



ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

УДК 615.32: 547.97+543.544

РАЗРАБОТКА НОВЫХ ПОДХОДОВ К СТАНДАРТИЗАЦИИ СБОРА «ТРОСТИНКА»

THE DEVELOPMENT OF NEW APPROACHES OF STANDARDIZATION OF COLLECTION «CANE»

В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, А.Н. Саньков
V.A. Kurkin, A.A. Shmygareva, A.N. Sankov

Оренбургский государственный медицинский университет
Россия, 460000, г. Оренбург, ул. Советская, 6

Orenburg National Medicine University
Russia, 460000, Orenburg, Soviet St., 6

E-mail: a.shmygareva@gmail.com

Ключевые слова: сбор «Тростинка», крушина ломкая, *Frangula alnus* Mill., кора, антраценпроизводные, франгулин А, стандартизация, спектрофотометрия, тонкослойная хроматография.

Key words: species «Cane», *Frangula alnus* Mill., bark anthracenderivatives, frangulin A, standardization, spectrophotometry, thin-layer chromatography.

Аннотация. В данной работе рассматривается сбор «Тростинка», содержащий в своем составе кору крушины, корни одуванчика, плоды укропа, плоды фенхеля, листья мяты перечной. Слабительное действие сбора «Тростинка» обусловлено наличием антраценпроизводных, содержащиеся в коре крушины ломкой. Учитывая значительный удельный вес в составе сбора «Тростинка» компонентов, содержащих антраценпроизводные, разработка новых подходов к стандартизации актуальна. Методики к стандартизации слабительного сбора «Тростинка» разработаны на основе результатов химического исследования коры крушины ломкой. Эти подходы заключаются в определении антраценпроизводных с помощью спектрофотометрии при аналитической длине волны 524 нм и использовании франгулина А в качестве стандартного образца, а также с помощью тонкослойной хроматографии. Содержание суммы антраценпроизводных в сборе «Тростинка» варьируют в пределах от 4.50 % до 5.00% (в пересчете на франгулин А).

Resume. In this work there is considered species «Cane», which containing in its composition of *Frangula alnus* bark, of *Taraxacum officinale* roots, *Anethum graveolens* fruits, *Foeniculum vulgare* fruits, *Mentha piperita* leaves. Laxative action of the species «Cane» is due to the presence of anthracenderivatives contained in the bark of *Frangula alnus*. Given the significant specific weight in the composition «Cane» of components containing anthracenderivatives, exactly these substances have a laxative effect, the development of new approaches to standardization is important. The methods for standardization of laxative species «Cane» were developed on the base of results of chemical investigations of *Frangula alnus* bark. These approaches consist in the determination of anthracenderivatives by means of spectrophotometry at analytical wavelength 524 nm and using of frangulin A as standard sample, as well as by thin layer chromatography. The contents of the total anthracenderivatives in species «Cane» are varied with 4.50 % to 5.00% (calculated on frangulin A).

Введение

В последние десятилетия во всем мире наблюдается повышенный интерес практической медицины к лекарственным препаратам, получаемым из растительного сырья. Эта тенденция характерна не только для стран, традиционно и широко использующих лекарственные растения (Индия, Китай и др.), но и государств с высокоразвитой химико-фармацевтической промышленностью, имеющих большие возможности для проведения широкомасштабных работ в области синтеза лекарственных средств [Чешуев и др., 2002].



К настоящему времени накоплены сведения о биологической активности около 12000 химических соединений, выделенных из лекарственных растений, с полностью или частично установленной структурой, относящихся к различным классам природных веществ. В результате совокупности химических реакций, протекающих в растительной клетке, в растениях накапливаются продукты первичного и вторичного метаболизма, которые и определяют множественный и гармоничный характер их действия на человеческий организм. По этой причине препараты растительного происхождения, как правило, менее аллергенны, чем синтетические лекарственные средства, что позволяет применять их при хронических заболеваниях в течение длительного времени. Большой популярностью пользуется лекарственное растительное сырье, содержащее антраценпроизводные [Государственная фармакопея СССР 1990; Куркин, 2007; Куркин, 2009]. Это объясняется применением данной группы растений для лечения хронических запоров. Кроме того, популярность фитопрепаратов на основе этих растений обусловлена низкой стоимостью по сравнению с другими слабительными средствами. В этом ряду традиционно рассматриваются крушина слабительная (*Rhamnus cathartica* L., семейство Крушиновые – *Rhamnaceae*). Однако возможности использования растений, содержащих антраценпроизводные, могут быть гораздо шире [Муравьева и др., 2002; Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование, 1988].

