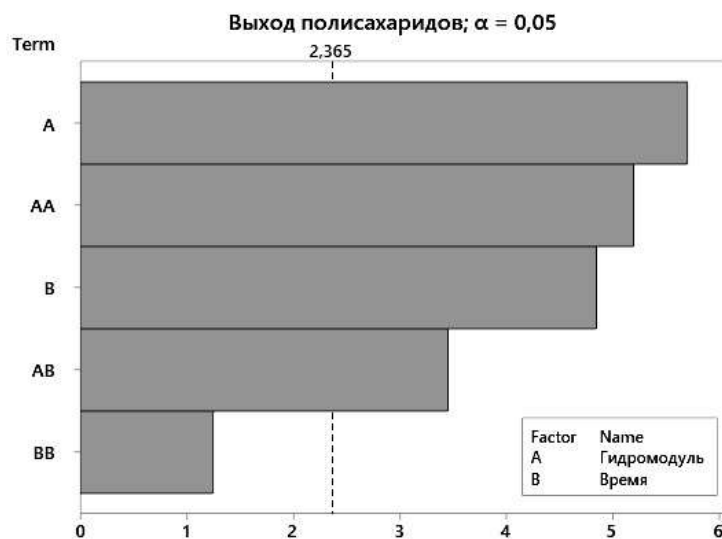
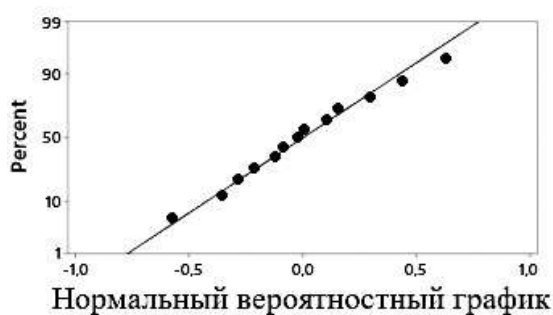


Рис. 2. Диаграмма Парето

Далее проведен анализ остатков (рис. 3), который позволяет оценить точность регрессионной модели. Интерпретация результатов анализа остатков представлена в табл. 4.



Нормальный вероятностный график

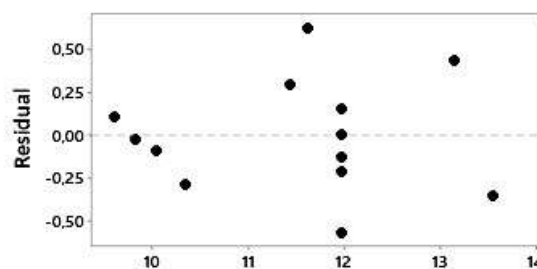
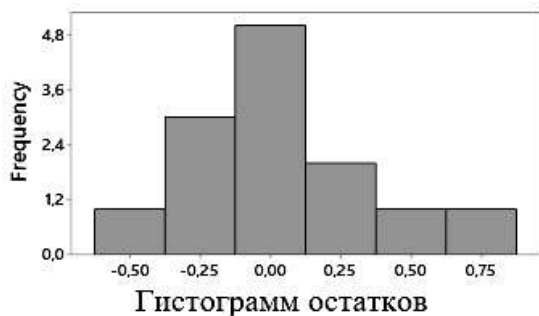


График остатков и подогнанных значений



Гистограмм остатков

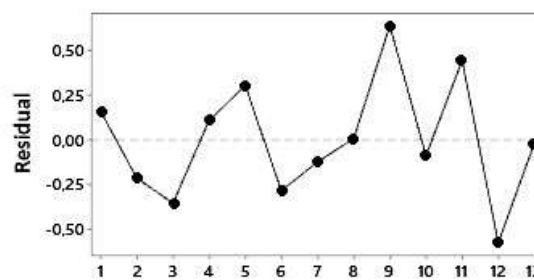


График остатков и порядка

Рис. 3 Анализ остатков

Таблица 4. Интерпретация результатов анализа остатков

График	Описание	Распределение
Нормальный вероятностный график	График приближен к прямой	Нормальное распределение
Гистограмма остатков	Гистограмма имеет форму «колокола»	Нормальное распределение
График остатков и подогнанных значений	Значения носят как положительный, так и отрицательный характер	Нормальное распределение
График остатков и порядка	График не носит «регулярного» поведения	Нормальное распределение

Из табл. 4 следует, что регрессионная модель подчиняется нормальному распределению. На последнем этапе получены значения гидромодуля и времени, при которых достигается максимальный выход полисахаридов (табл. 5).

