

УДК: 615.322: 615.11: 615.071: 615.074

Определение маркерных соединений для стандартизации лекарственных растительных сборов «Грудной сбор №1» и «Проктофитол»

©2020. И.И. Тернинко¹, Е.В. Вишняков¹, М.А. Романова¹, Ю.Э. Генералова¹

¹ Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

* e-mail: inna.terninko@pharminnotech.com

Поступила в редакцию 03.06. 2020 г.

После доработки 18.06. 2020 г.

Принята к публикации 29.06. 2020 г.

Общепринятый фармакопейный подход предусматривает стандартизацию лекарственных сборов по методикам, представленным в фармакопейных статьях для отдельных компонентов, что, ввиду многокомпонентности данной лекарственной формы, не всегда является рациональным.

Целью исследования было провести оценку качества «Грудной сбор №1» и «Проктофитол» хроматографическими и спектрофотометрическими методами, исходя из методик, рекомендованных ГФ РФ XIV для отдельных компонентов, и предложить альтернативные подходы к выбору маркерных соединений комплексных растительных препаратов.

Качественный анализ осуществлялся хроматографическими методами (ТСХ и ВЭЖХ), путем сравнения основных хроматографических характеристик компонентов сборов со стандартами БАВ. Количественный анализ проводили спектрофотометрическим и хроматографическим методами.

Установлено, что в извлечениях из «Грудного сбора №1» содержание флавоноидов в пересчете на гиперозид превалирует над аналогичным показателем, определенным в пересчете на лютеолин. Содержание гидроксикоричных кислот в том же сборе в пересчете на розмариновую кислоту превалирует над аналогичным показателем в пересчете на хлорогеновую кислоту. Следовательно, в качестве маркерных соединений для стандартизации «Грудного сбора №1» целесообразно рекомендовать гиперозид и розмариновую кислоту.

Анализ антраценпроизводных в «Проктофитоле» показал, что максимум адсорбции раствора фенолятов антраценпроизводных (523 нм) совпадает с максимумом, при котором рассчитан удельный показатель поглощения сеннозида В (523 нм) (для хризофановой кислоты $\lambda=515$ нм). Максимум адсорбции извлечения из сбора со спиртовым раствором магния ацетата (515 нм) совпадает с максимумом, при котором рассчитан удельный показатель поглощения глюкофрангулина А. Предварительная очистка «Проктофитола» от антраценпроизводных позволила более полно оценить содержание глицирризиновой кислоты.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сборы лекарственные; стандартизация; спектрофотометрия; тонкослойная хроматография; высокоэффективная жидкостная хроматография; маркерные вещества; лекарственное растительное сырье

DOI: 10.17816/phf34611/2713-153X-2020-2-2-38-47

СОКРАЩЕНИЯ:

ГФ РФ XIV – Государственная Фармакопея 14-го издания;

ФС – фармакопейная статья;

ОФС – общая фармакопейная статья;

ТСХ – тонкослойная хроматография;

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;

СО – стандартный образец;

ГСО – государственный стандартный образец;

ИЛ (ЦКЛСС) – Испытательная лаборатория (Центр контроля качества лекарственных средств);

БАВ – биологически активные вещества;

ГКК – гидроксикоричные кислоты.

ВВЕДЕНИЕ

Сборы лекарственных, а также растительные чаи (в терминологии европейской фармакопеи) являются неотъемлемой традиционной частью аптечного ассортимента. Они пользуются доверием у различных групп пациентов, так как для них характерен низкий риск возникновения побочных реакций, обусловленный отсутствием у входящих в их состав растительных компонентов ксенобиотического эффекта [1–5].

Многокомпонентность предполагает наличие в сборах разнообразных групп БАВ, которые определяют плейотропное фармакологическое действие [6, 7]. Государственная Фармакопея РФ 14-го издания в ОФС.1.4.1.0020.15 [8] дает такое определение данной лекарственной формы: «Сборы – это смеси двух и более видов измельченного растительного сырья, возможно с добавлением веществ минерального, растительного и животного происхождения».

Общепринятый подход к стандартизации данной лекарственной формы подразумевает комплексную оценку суммы соединений (или индивидуальных веществ) отдельных групп БАВ, входящих в состав растительных компонентов сбора и обуславливающих его фармакологическое действие. Такой подход не дает возможности провести целенаправленную идентификацию отдельных химических маркеров.

При разработке подходов к стандартизации данной лекарственной формы необходимо принимать во внимание комплексность химического состава, так как различные группы БАВ способны как потенцировать, так и нивелировать действие друг друга, а также вступать во взаимодействие, образуя новые соединения [9], что существенно усложняет стандартизацию сборов. Исходя из этого, персонализированная оценка качества сборов лекарственных является актуальной задачей [10].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цель настоящего исследования – оценка качества лекарственных сборов, исходя из методик, рекомендованных ГФ РФ XIV для ЛРС – отдельных компонентов сборов, и поиск альтернативных подходов к стандартизации комплексных растительных препаратов за счет выбора специфичных маркеров.

МАТЕРИАЛЫ

В качестве объектов исследования использованы лекарственные сборы, приобретенные в аптечных сетях Санкт-Петербурга. Выбор объекта обусловлен изучением ассортиментных запасов сборов в аптечных сетях, по которым опосредованно можно судить о спросе на данную единицу товара [11–14]. По результатам исследования были выбраны следующие объекты:

- «Грудной сбор №1», состоящий из трех компонентов: душицы обыкновенной (трава), мать-и-мачехи обыкновенной (листья), алтея (корни).
- Сбор «Проктофитол», включающий листья сенны, кору крушины ольховидной, плоды кориандра посевного, траву тысячелистника обыкновенного, корни солодки.