В настоящее время все чаще используются целебные чайные напитки для очищения организма, улучшения функций кишечника, почек, суставов, что способствует удалению из организма метаболитов и продуктов распада, а также нормализации обменных процессов. Наибольшей популярностью среди очищающих напитков пользуется сбор «Тростинка», в состав которого входят: кора крушины, корни одуванчика, плоды укропа, плоды фенхеля, листья мяты перечной.

Ранее нами была разработана методика количественного определения суммы антраценпроизводных в коре крушины ломкой, предусматривающая пересчет содержания анализируемых веществ на франгулин А, являющийся доминирующим антрагликозидом данного растения [Куркин и др., 2010; Куркин и др., 2012; Куркин и др., 2014]. Учитывая то обстоятельство, что кора крушины ломкой входит в состав сбора «Тростинка», нами сделано предположение о возможности применения разработанных подходов к стандартизации коры крушины ломкой к сбору «Тростинка».

Цель

Цель настоящих исследований – разработка методик качественного и количественного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Тростинка».

Задачи исследования:

1. Разработка методик качественного определения антраценпроизводных в сборе «Тростинка».
2. Разработка методик количественного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Тростинка».

Материалы и методы исследования

Объектом исследования служило сырье промышленного образца сбора «Тростинка» ЗАО Фирма «Здоровье» (г. Москва) (2013 г.), коры крушины ломкой («ОАО Красногорсклексредства») (2013 г.).

Электронные спектры измеряли на спектрофотометрах «Specord 40» (Analytik Jena) и «UNICO – 2800» в кюветах с толщиной слоя 10 мм.

Ранее с целью обоснования методических подходов к стандартизации коры крушины ломкой проведено исследование по выделению веществ из сырья данного растения [Куркин и др., 2010; Куркин и др., 2012]. Было установлено, что доминирующими компонентами являются 6-О- α -L-рамнопиранозид франгула-эмодина (франгулин А) и 6-О- β -О-апиофуранозид франгула-эмодина (франгулин В) (антраценпроизводные), причем было обосновано использование в методиках анализа коры крушины ломкой франгулина А в качестве стандартного вещества [Куркин и др., 2010; Куркин и др., 2012].

Результаты и их обсуждение

В ходе разработки методики качественного определения сбора «Тростинка» использовали ТСХ-анализ. Так как основное фармакологическое действие обусловлено наличием коры крушины ломкой в составе данного сбора, то тонкослойная хроматография основана на обнаружении и идентификации доминирующего антраценпроизводного в коре крушины ломкой – франгулина А.

В ходе разработки методики были проведены исследования по выбору оптимальных условий хроматографирования, позволяющие эффективно разделить основные компоненты сырья и однозначно идентифицировать доминирующее БАС – франгулин А.

В результате проведенных опытов с различными хроматографическими системами (хлороформ-этанол, хлороформ-этанол, хлороформ-этанол-вода в различных соотношениях) предпочтение было отдано системе растворителей хлороформ-этанол-вода (26:14:3), обеспечивающей наиболее четкое разделение антраценпроизводных, в том числе и доминирующего компонента 6-О- α -L-рамнопиранозид франгула-эмодин (франгулин А). При просмотре хроматограммы в УФ-спектре при длине 254 нм 6-О- α -L-рамнопиранозид франгула-эмодин обнаруживается в виде доминирующего пятна с оранжево-красной флуоресценцией (R_f около 0.7).

Для обнаружения вещества хроматограмму просматривали в видимом свете, УФ-свете (254 и 366 нм) и после проявления щелочным раствором диазобензолсульфокислоты. При обработке реактивом хроматографические пластинки нагревали при температуре 110°C в течение 5 минут в сушильном шкафу. При этом 6-О- α -L-рамнопиранозид франгула-эмодин проявляется в виде хорошо заметного пятна оранжево-красного цвета (рис. 1).

