

УДК 615.012:615.07:615.451:615.322

3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.30 EDN: XLFKVU

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ПОЛУЧЕНИЯ И СТАНДАРТИЗАЦИИ НАСТОЙКИ НА ОСНОВЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ© Шмыгарева А.А.¹, Куркин В.А.², Лабковская М.В.¹, Дорохина О.А.¹, Кочукова А.А.¹¹Оренбургский государственный медицинский университет, Россия, 460014, Оренбург, Советская ул., 6²Самарский государственный медицинский университет, Россия, 443099, Самара, Чапаевская ул., 89*Резюме*

Цель. Разработка способа получения настойки на основе лекарственного растительного сырья с максимальным выходом действующих веществ и последующей стандартизацией.

Методика. Для достижения обозначенной цели осуществляли выбор методики получения с корреляцией концентрации экстрагента и времени экстракции; разработку методик стандартизации настойки. В качестве объектов исследования использовали листья березы повислой, траву хвоща полевого, траву горца почечуйного и траву зверобоя продырявленного в соотношении 30:25:25:25, с размером частиц, проходящих сквозь сито диаметром 0,5 мм. Тонкослойную хроматографию и спектрофотометрию применяли для стандартизации полученной настойки.

Результаты. Проведен качественный анализ настойки с использованием тонкослойной хроматографии для обнаружения основных действующих веществ, а также количественный анализ спектрофотометрическим методом. При этом определено, что содержание флавоноидов в настойке составляет $0,46 \pm 0,01\%$ (в пересчете на авикулярин).

Заключение. В результате проведенных исследований предложен метод вакуумной экстракции с последующим воздействием ультразвука, подобраны оптимальные условия экстрагирования с максимальным выходом флавоноидов из сырья.

Ключевые слова: спектрофотометрия, горец птичий, береза повислая, хвощ полевой, зверобой продырявленный

DEVELOPMENT OF METHODS FOR OBTAINING AND STANDARDIZING TINCTURES BASED ON MEDICINAL PLANT RAW MATERIALSShmygareva A.A.¹, Kurkin V.A.², Labkovskaya M.V.¹, Dorokhin O.A.¹, Kochukova A.A.¹¹Orenburg State Medical Academy, Soviet St., 6, 460014, Orenburg, Russia²Samara State Medical University, Chapaevskaya St., 89, 443099, Samara, Russia*Abstract*

Objective. Development of a method for obtaining tinctures based on medicinal plant raw materials with maximum yield of active substances and subsequent standardization.

Methods. In order to achieve this goal, the selection of a method for obtaining a correlation between the concentration of the extractant and the extraction time was carried out; the development of methods for standardizing the tincture. As the objects of the study, the leaves of the hanging birch, the grass of the horsetail, the grass of the mountaineer and the herb of St. John's wort were used in a ratio of 30:25:25:25, with the size of particles passing through a sieve with a diameter of 0.5 mm. Thin-layer chromatography and spectrophotometry were used to standardize the resulting tincture.

Results. A qualitative analysis of the tincture was carried out using thin-layer chromatography to detect the main active substances, as well as quantitative analysis by spectrophotometric method. At the same time, it was determined that the content of flavonoids in the tincture is $0.46 \pm 0.01\%$ (in terms of avicularin).

Conclusion. As a result of the conducted research, a method of vacuum extraction with subsequent exposure to ultrasound was proposed, optimal extraction conditions were selected

Keywords: spectrophotometry, bird highlander, hanging birch, horsetail

Введение

На сегодняшний день урология является динамично развивающейся областью медицины, связано это с ростом заболеваемости мочеполовой системы. Наиболее распространенными являются воспалительные процессы как бактериального, так и не бактериального происхождения [12]. Фитопрепараты могут стать препаратами выбора в данном случае, так как фармацевтический рынок урологических препаратов России минимален и остается актуальным вопрос расширения ассортимента лекарственных средств на основе лекарственного растительного сырья [2, 3, 5, 7].