Для целей качественного анализа (ТСХ-скрининг) получали водные и спиртовые извлечения («Грудной сбор №1»), а также этилацетатные извлечения с использованием УЗ-бани («Проктофитол») [15]. Методики получения спир-

товых и этилацетатных извлечений на отдельные компоненты растительных сборов приведены в ГФ РФ XIV [8]. Водные извлечения для моделирования условий получения конкретной лекарственной формы и оценки экстракции отдельных групп БАВ получали в соответствии с рекомендациями, приведенными на упаковке сбора.

ТСХ-анализ соединений проводили на пластинках «Sorbfil UV254» (ПТСХ-П-В-УФ 100*100 мм, зернение 5–17 мкм, толщина слоя 90–120 мкм). Пятна веществ идентифицировали по значениям факторов удерживания (Rf). Для этого просматривали хроматограммы в видимом и фильтрованном УФ-свете (при 254 нм и 365 нм) до и после обработки специфическими хромогенными реактивами и сравнивали их со значениями Rf соответствующих стандартных образцов (СО) [16, 17]. Развитие хроматограмм проходило в общих системах растворителей, рекомендованных для конкретных групп БАВ, и в индивидуальных системах, характерных для компонентов сборов. В качестве стандартных образцов использовали:

- 0,1%-е спиртовые растворы флавоноидов (рутин, лютеолин, кверцетин, апигенин, гиперозид) и гидроксикоричных кислот (хлорогеновая, п-кумаровая, феруловая кислоты) EP CRS (SigmaAldrich);
- 0,5%-е спиртовые растворы СО камфоры, ментола, тимолола (ГСО), судана III;
- 0,1%-й спиртовой раствор СО цинеола (ГСО).

Системы растворителей и проявляющие реактивы указаны в таблицах 2–5.

Исследование компонентного состава флавоноидов и ГКК в спиртовом (экстрагент – 70%-й спирт) и водном извлечениях «Грудного сбора №1» проводилось методом ВЭЖХ. Разделение и идентификацию компонентов осуществляли с использованием системы высокоэффективного жидкостного хроматографа LC20AB (Shimadzu, Япония) с диодно-матричным детектором SPDМ20А. Испытание проводили на базе ИЛ (ЦККЛС) ФГБОУ ВПО СПбХФУ. Условия хроматографирования приведены в табл. 1.

Табл. 1.
Условия хроматографического анализа «Грудного сбора №1» методом ВЭЖХ
Table 1.
Conditions for chromatographic analysis of Pectorales species №1 by HPLC method

Условия хроматографического анализа методом ВЭЖХ	
Капиллярная колонка	Zorbax Eclipse XDB C18 250 × 4,6 мм
Объем пробы	20 мкл
Скорость потока подвижной фазы	1 мл/мин
Температура термостата колонки	40 °С
Подвижная фаза	Смесь 0,03% водного раствора трифторуксусной кислоты (элюент А) и ацетонитрила (элюент Б).
Элюирование в градиентном режиме	0–12 мин 90% элюента А, 12–28 мин 90–80% элюента А, 28–30 мин 80% элюента А, 30–40 мин 80–65% элюента А, 40–60 мин 65% элюента А.

В качестве стандартных образцов применяли спиртовые растворы СО EP CRS (SigmaAldrich) ГКК (хлорогеновая, феруловая, п-кумаровая, розмариновая, коричная) с концентрацией 5 мкг/мл и спиртовые растворы СО EP CRS (SigmaAldrich) гиперозида, цинарозида и лютеолина с концентрацией 10 мкг/мл, а также кверцетина и рутина с концентрацией 100 мкг/мл.

Количественный анализ суммы флавоноидов в «Грудном сборе №1» осуществляли по методике ФС 2.5.0012.15 [8]. Проводили пересчет суммы флавоноидов на лютеолин (так как он рекомендован ГФ РФ в качестве маркера для сырья душицы) и на гиперозид (так как ТСХ-скрининг показал его наличие в сборе) [18]. Для анализа использовали спиртовые 0,02%-е растворы СО гиперозида и лютеолина, водное извлечение из сбора, полученное настаиванием в горячей воде, и извлечение, полученное нагреванием с 70%-м спиртом на водяной бане с использованием обратного холодильника [19, 20].

Количественный анализ суммы ГКК в водных и спиртовых извлечениях из «Грудного сбора №1» проводили спектрофотометрически, в пересчете на розмариновую и хлорогеновую кислоты. Выбор целевых веществ обусловлен тем, что в ходе ТСХ и ВЭЖХ [18, 21] анализа в извлечениях были идентифицированы данные соединения, и содержание их превалировало над другими ГКК. Методика количественного анализа представлена в ФС 2.5.0019.15 [8].

Количественный анализ суммы полисахаридов в «Грудном сборе №1» проводили по методике ФС 2.5.0027.15 «Мать-и-мачехи обыкновенной листья» ГФ РФ XIV [8, 22, 23].

Количественный анализ антраценпроизводных в водном извлечении из сбора «Проктофитол» проводили спектрофотометрически, с учетом особенностей методик анализа индивидуальных антраценсодержащих компонентов сбора: листьев сенны и коры крушины (методики по ФС 2.5.0038.15 и ФС 2.5.0021.15 ГФ РФ XIV соответственно) [8, 24, 25].

Количественный анализ глицирризиновой кислоты в сборе «Проктофитол» проводили спектрофотометрически. Извлечение из сбора получали по методике ФС 2.5.0040.15 путем экстрагирования ацетоновым раствором азотной кислоты и добавления к ацетоновому извлечению концентрированного раствора аммиака до pH 8,6. В дальнейшем проводилось отделение образующегося осадка, растворение его в воде и определение оптической плотности [8, 26].