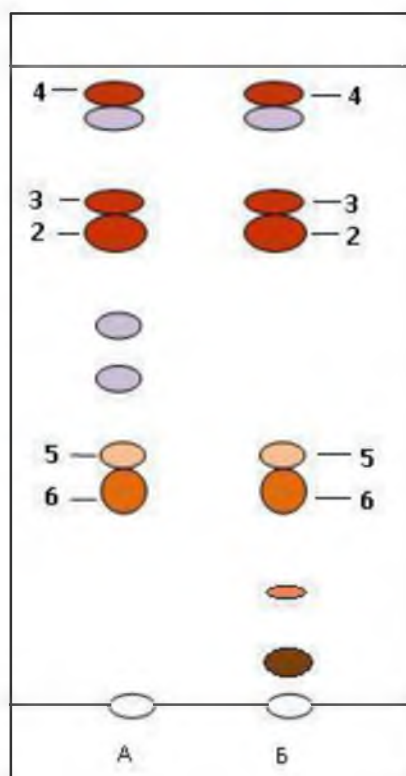


Рис. 1. Хроматографический профиль водно-спиртового извлечения из коры крушины ломкой (А) и водно-спиртового извлечения из сбора «Тростинка» (Б): франгулин А (2), франгулин В (3), франгула-эмодин (4), глюкофрангулин А (5), глюкофрангулин В (6)

Fig. 1. The chromatographic profile of the hydroalcoholic extract of *Frangula alnus* bark (A) and hydroalcoholic extract from the species «Cane» (B): frangulin A (2), frangulin B (3), Frangula-emodin (4), glucofrangulin A (5), glucofrangulin B (6)

В ходе разработки методики количественного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Тростинка» изучены УФ-спектры растворов водно-спиртовых извлечений из данного сбора, растворов водно-спиртовых извлечений из коры крушины ломкой, а также раствора франгулина А.

Исследование УФ-спектров показало, что максимум поглощения щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из сбора «Тростинка» в длинноволновой области спектра находится при 524 ± 2 нм (рис. 2), что характерно и для щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из коры крушины ломкой (рис. 3). В длинноволновой области электронного спектра щелочно-аммиачного раствора франгулина А также наблюдается четкий максимум поглощения при 524 ± 2 нм (рис. 4). Следовательно, в качестве аналитической длины волны может быть использовано значение 524 нм, а стандартным образом может служить доминирующий антрагликозид – франгулин А, причем в случае отсутствия стандарта в расчетной формуле может быть использовано теоретическое значение удельного показателя поглощения ($E^{1\%}_{1\text{см}}$) – 180. Интересно, что в Европейской фар-

макопее также предусмотрено использование значения $E_{1\text{см}}^{1\%}$ (204), но для глюкофрангулина А (аналитическая длина волны – 515 нм).

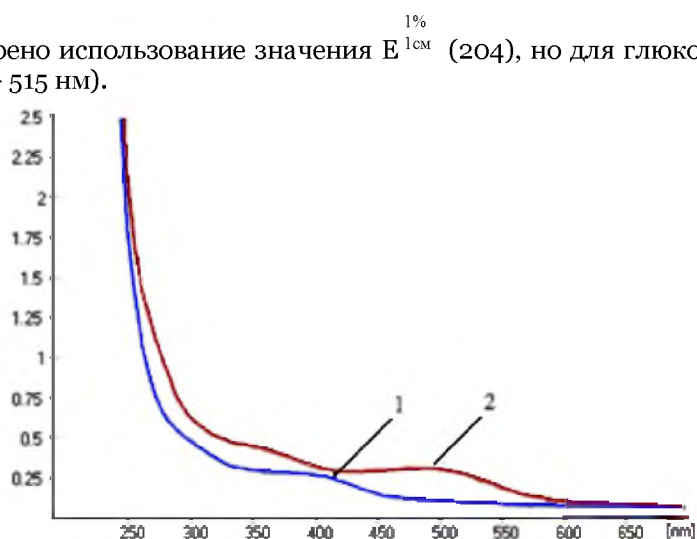


Рис. 2. Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора (2) водно-спиртового извлечения из сбора «Тростинка»

Fig. 2. Electronic spectra of the initial solution (1) and alkali-ammoniac solution (2) aqueous-alcoholic extract from the species «Cane»