Перед нами стояла задача подбора максимально простого и эффективного способа получения экстрактов из лекарственных растений для настойки, в составе которых преобладают флавоноиды, в частности авикулярин [4, 6, 8]. Предложено следующее соотношение лекарственного растительного сырья: трава горца птичьего (*Polygonum aviculare* L.s.l.) – 30%, листья березы повислой *Betula pendula* Roth) – 25%, трава хвоща полевого (*Equisetum arvense* L.) – 25%, трава зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.) – 20%. Объектами исследования служили листья березы повислой, трава хвоща полевого, трава горца почечуйного, трава зверобоя продырявленного производства АО «Красногорлексредства», Россия, г. Красногорск, 2020 г.

Экстракция проводилась с помощью испарителя ротационного «ИР-1 ЛТ». Электронные спектры измерялись на УФ-спектрофотометре UNICO 2800, тонкослойная хроматография проводилась с использованием пластин «Сорбфил-ПТСХ-П-А-УФ», подвижная фаза смесь растворителей этилацетат: муравьиная кислота: вода в соотношении (40:4:6), УФ-кабинет 254/365 НТЦ «Ленхром».

Цель исследования – разработка способа получения настойки на основе лекарственного растительного сырья с максимальным выходом действующих веществ и последующей стандартизацией.

Методика

На первом этапе исследований была подобрана оптимальная концентрация экстрагента, в качестве экстрагента использовали спирт этиловый, соотношение сырья и экстрагента – 1:5, время экстракции – 15 минут на водяной бане и последующие 15 минут с использованием ультразвуковой бани. Максимальный выход действующих веществ наблюдался при использовании спирта этилового с концентрацией 70% (табл. 1), максимум поглощения находится в области спектра при длине волны 410 ± 2 нм (рис.1) [1, 9, 11].

Таблица 1. Влияние концентрации экстрагента на полноту извлечения суммы флавоноидов в настойке

| Концентрация спирта, % | Соотношение «сырьё : экстрагент» | Время экстракции | Содержание суммы флавоноидов в пересчете на авикулярин, % |
|------------------------|----------------------------------|---|---|
| 70 | 1:5 | 15 мин. водяная баня, 15 мин. воздействие ультразвука | 0,43±0,01 |
| 40 | 1:5 | 15 мин. водяная баня, 15 мин. воздействие ультразвука | 0,21±0,01 |
| 15 | 1:5 | 15 мин. водяная баня, 15 мин. воздействие ультразвука | 0,11±0,01 |

С целью увеличения выхода действующих веществ при получении настойки на основе лекарственного растительного сырья был предложен метод с применением режима вакуумного кипения с последующим воздействием ультразвуковой бани [10, 11, 13].

Выявлены оптимальными условия экстрагирования: экстрагент 70% этиловый спирт, соотношение «сырьё – экстрагент» (1:5), экстракция в течение 15 мин в режиме вакуумного кипения, при температуре 90°C и 15 мин с использованием ультразвуковой бани при температуре 40°C, мощности 60 Вт и частоте 40кГц (табл. 2).

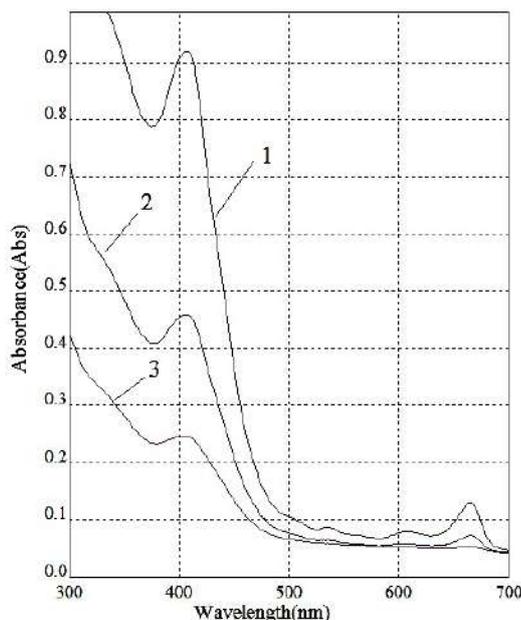


Рис. 1. Электронные спектры настойки с AlCl_3 70% (1), 40% (2), 15% (3)