В результате реакции с аммиаком образовывались феноляты (аммиакаты) антраценпроизводных, входящих в состав сбора. Они сорбируются на осадке аммиачной соли глицирризиновой кислоты и мешают дальнейшему исследованию, изменяя окраску осадка и занижая содержание глицирризиновой кислоты. Поэтому было решено предварительно очистить сбор от данной группы БАВ. Для этого 8,0 г сбора помещали в колбу объемом 250 мл и добавляли 20 мл щелочно-аммиачного раствора [27]. Затем раствор фильтровали через пять слоев марли. Остатки сырья с марли собирали обратно в колбу и проводили очистку тем же способом до тех пор, пока раствор не станет прозрачным. Сбор промывали водой и

высушивали досуха при комнатной температуре. Далее в очищенном от антраценпроизводных сборе определяли содержание глицирризиновой кислоты.

Количественный анализ суммы экстрактивных веществ в «Грудном сборе №1» проводили по методике, представленной в ОФС 1.5.3.0006.15 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», метод 1. Извлечение готовили по методике ОФС 1.4.1.0018.15 «Настои и отвары» для алтея (экстрагент – вода) [8].

Определение влажности сборов для целей количественного анализа проводилось по методике ОФС.1.5.3.0007.15 «Определение влажности лекарственного растительного сырья» с помощью инфракрасного анализатора влажности Sartorius MA 35 (режим анализа автоматический, заданная температура 105 °С).

Статистическая обработка результатов проводилась по методике, представленной в ОФС 1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента». Объем выборки для каждого эксперимента равен 5.

Для целей количественного анализа также использовались:

- Аналитические весы Sartorius Secura 224-10RU (Германия);

- Однолучевой спектрофотометр «СФ-56». Измерения проводили в кварцевых кюветах толщиной 1 см.

- pH-метр Mettler Toledo Five Easy 20 с универсальным комбинированным электродом LE438 IP67 с термодатчиком при температуре 20±2 °С. Перед началом работы прибор калибровали с использованием буферных растворов с pH 9,21, 7,00 и 4,01.

Оборудование проверено в соответствии с требованиями к использованию средств измерений.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

ТСХ-анализ «Грудного сбора №1» в системах №1 и №2 показал наличие в сборе рутина и хлорогеновой кислоты. Требования по окраске, расположению и количеству дополнительных зон адсорбции, представленные в ФС для душицы, не выполняются для «Грудной сбор №1», но соответствуют зонам адсорбции, представленным в ФС на мать-и-мачеху (табл. 2 и 3).

При хроматографировании сбора в уксусной кислоте 15% (система №3), специфической для ГКК [28], была обнаружена хлорогеновая кислота (табл. 4).

При ТСХ-анализе в системе №4 было установлено наличие рутина, гиперозида и лютеолина (табл. 5). Причем интенсивность окраски пятна значительно выше у гиперозида, что говорит о большем его содержании в сборе.

При спектральном анализе «Грудного сбора №1» совпадение максимумов УФ-спектров СО флавоноидов и собственного поглощения извлечения наблюдалось только для гиперозида (табл. 6).

После добавления к растворам СО лютеолина и гиперозида и извлечения спиртового раствора алюминия хлорида 3% для оценки батохромного смещения было обнаружено совпадение двух максимумов адсорбции, характерных для

Результаты ТСХ-анализа «Грудного сбора №1» в системе №1
The results of TLC-analysis of Pectorales species №1 in the system №1

Табл. 2.
Table 2.

Стандартные образцы	Rf	Грудной сбор №1	Трава душицы
Рутин	0,24	0,24	0,24
Кверцетин	0,80	-	-
Феруловая кислота	0,84	-	-
Хлорогеновая кислота	0,47	0,47	0,47
п-Кумаровая кислота	0,78	-	0,77
Дополнительные зоны абсорбции	-	0,31; 0,36; 0,52; 0,72	0,33; 0,43; 0,67

Примечания: Система №1: толуол – этилацетат – муравьиная кислота (безводная) – вода (10:20:5:2); проявитель: УФ-свет (365 нм)

Результаты ТСХ-анализа «Грудного сбора №1» в системе №2
The results of TLC-analysis of Pectorales species №1 in the system №2

Табл. 3.
Table 3.

Стандартные образцы	Rf	Грудной сбор №1	Листья мать-и-мачехи
Рутин	0,35	0,35	-
Кверцетин	0,97	-	-
Феруловая кислота	0,97	-	-
Хлорогеновая кислота	0,46	0,46	0,46
п-Кумаровая кислота	0,97	-	-
Дополнительные зоны абсорбции	-	0,69; 0,76	0,69; 0,76

Примечания: Система №2: этилацетат – муравьиная кислота (безводная) – вода (40:4:6); проявитель: УФ-свет (254 нм)

Результаты ТСХ-анализа «Грудного сбора №1» в системе №3
The results of TLC-analysis of Pectorales species №1 in the system №3

Табл. 4.
Table 4.

Стандартные образцы	Rf	Грудной сбор №1	Трава душицы	Листья мать-и-мачехи
Феруловая кислота	0,93	-	-	-
Хлорогеновая кислота	0,97	0,97	0,97	0,97
п-Кумаровая кислота	0,90	-	0,89	-
Дополнительные зоны абсорбции	-	0,20	0,20	0,20

Примечания: Система №3: 15% уксусная кислота; проявитель: УФ-свет (365 нм)

Результаты ТСХ-анализа «Грудного сбора №1» в системе №4
The results of TLC-analysis of Pectorales species №1 in the system №4

Табл. 5.
Table 5.