Таблица 5. Результаты планирования эксперимента

Гидромодуль	Время	Теоретический выход, %	Практический выход, %
1:60	15	13,73	13,86

## Вывод

Составлен план эксперимента подбора гидромодуля и времени в количественном определении полисахаридов. Проведен анализ полученной регрессионной модели. Подобраны значения гидромодуля, равного 1:60, и времени, равного 15 мин., и предсказан теоретический выход полисахаридов, который составляет 13,73%. Определен практический выход полисахаридов, равный 13,86%.

## Литература (references)

1. Бойко Н.Н., Бондарев А.В., Жиликова Е.Т. и др. Фитопрепараты, анализ фармацевтического рынка Российской Федерации // Научный результат. Медицина и фармация. – 2017. – Т.3, №4. – С. 30-38. [Bojko N.N., Bondarev A.V., Zhiljakova E.T. i dr. *Nauchnyj rezul'tat. Medicina i farmacija*. Scientific result. Medicine and pharmacy. – 2017. – Т.3, N4. – P. 30-38. (in Russian)]
2. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. – Москва, 2023. [Gosudarstvennaja Farmacopeija RF XV. State Pharmacopoeia RF XV edition. – Moscow, 2023. (in Russian)]
3. Макарова Д.Ю., Новикова Е.К. Обнаружение полисахаридов в корнях *Polygonatum officinale* // XXVI Всероссийская конференция молодых учёных-химиков: Материалы Всероссийской научно-практической конференции. – Нижний Новгород, 2023 – С. 484. [Makarova D.Yu., Novikova E.K. *HHVI Vserossijskaja konferencija molodyh uchjonyh-himikov: Materialy Vserossijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii*. XXVI All-Russian Conference of Young Chemists: Materials of the All-Russian Scientific and Practical Conference. – Nizhnij Novgorod, 2023 – P. 484. (in Russian)]
4. Макарова Д.Ю. Перспективы использования корней купены лекарственной // Молодая фармация – потенциал будущего: Материалы Всероссийской научной конференции школьников, студентов и аспирантов с международным участием. – Санкт-Петербург, 2023. – С. 1095-1098. [Makarova D.Yu. *Molodaja farmacija – potencial budushhego: Materialy Vserossijskoj nauchnoj konferencii shkol'nikov, studentov i aspirantov s mezhdunarodnym uchastiem*. Young Pharmacy – the potential of the future: Materials of the All-Russian Scientific Conference of schoolchildren, Students and postgraduates with international participation – Sankt-Peterburg, 2023. – P. 1095-1098. (in Russian)]
5. Самбукова Т.В., Овчинников Б.В., Гананольский В.П. и др. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т.15, №2. – С. 56-63. [Sambukova T.V., Ovchinnikov B.V., Ganapol'skij V.P. i dr. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoj terapii*. Reviews of clinical pharmacology and drug therapy. – 2017. – V.15, N2. – P. 56-63. (in Russian)]
6. Свистушкин В.М., Никифорова Г.Н., Шевчик Е.А. и др. Эффективность растительных лекарственных препаратов при лечении острых респираторных инфекций в реальной клинической практике // *Consilium Medicum*. – 2022. – 24(9). – С. 579-587. [Svistushkin V.M., Nikiforova G.N., Shevchik E.A. i dr. *Consilium Medicum*. – 2022. – 24(9). – P. 579-587. (in Russian)]
7. Mohammed A. S. A., Naveed M., Jost M. Polysaccharides; Classification, Chemical Properties, and Future Perspective Applications in Fields of Pharmacology and Biological Medicine (A Review of Current Applications and Upcoming Potentialities) // *Journal of Polymers and the Environment*. 11.10.2023 URL: [https://www.researchgate.net/publication/348870060\\_Polysaccharides\\_Classification\\_Chemical\\_Properties\\_and\\_Future\\_Perspective\\_Applications\\_in\\_Fields\\_of\\_Pharmacology\\_and\\_Biological\\_Medicine\\_A\\_Review\\_of\\_Current\\_Applications\\_and\\_Upcoming\\_Potentialities](https://www.researchgate.net/publication/348870060_Polysaccharides_Classification_Chemical_Properties_and_Future_Perspective_Applications_in_Fields_of_Pharmacology_and_Biological_Medicine_A_Review_of_Current_Applications_and_Upcoming_Potentialities)
8. Zhao X., Li J. Chemical Constituents of the Genus *Polygonatum* and their Role in Medicinal Treatment // *Natural Product Communications*. – 2015. – V.10, N4. – P. 683-688.

**Информация об авторах**

*Макарова Дарья Юрьевна* – магистрант кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России. E-mail: makarova.darya@spsru.ru

*Новикова Екатерина Константиновна* – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России. E-mail: ekaterina.krasova@pharminnotech.com

*Александрова Любовь Юрьевна* – старший преподаватель кафедры процессов и аппаратов химической технологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России. E-mail: lubov.aleksandrova@pharminnotech.com

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 25.10.2023

Принята к печати 15.12.2023