Таблица 2. Влияние режима вакуумной экстракции на полноту извлечения суммы флавоноидов в настойке

| Концентрация спирта, % | Соотношение «сырьё : экстрагент» | Время экстракции, t° С | Содержание суммы флавоноидов в пересчете на авикулярин, % |
|------------------------|----------------------------------|---|---|
| 70 | 1:5 | 15 мин. вакуумная экстракция, 15 мин. воздействия ультразвука, 60° | 0,31±0,01 |
| | | 10 мин. вакуумная экстракция, 15 мин. воздействия ультразвука, 80° | 0,41±0,01 |
| | | 15 мин. вакуумная экстракция, 15 мин. воздействия ультразвука, 90° | 0,46±0,01 |

Методика количественного определения суммы флавоноидов: точную навеску настойки (2 г) помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили объем раствора до метки 96% спиртом и тщательно перемешивали (раствор А).

2,0 мл раствора А помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 2 мл алюминия хлорида раствора 2% и доводили объем раствора спиртом 96% до метки и перемешивали (раствор Б). Через 20 минут измеряли оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при аналитической длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм (рис. 2). В качестве раствора сравнения используют раствор, полученный следующим образом: 2 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора спиртом 96% до метки. С целью комплексной оценки химического состава настойки, было проведено хроматографическое исследование. После подбора для анализа лекарственной формы оптимальных условий, было выявлено, что наиболее подходящей системой растворителей для дифференциации химически активных соединений является система этилацетат – муравьиная кислота – вода (40:4:6). Детекция химических соединений была проведена в видимой области спектра и в УФ-свете (254 нм и 365 нм). При просмотре пластин «Сорбфил ПТСХ-ПА-УФ» или «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» с полученными хроматограммами в видимой области спектра и в УФ-свете (254 нм и 365 нм), просматриваются доминирующие пятна следующей окраски: темно-зеленое пятно с величиной R_f около 0,4 (рутин), пятно, имеющее красно-розовую окраску, с величиной R_f около 0,6 (гиперицин), пятно, окрашенное в зеленый цвет, с величиной R_f около 0,5 (хлорогеновая кислота), пятно, окрашенное в красно-оранжевый цвет, с величиной R_f около 0,98 (хлорофиллы), оранжевое пятно с величиной R_f около 0,8 (кверцетин) (рис. 3).