Стандартные образцы	Rf	Грудной сбор №1	Трава душицы	Листья мать-и-мачехи
Кверцетин	0,85	-	-	-
Рутин	0,61	0,60	0,61	-
Апигенин	0,95	-	-	-
Лютеолин	0,89	0,89	0,89	0,89
Гиперозид	0,74	0,74	0,74	0,74

Примечания: Система №4: н-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4:1:2); проявители: УФ-свет (254 нм); 3%-й спиртовой раствор алюминия хлорида

Результаты качественного анализа БАВ в «Грудной сбор №1»

Табл. 6.

The results of a qualitative analysis of biologically active substances in Pectorales species №1

Table 6.

Сбор/Стандартные образцы флавоноидов	Максимумы адсорбции, нм	Сбор/Стандартные образцы гидроксикоричных кислот	Максимумы, нм
«Грудной сбор №1»	301, 329	«Грудной сбор №1»	301, 329
Лютеолин	351	Хлорогеновая кислота	301, 330
Гиперозид	301, 360	п-Кумаровая кислота	310
Апигенин	270, 339	Феруловая кислота	325
Рутин	256, 361		
Кверцетин	256, 373		

СО гиперозида со спектром извлечения при 276 нм и 410 нм (рис. 1). При этом для СО лютеолина, который рекомендуется в качестве маркера для количественного определения флавоноидов согласно ФС для травы душицы, было зафиксировано совпадение лишь одного максимума (при 276 нм).

Количественный анализ флавоноидов в спиртовом извлечении показал, что сумма флавоноидов в пересчете на гиперозид выше аналогичного показателя в пересчете на лютеолин (0,97% против 0,75% соответственно) (табл. 7). При этом содержание гиперозида в водном извлечении, которое рекомендовано в качестве лекарственной формы (отвар) для «Грудного сбора №1», в десять раз выше содержания лютеолина (0,34% против 0,035% соответственно), что связано с различной растворимостью двух соединений в воде [29].

Таким образом, именно гиперозид, а не лютеолин можно рекомендовать в качестве маркера для количественного определения флавоноидов в данном сборе [30].

При количественном анализе сбора методом ВЭЖХ в спиртовом и водном извлечениях были также идентифицированы гиперозид и цинарозид. Однако только пик цинарозида полностью разделился в водном извлечении в данных хроматографических условиях (рис. 2 и 3, табл. 8).

Спектрофотометрический анализ ГКК в «Грудном сборе №1» в сравнении со спектрами стандартов ГКК показал полное совпадение спектра хлорогеновой кислоты со спектром извлечения (рис. 4, табл. 6).

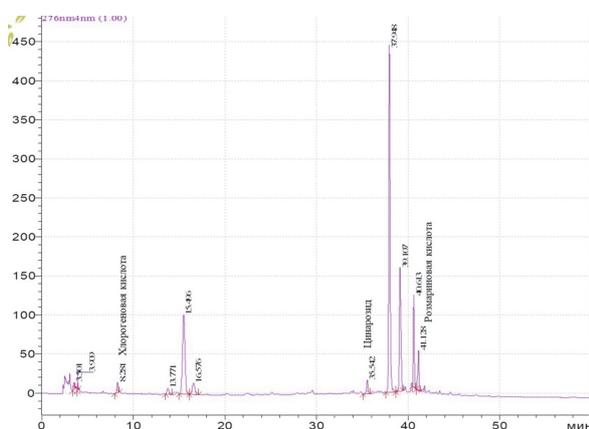


Рис. 2. Хроматограмма водного извлечения из «Грудного сбора №1»
Fig. 2. Chromatogram of water extraction from Pectorales species №1

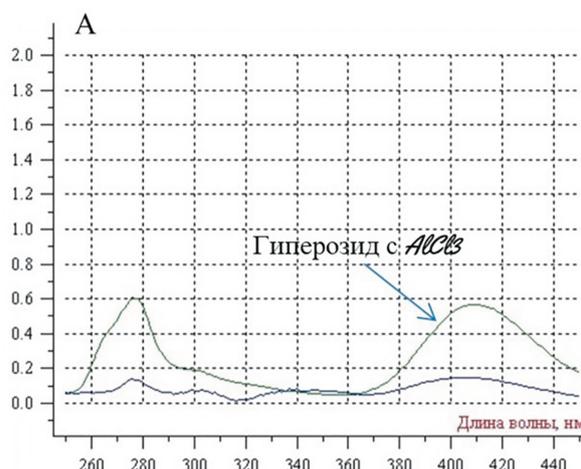


Рис. 1. УФ-спектры комплексов гиперозида и извлечения из «Грудного сбора №1» после добавления AlCl₃
Fig. 2. UV spectra of complexes of hyperoside and extraction from Pectorales species №1 after the addition of AlCl₃

Табл. 7.

Результаты количественного анализа флавоноидов в «Грудном сборе №1»

Table 7.