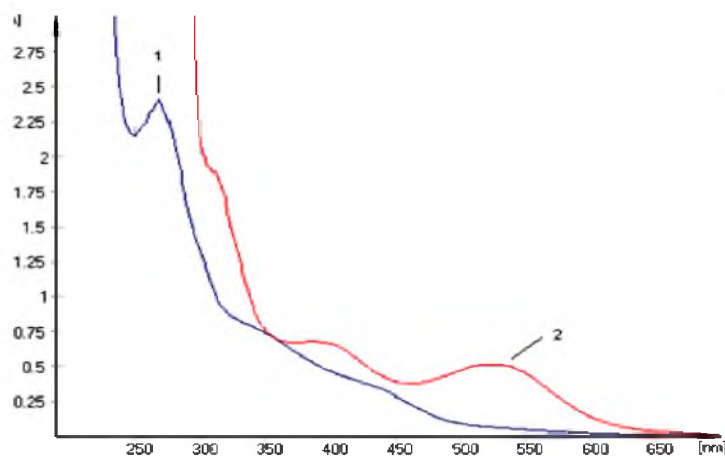


Рис. 3. Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора (2) водно-спиртового извлечения из коры крушины ломкой

Fig. 3. Electronic spectra of the initial solution (1) and alkali-ammoniac solution (2) aqueous-alcoholic extract of *Frangula alnus* bark

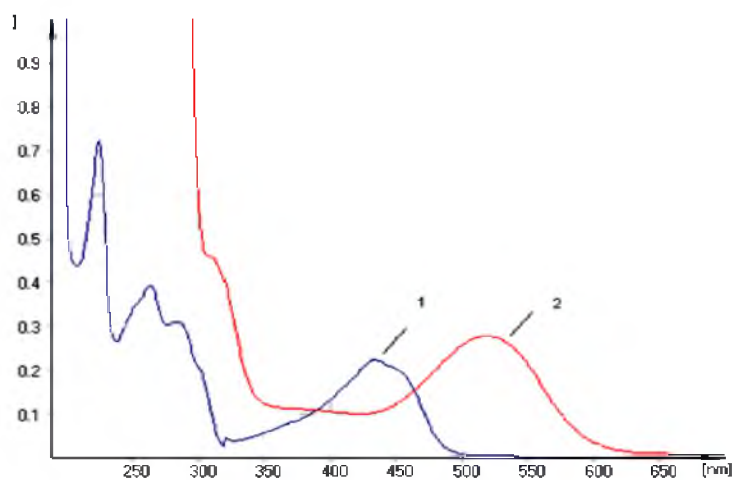


Рис. 4. Электронные спектры исходного раствора франгулина А (1) и щелочно-аммиачного раствора франгулина А (2)

Fig. 4. Electronic spectra of the initial solution frangulin A (1) and the alkali-ammoniac solution frangulin A (2)



С целью разработки методики количественного определения суммы антраценпроизводных нами определены оптимальные условия экстракции антраценпроизводных из сбора «Тростинка»: экстрагент 40% этиловый спирт; соотношение «сырье-экстрагент» – 1:50; время экстракции – извлечение на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 90 мин.

Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Тростинка»

Аналитическую пробу сбора измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г измельченного сбора (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 40% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до ±0.01 г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 мин. Затем колбу закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («красная» полоса) и охлаждают в течение 30 мин. Испытуемый раствор готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор А). Испытуемый раствор А помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 524 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную.

Содержание суммы антраценпроизводных в сборе «Тростинка» в пересчете на франгулин А и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \times 50 \times 50 \times 100}{m \times 180 \times (100 - W)}, \quad (1)$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;
 W – потеря в массе при высушивании в процентах;
 180 – удельный показатель поглощения РСО франгулина А.

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы антраценпроизводных в сборе «Тростинка» представлены в таблице 1. Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Тростинка» с доверительной вероятностью 95% составляет ±5.12 % (табл. 1).

Таблица 1
 Table. 1

Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в сборе «Тростинка»
Metrological characteristics of the methods of quantitative determination of the amount of anthracenderivatives in the species «Cane»

f	\bar{X}	S	P,%	t(P,f)	ΔX	E,%
10	5.00	0.1148	95	2.23	±0.2560	±5.12

С использованием разработанной методики нами проанализирован ряд образцов сбора «Тростинка» и при этом определено, что содержание суммы антраценпроизводных варьирует от 4.5% до 5.0%, что позволяет рекомендовать в качестве нижнего предела для исследуемого сбора содержание суммы антраценпроизводных не менее 4.5%.