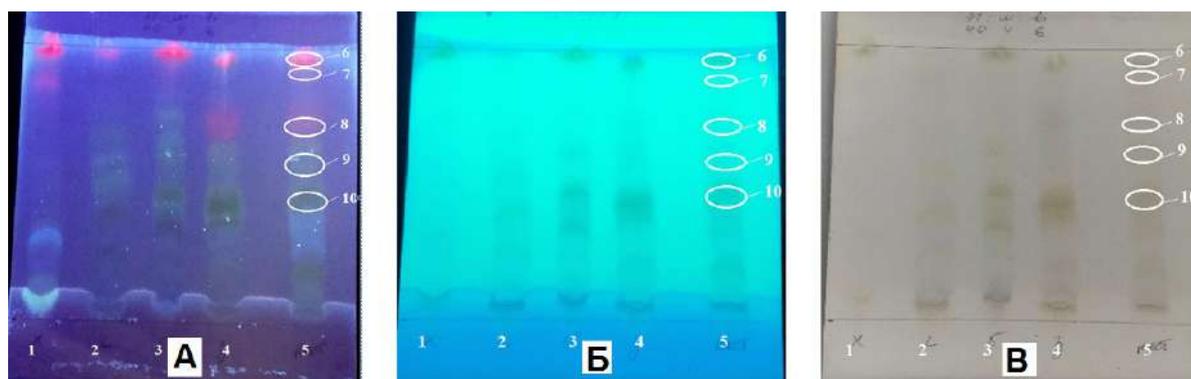


Рис. 2. Хроматограмма водно-спиртовых извлечений из травы хвоща, травы горца, листьев березы, травы зверобоя, в системе растворителей: этилацетат: муравьиная кислота : вода (40:4:6): А – детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм; Б – детекция в УФ-свете при длине волны 254 нм; В – детекция в видимой области спектра. 1 – водно-спиртовое извлечение сырья хвоща полевого; 2 – водно-спиртовое извлечение сырья горца птичьего; 3 – водно-спиртовое извлечение сырья березы повислой; 4 – водно-спиртовое извлечение сырья зверобоя продырявленного, 5 – многокомпонентная настойка; 6 – хлорофилл, 7 – кверцетин, 8 – гиперин, 9 – хлорогеновая кислота, 10 – рутин

Результаты исследования и их обсуждение

Содержание суммы флавоноидов вели в пересчете на доминирующее вещество авикулярин в настойке в % вычисляли по формуле:

$$X = \frac{E \times 25 \times 25}{m \times 330 \times 2}$$

, где E – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса навески препарата, г; 330 – удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) комплекса авикулярина с алюминием хлоридом при длине волны 410 нм.

Таблица 3. Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в настойке

| F | \bar{X} | S | $P, \%$ | $t(P, f)$ | ΔX | $E, \%$ |
|-----|-----------|---------|---------|-----------|--------------|------------|
| 10 | 0,45 | 0,00968 | 95 | 2,23 | $\pm 0,0216$ | $\pm 4,81$ |

Заключение

По итогам исследования предложена методика получения настойки с содержанием суммы флавоноидов в пересчете на авикулярин $0,46 \pm 0,01\%$, что составляет выход флавоноидов по отношению к их содержанию в исходном сырье $84,3 \pm 0,04\%$. Разработана методика количественного анализа настойки на основе лекарственного растительного сырья березы повислой, хвоща полевого, горца почечуйного и зверобоя продырявленного. Подтверждено наличие основных действующих веществ группы флавоноиды методом тонкослойной хроматографии.

Литература (references)

1. Акопян В.Б., Ершов Ю.А. Основы взаимодействия ультразвука с биологическим объектами. МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2005. [Akopyan V.B., Ershov Yu.A. Osnovy vzaimodejstviya ul'trazvuka s biologicheskim ob"ektami. MG TU im. N. E. Bauman, 2005. (in Russian)]