The results of a quantitative analysis of flavonoids in Pectorales species №1

Сумма флавоноидов (в %) в пересчете на (n=5):

Гиперозид	Лютеолин	Гиперозид	Лютеолин
В спиртовом извлечении		В водном извлечении	
0,97 ± 0,02	0,75 ± 0,02	0,34 ± 0,02	0,035 ± 0,01

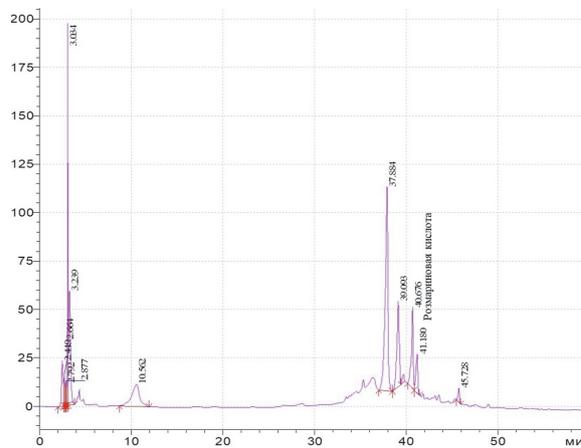


Рис. 3. Хроматограмма спиртового (Б) извлечения из «Грудного сбора №1»
Fig. 3. Chromatogram alcohol (B) extraction from Pectorales species №1

Результаты хроматографического анализа «Грудного сбора №1» методом ВЭЖХ
The results of chromatographic analysis of Pectorales species №1 by HPLC method

Табл. 8.
Table 8.

Наименование вещества	Время удерживания, мин		Площадь пика		Содержание, %
	СО	извлечение	СО	извлечение	
Хлорогеновая кислота (5 мкг/мл)	8.427	8.281 (В)	132234	135387	0,0026
Розмариновая кислота (5 мкг/мл)	41.373	41.180 (С) 41.128 (В)	88337	293307 491451	С – 0,017 В – 0,014
Цинарозид (10 кг/мл)	35.251	35.542 (В, С?)	85475	В – 213114	В – 0,012
Гиперозид (10 кг/мл)	34.647	Не разделился с цинарозидом	109794	Не разделился с близлежащими пиками	-

Примечания: С – спиртовое извлечение; В – водное извлечение

Результаты количественного анализа ГКК в «Грудном сборе №1»
The results of a quantitative analysis of hydroxycinnamic acids in Pectorales species №1

Табл. 9.
Table 9.

Сумма гидроксикоричных кислот (в %) в пересчете на (n=5):			
Хлорогеновую кислоту (n=5)	Розмариновую кислоту (n=5)	Хлорогеновую кислоту (n=5)	Розмариновую кислоту (n=5)
В спиртовом извлечении		В водном извлечении	
4,81 ± 0,12	5,25 ± 0,24	0,79 ± 0,05	0,90 ± 0,06

ВЭЖХ-анализ, кроме хлорогеновой, показал также наличие розмариновой кислоты (рис. 2, табл. 8). Причем содержание последней в десять раз превышает содержание хлорогеновой кислоты (0,015% против 0,0026% в спиртовом извлечении) [31].

Сравнение результатов определения суммы ГКК методом спектрофотометрии показал, что в качестве маркера лучше использовать розмариновую кислоту, поскольку содержание ГКК в пересчете на нее превалирует над аналогичным показателем в пересчете на хлорогеновую кислоту в водном и спиртовом извлечениях (табл. 9).

В ходе количественного анализа полисахаридов спектральным методом в пересчете на глюкозу установлено, что, несмотря на наличие в сборе растений с высоким содержанием полисахаридов (алтей и мать-и-мачеха), содержание последних незначительно (табл. 10). Это можно объяснить возможными потерями в ходе анализа «кислых» слизей, компонентами которых являются уроновые кислоты, а также тем фактом, что нам неизвестно соотношение компонентов в анализируемом сборе [32, 33].

Результаты, полученные при определении суммы экстрактивных веществ, показывают, что в ходе однократной экстракции в водное извлечение переходит большое количество балластных веществ и БАВ (табл. 10).

При исследовании терпенов методом ТСХ в сборе «Проктофитол» по методикам, рекомендованным ГФ РФ XI для кориандра и тысячелистника, было установлено, что окраска и расположение зон адсорбции в сборе соответствуют требованиям, которые представлены в ФС на соответствующее сырье. Следовательно, рекомендованные условия можно использовать для качественного анализа сбора. Однако ни одна из зон адсорбции не соответствует имеющимся в наличии СО по значениям удерживания и окраске пятен (табл. 11).

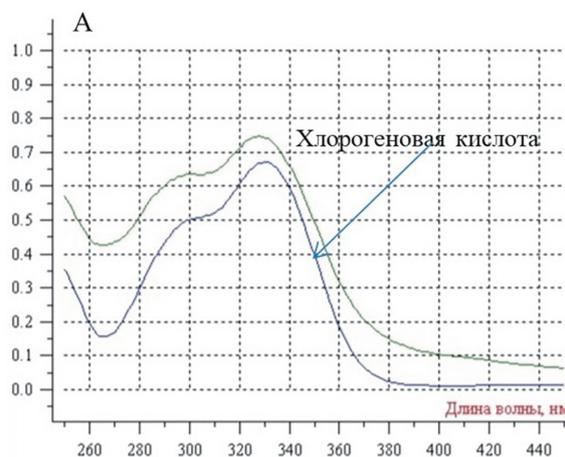


Рис. 4. УФ-спектры СО хлорогеновой кислоты 0,001% и извлечения из «Грудного сбора №1»
Fig. 4. UV spectra of CO chlorogenic acid 0.001% and recovery from Pectorales species №1

Табл. 10.
Результаты количественного анализа полисахаридов и экстрактивных веществ в «Грудном сборе №1»
Table 10.
The results of a quantitative analysis of polysaccharides and extractive substances in Pectorales species №1

Содержание суммы полисахаридов в пересчете на глюкозу (в %), (n=5)	Содержание суммы экстрактивных веществ (в %), (n=5)
9,13 ± 0,47	18,98 ± 0,54

Результаты ТСХ-анализа «Проктофитола»
The results of TLC analysis of Proctofitol®

Табл. 11.
Table 11.