Выводы

1. Разработаны методики стандартизации сбора «Тростинка», заключающиеся в определении содержания суммы антраценпроизводных и использовании в методиках анализа стандартного образца франгулина А.



2. Разработана методика качественного определения сбора «Тростинка» с использованием тонкослойной хроматографии.
3. Разработана методика количественного определения суммы антраценпроизводных в пересчете на франгулин А в сборе «Тростинка» с использованием 40% этилового спирта в качестве экстрагента и УФ-спектроскопии при аналитической длине волны 524 нм.
4. Содержание суммы антраценпроизводных в сборе «Тростинка» варьирует от 4.50% до 5.00%.

Список литературы References

- Государственная фармакопея СССР. Одиннадцатое издание. Вып. 2, Москва, 1990, 400.
Gosudarstvennaya farmakopeya SSSR. 1990. [State Pharmacopoeia of USSR]. Odinnadcatoe izdanie. Вып. 2, Moskva, 400. (in Russian)
- Куркин В.А. 2007. Фармакогнозия: Учебник для студентов фармацевтических вузов, Самара, ООО «Офорт», 1239.
Kurkin V.A. 2007. Farmakognoziya: Uchebnik dlya studentov farmatsevticheskikh vuzov. [Pharmacognosy: Textbook for students of pharmaceutical universities], Samara, ООО «Ofort», 1239. (in Russian)
- Куркин В.А. 2009. Основы фитотерапии: Учебное пособие для студентов фармацевтических вузов, Самара, ООО «Офорт», 963.
Kurkin V.A. 2009. Osnovy fitoterapii: Uchebnoe posobie dlya studentov farmatsevticheskikh vuzov, Samara, ООО «Ofort» [Fundamentals of herbal medicine: textbook for students of pharmaceutical universities], 963. (in Russian)
- Куркин В.А., Шмыгарева А.А. 2010. Определение антраценпроизводных в коре крушины ломкой. Фармация, 58 (8): 9–12.
Kurkin V.A., Shmygareva A.A. 2010. Opredelenie antratsenproduzvodnykh v kore krushiny lomkoy. [The definition of anthracene in bark of Frangula alnus]. Farmatsiya 58 (8): 9–12. (in Russian)
- Куркин В.А., Шмыгарева А.А. 2012. Фитохимическое исследование коры крушины ломкой. Медицинский альманах, 1 (20): 218–220.
Kurkin V.A., Shmygareva A.A. 2012. Fitokhimicheskoe issledovanie kory krushiny lomkoy. [Phytochemical investigation of bark Frangula alnus] Meditsinskiy almanakh. 1 (20): 218–220. (in Russian)
- Куркин В.А., Шмыгарева А.А., Рязанова Т.К., Саньков А.А. 2014. Определение суммы антраценпроизводных в препарате «Крушины экстракт таблетки». Химико-фармацевтический журнал, 48(7): 41–43.
Kurkin V.A., Shmygareva A.A., Ryazanova T.K., Sankov A.A. 2014. Opredelenie summy antratsenproduzvodnykh v preparate «Krushiny ekstrakt tabletki» [Determination of the amount of anthracene in drug «Frangula alnus extract pills»]. Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal. 48(7): 41–43. (in Russian)
- Муравьева Л.А., Самылина И.А., Яковлев Г.П. 2002. Фармакогнозия: Учебник, Медицина, 656.
Muraveva L.A., Samylina I.A., Yakovlev G.P. 2002. Farmakognoziya: Uchebnik, Meditsina [Pharmacognosy: Textbook] 656. (in Russian)
- Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. 1988. Наука, 465.
Rastitelnye resursy SSSR: Tsvetkovye rasteniya, ikh khimicheskij sostav, ispolzovanie. 1988. [Plant resources of the USSR: Flowering plants, their chemical composition and use]. Nauka, 465. (in Russian)
- Чуешов В.И., Чернов М.Ю., Хохлова Л.М. 2002. Промышленная технология лекарств: учебник для вузов. Том 2. Харьков, 650.
Chexhuev V.I., Chernov M.Yu., Khokhlova L.M. 2002. Promyshlennaya tekhnologiya lekarstv: Uchebnik dlya vuzov. [Industrial technology of drugs: textbook for high schools]. Tom 2. Kharkov, 650. (in Russian)