2. Брук М.М. и др. Получение лекарственных препаратов из растительного и животного сырья под действием ультразвука. В кн. Ультразвук в физиологии и медицине. Т.1. – Ростов-на-Дону, 1972, с. 115-116. [Bruk M.M. i dr. Poluchenie lekarstvennykh preparatov iz rastitel'nogo i zhivotnogo syr'ya pod dejstviem ul'trazvuka. V kn. Ul'trazvuk v fiziologii i medicine. T.1, Rostov-na-Donu, 1972, p. 115-116. (in Russian)]
3. Бубенчиков Р.А., Позднякова Т.А. Разработка числовых показателей качества для стандартизации травы астрагала шерстистоцветкового (*Astragalus dasyanthus* L.) // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2020. – Т.19, №2. – С. 171-178. [Bubenchikov R.A., Pozdnyakova T.A. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii*. Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2020. – V.19, N2. – P. 171-178. (in Russian)]
4. Государственная фармакопея Российской Федерации: Вып. 2. / МЗ РФ. 14-е изд. - М.: Медицина, 2018. – 3262 с. [Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii: Vyp. 2. / MZ RF. 14-e izd. – M.: Medicina, 2018. – 3262 p. (in Russian)]
5. Компанцева Е.В., Луценко Д.Н., Кодониди И.П., Червонная Н.М. Изучение возможности идентификации нового биологически активного вещества кардиопротекторного действия // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2020. – Т.19, №2. – С. 185-190. [Kompantseva E.V., Lutsenko D.N., Kodonidi I.P., Chervonnaya N.M. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii*. Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2020. – V.19, N2. – P. 185-190. (in Russian)]
6. Куркин В.А. Фармакогнозия: Учебник для студентов фармацевтических вузов. Изд. 2-е, перераб. и доп. – Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ», 2007. – 1239 с. [Kurkin V.A. *Farmakognoziya: Uchebnik dlya studentov farmacevticheskikh vuzov*. – Izd. 2-e, pererab. i dop. – Samara: ООО «Ofort», GOU VPO «SamGMU», 2007. – 1239 p. (in Russian)]
7. Куркин В.А. Фармакогнозия: Учебник для студентов фармацевтических вузов. – Изд. 5-е, перераб. и доп. – Самара: ООО «Полиграфическое объединение «Стандарт»», ФГБОУ ВО «СамГМУ», 2020. – 1278 с. [Kurkin V.A. *Farmakognoziya: Uchebnik dlya studentov farmacevticheskikh vuzov*. – Izd. 5-e, pererab. i dop. – Samara: ООО «Printing Association «Standard»», FGBOU VO «SamGMU», 2020. – 1278 p. (in Russian)]
8. Куркин В.А. Актуальные аспекты стандартизации видов лекарственного растительного сырья, включенных в государственную фармакопею российской федерации XIII издания // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – Самара, 2016. – Т.18, №2(3). – С. 730-736. [Kurkin V.A. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk*. Izvestiya Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. – 2016. – V.18, N2(3). – P.730-736. (in Russian)]
9. Молчанов Г.И. Интенсивная обработка лекарственного сырья. – М.: Медицина, 1981. – 208 с. [Molchanov G.I. *Intensive processing of medicinal raw materials*. – M.: Medicine, 1981. – 208 p. (in Russian)]
10. Пономарев В.Д. Экстрагирование лекарственного сырья. – М., Медицина, 1976. – 204 с. [Ponomarev V.D. *Ekstragirovanie lekarstvennogo syr'ya*. – M., Medicina, 1976. – 204 p. (In Russian.)]
11. Чуешов В.И., Чернов М.Ю., Хохлова Л.М. и др. Промышленная технология лекарств: Учебник для студентов высших учебных заведений. В 2-х т. – Т.2 - Харьков: НФАУ МТК – Книга, 1999. – 704 с. [Chueshov V.I., Chernov M.Yu., Hohlova L.M. i dr. *Promyshlennaya tekhnologiya lekarstv: Uchebnik dlya studentov vysshih uchebnyh zavedenij*. V 2-h t. – V.2 - Har'kov: NFAU MTK – Kniga, 1999. – 704 p. (In Russian.)]
12. Bowen I.H., Corrigan D., Cubbin I.J., de Smet P.A.G.M. et al. Woerdenbag. Adverse Effects of Herbal Drugs 2/ Springer Science & Business Media, 2012.

Информация об авторах

Лабковская Майя Викторовна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «ОрГМУ» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: majya.rybalko@yandex.ru

Куркин Владимир Александрович – доктор фармацевтических наук, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО «СамГМУ» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

Шмыгарева Анна Анатольевна – доктор фармацевтических наук, заведующая кафедрой управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «ОрГМУ» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: a.shmygareva@mail.ru

Дорохина Ольга Алексеевна – кандидат биологических наук, доцент кафедры управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «ОрГМУ» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: ya82@bk.ru

Кочукова Анна Александровна – кандидат биологических наук, доцент кафедры управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «ОрГМУ» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: annet512@rambler.ru

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 25.08.2023

Принята к печати 15.12.2023