Стандартные образцы	Rf	Сбор «Проктофитол»	Тысячелистника трава	Кориандра плоды
Ментол	0,37	-	-	-
Тимол	0,75	-	-	-
Судан III	0,83	-	-	-
Камфора	0,28	-	-	-

Примечания: Система №3: толуол – этилацетат (95:5); проявитель: анисового альдегида раствор спиртовой серноокислый

Результаты количественного анализа антраценпроизводных и глицирризиновой кислоты в «Проктофитоле»
The results of quantitative analysis of anthracene derivatives and glycyrrhizic acid in Proctofitol®

Табл. 12.
Table 12.

Антраценпроизводные (%)			Глицирризиновая кислота (%)	
Методика по ФС «Сенны листья»	Методика по ФС «Крушины кора»		До очистки (n=5)	После очистки (n=5)
Пересчет суммы антраценпроизводных на:	Пересчет суммы антраценпроизводных на:			
Хризофановую кислоту (n=5)	Сеннозид В (n=5)	Глюкофрангулин А (n=5)		
0,54 ± 0,03	0,95 ± 0,04	1,88 ± 0,11	0,59 ± 0,04	1,10 ± 0,09

Количественный анализ антраценпроизводных в «Проктофитоле» спектральными методами был проведен по методикам из ФС.2.5.0038.15 «Сенны листья» и ФС 2.5.0014.15 «Крушины ольховидной кора» в сравнении. Также определена сумма антраценпроизводных в пересчете на сеннозид В, рекомендованный в качестве СО в Европейской Фармакопее для сенны [34]. Данные представлены в табл. 12.

Результаты показывают рациональность использования в качестве стандарта сеннозида В, что согласуется со спектром извлечения из сбора. Максимум адсорбции раствора фенолятов антраценпроизводных (523 нм) совпадает с максимумом, при котором рассчитан удельный показатель поглощения для сеннозида В (523 нм). При этом для хризофановой кислоты максимум наблюдается при $\lambda=515$ нм. [35].

Кроме того, максимум поглощения извлечения из сбора, выполненного по методике для крушины в комплексе со спиртовым раствором магния ацетата (515 нм), совпадает с максимумом, при котором рассчитан удельный показатель поглощения глюкофрангулина А (515 нм). Поэтому в качестве маркера для расчета суммы антраценпроизводных в сборе «Проктофитол» можно также рекомендовать глюкофрангулин А.

Количественный анализ глицирризиновой кислоты проводили по методике ФС.2.5.0040.15 «Солодки корни» до и после очистки сбора от антраценпроизводных. Исходя из данных табл. 12, видно, что предварительная очистка способствует более точному определению глицирризиновой кислоты, повышая возможность оценки ее содержания в сборе почти в два раза (0,59% против 1,1%).

ВЫВОДЫ

1. Проведен ТСХ-скрининг «Грудного сбора №1» и «Проктофитол» и их отдельных компонентов. При этом в основу были положены методики, представленные в ГФ РФ XIV. Были определены как основные группы БАВ, так и конкретные соединения для дальнейшего качественного и количественного анализа.
2. Проведена количественная оценка основных групп БАВ в сборах, исходя из методик, приведенных в ГФ РФ XIV. Показано, что не все маркерные соединения, регламентируемые фармакопеей для конкретных видов ЛРС, пригодны для их оценки в сборах. Показана корреляция данных ТСХ- и ВЭЖХ-анализа с данными количественного анализа.
3. Показано, что очистка сбора «Проктофитол» от антраценпроизводных путем модификации методики позволяет более полно оценить содержание глицирризиновой кислоты.
3. Определено содержание альтернативных групп (гидроксикоричных кислот) для «Грудного сбора №1», которое составило 5,25% в пересчете на розмариновую кислоту. Для «Проктофитола» в качестве альтернативного стандарта при оценке содержания антраценпроизводных был предложен сеннозид В.
4. Предложены альтернативные способы стандартизации сборов. Для «Грудного сбора №1» в качестве маркера флавоноидов был предложен гиперозид, в качестве стандарта гидроксикоричных кислот – розмариновая кислота. Для «Проктофитола» в качестве альтернативного стандарта при оценке содержания антраценпроизводных был предложен сеннозид В.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Богоявленский, А.П. Актуальные проблемы стандартизации фитопрепаратов и растительного сырья для их производства / А.П. Богоявленский, П.Г. Алексюк, А.С. Турмагамбетова, В.Э. Березин // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – С. 1184–1187.
2. Сумароков, А.Б. Препараты лекарственных трав с позиции доказательной медицины / А.Б. Сумароков // *Атмосфера. Кардиология*. – 2003. – №4. – С. 11–15.
3. Афанасьева, Т.Г. Основные маркетинговые тенденции формирования ассортимента лекарственных средств растительного происхождения на российском фармацевтическом рынке / Т.Г. Афанасьева, Н.Б. Дремова // *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация*. – 2012. – Т. 18. – №10. – С. 129.
4. Евдокимова, О.В. Сборы лекарственные. Современный взгляд на стандартизацию / О.В. Евдокимова // *Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине: сборник научных трудов международной конференции*. – Москва: ФГБНУ ВИЛАР, 2016. – С. 464–467.
5. Широкова, И. Рынок растительных фитопрепаратов – тенденции, проблемы, прогнозы / И. Широкова // *Ремедиум*. – 2013. – №4. – С. 26–32.
6. Самылина, И.А. Лекарственные растительные сборы / И.А. Самылина, А.А. Сорокина, Н.В. Пятигорская // *Фарматека*. – 2010. – №10. – С. 80–82.
7. Сакаева, И.В. Современное состояние вопроса классификации и стандартизации лекарственных форм в Российской Федерации // И.В. Сакаев, А.Н. Васильев, Н.Д. Бунятян, Е.И. Саканян, Л.А. Колганов // *Ведомости научного центра экспертизы лекарственных средств*. – 2012. – №2. – С. 52–55.
8. Государственная Фармакопея Российской Федерации / Министерство здравоохранения Российской Федерации. – 14-е изд. – Т. 1. – Москва, 2018. URL: http://resource.ruscml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/index.html (дата обращения: 07.06.2020).
9. Корсун, В.Ф. Фитотерапия. Традиции российского травничества / В.Ф. Корсун, Е.В. Корсун // Москва: Эксмо, 2010. – 897 с.
10. Разживин, Р.В. Возможность применения специфических маркеров определенных видов лекарственного растительного сырья при анализе многокомпонентных растительных сборов и фиточаев / Р.В. Разживин, В.Ю. Решетняк, А.Н. Кузьменко, О.В. Нестерова, В.А. Попков // *Вестник Московского университета. Серия 2: Химия*. – 2009. – Т. 50. – №2. – С. 129–132.
11. Тернинко, И.И. Ассортиментная оценка и подходы к контролю качества растительных сборов / И.И. Тернинко, Е.В. Вишняков, М.А. Романова // *Сборник материалов VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации»*. – Санкт-Петербург: Издательство СПбХФА, 2018. – С. 381–385.
12. Склярский, Л.Я. Лекарственные растения в быту / Л.Я. Склярский, И.А. Губанов // Москва: Рипол Классик, 2013. – 347 с.
13. Русакова, О.А. Изучение аптечного ассортимента фитопрепаратов / О.А. Русакова, И.В. Ральченко, И.Я. Герберт, С.И. Вердиева // *Фармация и фармакология*. – 2015. – №6 (13). – С. 54–59.
14. Пустовалов, А.В. Возможности новых медиа в освещении проблемы использования лекарственного растительного сырья / А.В. Пустовалов, З.В. Касьянов // *Вестник Пермской государственной фармацевтической академии: научно-практический журнал*. – 2012. – №9. – С. 201–203.
15. Пономарев, В.Д. Экстрагирование лекарственного сырья / В.Д. Пономарев // Москва: Медицина, 1976. – 203 с.
16. Евдокимова, О.В. ТСХ-анализ как способ оценки подлинности лекарственных растительных сборов / О.В. Евдокимова // *Традиционная медицина*. – 2011. – №2 (25). – С. 58–61.
17. Евдокимова, О.В. TLC method for identification of Proctophytol ® (Antihemorrhoidal tea). Method development and validation / О.В. Евдокимова, В.В. Обухова // *Материалы XIV Международного съезда «Фитофарм 2010»*, Санкт-Петербург, 1–3 июля 2010 г. – Санкт-Петербург, 2010. – С. 36.
18. Вишняков, Е.В. Фитохимический скрининг компонентов лекарственных растительных сборов / Е.В. Вишняков, М.А. Романова // *Сборник материалов IX Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего»*. – Санкт-Петербург: Изд-во СПХФУ, 2019. – №9. – С. 718–724.
19. Рабинович, В.А. Краткий химический справочник / В.А. Рабинович, З.Я. Хавин // Ленинград: Химия, 1977. – 367 с.
20. Евдокимова, О.В. Разработка и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве тысячелистника / О.В. Евдокимова // *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. – 2007. – №2. – С. 155–160.
21. Моисеев, Д.В. Определение фенольных кислот в растениях методом ВЭЖХ / Д.В. Моисеев // *Химия растительного сырья*. – 2014. – №4. – С. 171–174.
22. Никулин, А.В. Определение суммы восстанавливающих сахаров и водорастворимых полисахаридов в субстанциях растительного происхождения / А.В. Никулин, С.И. Ямщикова, О.Г. Потанина, Р.А. Абрамович // *Биофармацевтический Журнал*. – 2018. – Т. 10. – №5. – С. 42–49.
23. Корж, А.П. Исследование структуры полисахаридов мать-и-мачехи обыкновенной и разработка параметров их стандартизации: специальность 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия: диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / А. П. Корж; ГОУВПО «Самарский государственный медицинский университет». – Самара, 2012. – 158 с.
24. Куркин, В.А. Актуальные аспекты стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов / В.А. Куркин, Е.В. Авдеева, А.В. Куркина, О.Е. Правдивцева, В.Б. Браславский [и др.] // *I Межвузовская студенческая научно-прак-*

- тическая конференция «Современные проблемы фармакогнозии», Самара, 21 октября 2016 г. – Самара, 2016. – С. 163–180.
25. Куркин, В.А. Актуальные аспекты стандартизации лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные, слабительных препаратов на их основе / В.А. Куркин, Е.В. Авдеева, И.К. Петрухина, А.А. Шмыгарева, А.И. Агапов [и др.] // *Фундаментальные исследования*. – 2015. – №2. – С. 1424–1431.
26. Куркин, В.А. Стандартизация корней солодки голой и лекарственного препарата «солодки экстракт жидкий» / В.А. Куркин, М.В. Егоров // *Фундаментальные исследования*. – 2014. – №6 (часть 6). – С. 1232–1236.
27. Еремина, А.А. Химические методы обнаружения и количественного определения антраценпроизводных в растительном сырье / А.А. Еремина, Н.А. Романенко // *Оренбургские горизонты: прошлое настоящее, будущее*. – 2019. – С. 308–311.
28. Хортецкая, Т.В. Определение содержания гидроксикоричных кислот в листьях подорожников большого (*Plantago major* L.) и среднего (*Plantago media* L.) / Т.В. Хортецкая, Г.П. Смойловская, А.В. Мазулин, Г.В. Мазулин // *Химия растительного сырья*. – 2014. – №2. – С. 177–180.
29. Сорокина, О.Н. Спектрофотометрическое определение суммарного содержания флавоноидов в лекарственных препаратах растительного происхождения / О.Н. Сорокина, Е.Г. Сумина, А.В. Петракова, С.В. Барышева // *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология*. – 2013. – Т. 13. – №3. – С. 10.
30. Хусаинова, А.И. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в сборе «Фитогепатол №3» / А.И. Хусаинова // *Материалы докладов Всероссийской конференции с международным участием «Молодые ученые – медицине»*, Самара, 23 октября 2013 г. Самара: ООО «ЦПР», 2013. – С. 307–311.
31. Wang H, Provan GJ, Helliwell K. Determination of rosmarinic acid and caffeic acid in aromatic herbs by HPLC. *Food Chem.* 2004; 87 (2): 307-11.
32. Музычкина, Р.А. Качественный и количественный анализ основных групп БАВ в лекарственном растительном сырье и фитопрепаратах / Р.А. Музычкина, Д.Ю. Корулькин, Ж.А. Абилов // *Алматы: Қазақ университеті*. – 2004. – С. 188.
33. Никулин, А.В. Определение суммы полисахаридов и свободных сахаров в листьях мать-и-мачехи методом УФ-спектрофотометрии / А.В. Никулин, Г.С. Терещенко, О.Г. Потанина // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. – 2016. – Т. 19. – №2. – С. 3.
34. *European Pharmacopoeia*. 8th ed. Strasbourg: EDQM Council of Europe; 2014.
35. Куркин, В.А. Новые подходы к стандартизации листьев сенны / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева. – DOI: 10.14258/jcrptm.201601421 // *Химия растительного сырья*. – 2016. – №1. – С. 71–77.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Инна Ивановна Тернинко, доктор фармацевтических наук, доцент, начальник испытательной лаборатории (Центр контроля качества лекарственных средств), профессор кафедры фармацевтической химии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: inna.teminko@pharminnotech.com

Евгений Владимирович Вишняков, аспирант 1-го года обучения Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: evgeniy.vishnyakov@pharminnotech.com

Маргарита Алексеевна Романова, студентка 5-го курса Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: romanova.margarita@pharminnotech.com

Юлия Эдуардовна Генералова, химик-аналитик испытательной лаборатории (Центр контроля качества лекарственных средств) Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: generalova.yuliya@pharminnotech.com

ADDITIONAL INFORMATION ABOUT AUTHORS

Inna I. Terninko, D.Sc. in Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Head of the Testing Laboratory of the Center for Drug Quality Control, Professor of the Pharmaceutical Chemistry Department, Saint Petersburg Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia; e-mail: inna.terninko@pharminnotech.com

Evgeny V. Vishnyakov, the 1st year graduate student of the Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia; e-mail: evgeniy.vishnyakov@pharminnotech.com

Margarita A. Romanova, 5th year student of the Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia; e-mail: romanova.margarita@pharminnotech.com

Yulia E. Generalova, analyst chemist at the testing laboratory of the Center for Quality Control of Medicines of the Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia; e-mail: generalova.yuliya@pharminnotech.com

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов

Assessment of approaches to standardization of herbal teas

©2020. I.I. Terninko¹, E.V. Vishnyakov¹, M.A. Romanova¹, Yu.E. Generalova¹

¹ Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia

* e-mail: inna.terninko@pharminnotech.com

Received June 03, 2020;

Revised June 18, 2020;

Accepted June,29 2020

The State Pharmacopoeia of the Russian Federation 14th ed. suggests to standardize herbal teas using the procedures presented in the pharmacopoeia monographs but this approach is not always relevant due to complexity of this dosage form composition.

The purpose of investigation is to estimate quality of herbal teas utilizing monographs recommended by the State Pharmacopoeia of the Russian Federation 14th ed. for the individual components of teas and suggest feasible alternative approaches to standardization of multicomponent herbal drugs.

The objects of investigation – Pectorales species № 1 and Proctofitol®. Detection of substances was carried out using chromatographic (TLC and HPLC) and spectrophotometric methods recommended by the State Pharmacopoeia of the Russian Federation 14th ed. for individual components measured in term of marker biological active substances or substances found in the course of quality analysis.

It has been found out that the content of flavonoids measured in terms of giperosid surpasses over the equivalent figure in terms of luteolin in the extractions from Pectorales species №1. The content of hydroxycinnamic acids in the same tea measured in terms of rosmarinic acid surpasses over the equivalent figure in terms of chlorogenic acid. Analysis of anthracene derivates in the Proctofitol® has shown that the adsorption maximum of phenolate solution of anthracene derivates (523 nm) coincides with maximum by which was calculated the mass attenuation coefficient of sennoside B (523 nm) (for chrysophanic acid $\lambda=515$ nm) and the maximum of adsorption of extraction from the tea with using alcohol solution of magnesium acetate (515 nm) coincides with maximum by which was calculated the mass attenuation coefficient of glucofrangulin A. Preliminary cleaning Proctofitol® off anthracene derivates allowed to estimate the content of glycyrrhizic acid more completely.

The giperosid was suggested as a marker substance for determination of flavonoids, rosmarinic acid was suggested as a standard for hydroxycinnamic acids in Pectorales species № 1. The sennoside B was suggested as a marker for estimating of content of anthracene derivates in the Proctofitol® and the necessity of cleaning this tea off anthracene derivates when defining glycyrrhizic acid was proven.

KEYWORDS: herbal teas; standardization; spectrophotometry; thin-layer chromatography; high performance liquid chromatography; marker substances; medicinal plant materials