

УДК 615.322: 582.736: 615.07

3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

DOI: 10.37903/vsgma.2022.4.31 EDN: YYLGXI

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТРАВЫ АСТРАГАЛА ПЕРЕПОНЧАТОГО *ASTRAGALUS MEMBRANACEUS* L.© Лабковская М.В.¹, Куркин В.А.², Шмыгарева А.А.¹, Саньков А.Н.¹¹Оренбургский государственный медицинский университет, Россия, 460000, Оренбург, ул. Советского, 6²Самарский государственный медицинский университет, Россия, 443079, Самара, ул. Гагарина, 18*Резюме*

Цель. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в траве астрагала перепончатого *Astragalus membranaceus* L.

Методика. Объектами исследования служили образцы травы астрагала перепончатого (*Astragalus membranaceus* L.) производства ООО «Компания Хорст», Россия, г. Барнаул, 2021 год; ООО «Русские корни», Россия, Ростовская обл., 2020 год; ООО «Вита», Россия, г. Барнаул, 2021 год. Электронные спектры измерялись на УФ-спектрофотометре UNICO 2800, ультразвуковая ванна Вилитек VBS, водяная баня «ЛАБ-ТБ-6/Ш», испаритель ротационный «ИР-1 ЛТ».

Результаты. В представленной статье предложен новый метод количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид для сырья астрагала перепончатого (*Astragalus membranaceus* L.). Данный метод основан на использовании экстракции биологически активных веществ в режиме вакуумного кипения. При использовании данного метода максимальное содержание суммы флавоноидов (в пересчете на гиперозид) составило 4,80%. Предложенная нами методика проста в исполнении и требует минимальной затраты времени на анализ, что обеспечивает максимально возможную экстракцию действующих веществ.

Заключение. В процессе разработки методики количественного определения действующих веществ для травы астрагала перепончатого, были подобраны оптимальные условия экстрагирования сырья, которые позволяют значительно увеличить выход флавоноидов из сырья с минимально затраченным временем на проведение исследования.

Ключевые слова: астрагал перепончатый, *Astragalus membranaceus* L., флавоноиды, гиперозид, стандартизация, спектрофотометрия

DEVELOPMENT OF A METHOD FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE HERB *ASTRAGALUS MEMBRANACEUS* L.Labkovskaya M.V.¹, Kurkin V.A.², Shmygareva A.A.¹, Sankov A.N.¹¹Orenburg State Medical Academy, Orenburg, 6, Sovetskay St., 460000, Orenburg, Russia²Samara State Medical University, Samara, 18, Gagarin St., 443079, Samara, Russia*Abstract*

Objective. Development of a technique for quantitative determination of the amount of flavonoids in the herb *Astragalus membranaceus* L.

Methods. The objects of the study were samples of the grass astragalus woolly (*Astragalus membranaceus* L.) produced by LLC "Company Horst", Russia, Barnaul, 2021; LLC "Russian Roots", Russia, Rostov region, 2020; LLC "Vita", Russia, Barnaul, 2021. Electronic spectra were measured using a UNICO 2800 UV spectrophotometer, Vilitek VBS ultrasonic bath, LAB-TB-6/Sh water bath, IR-1 LT rotary evaporator.

Results. In the present article, a new method for quantifying the amount of flavonoids in terms of hyperoside is proposed for the raw materials of *Astragalus membranaceus* (*Astragalus membranaceus* L.). This method is based on the use of extraction of biologically active substances in the vacuum boiling mode. When using this method, the maximum content of the total flavonoids (calculated on hyperoside) was 4.80%. The proposed method is simple in execution and requires minimal time for analysis and provides the maximum possible extraction of active substances.

Conclusions. In the process of developing a methodology for the quantitative determination of active substances for the herb of *Astragalus membranous*, optimal conditions for extracting raw materials were selected, significantly increasing the output of flavonoids from raw materials with minimal time spent on the study.

Keywords: *Astragalus membranaceus* L., flavonoids, hyperoside, standardization, spectrophotometry

Введение

В лекарственной терапии большинства заболеваний используют преимущественно препараты растительного происхождения как в комплексной, так и в монотерапии. Этот факт объясняется тем, что многие природные соединения (алкалоиды, карденолиды, флавоноидные гликозиды, ацилкумарины и др.), несмотря на высокий уровень развития органической химии, синтезировать и сочетать уникальный комплекс веществ невозможно, либо экономически невыгодно. И соответственно в последнее десятилетие во всем мире наблюдается повышенный интерес практической медицины к лекарственным препаратам, получаемым из растительного или животного сырья. В любом растении содержится комплекс биологически активных веществ, начиная от неорганических и заканчивая белками, ферментами, пигментами, витаминами, фитонцидами. Все эти вещества переходят в экстракты, поэтому галеновые препараты оказывают разностороннее физиологическое действие и представляют собой группу ценных лекарственных средств, занимающую важное место в современном лекарственном арсенале [3, 11, 12]. Значительную долю лекарственных препаратов растительного происхождения на фармацевтических производствах получают методом экстракции, поэтому экстракция лекарственного растительного сырья является одним из наиболее важных этапов в процессе разработки лекарственных препаратов на растительной основе [4-6,13]. Наиболее широкое распространение получили фармакопейные методики, такие как: мацерация, перколяция, реперколяция [4, 8]. На наш взгляд, необходимо усовершенствовать методики стандартизации для определения количественного содержания. Предложенный нами метод экстрагирования в режиме вакуумного кипения решает вопрос затраты времени на проведения анализа и увеличивает выход действующих веществ, по сравнению с фармакопейными методами.

В процессе вакуумного кипения, разрыхлению подвергаются более глубокие слои структуры материала, что способствует лучшему смачиванию и пропитке сырья экстрагентом, а также создаются наиболее благоприятные условия для эффективной экстракции. [3, 7, 9, 10].

Целью исследования стала разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в траве астрагала перепончатого *Astragalus membranaceus* L.

Методика

Исследование прямого спектра водно-спиртового извлечения из травы астрагала перепончатого с 3% раствором алюминия хлорида показало наличие интенсивный максимум поглощения в области спектра 399 ± 2 нм, что характерно и для электронного спектра гиперозида. Таким образом, целесообразно рассчитывать содержание суммы флавоноидов в траве астрагала перепончатого, в пересчете на доминирующий флавоноид – гиперозид, причем в случае отсутствия стандарта в расчетной формуле может быть использовано теоретическое значение удельного показателя поглощения ($E^{1\text{см}}_{1\%}$) - 330. В ходе исследования и поиска оптимальных условий экстракции, были опробованы методы мацерации, а также мацерации с использованием ультразвуковой бани [1] и предложенный нами метод экстракции в режиме вакуумного кипения. Варьировались показатели, которые существенно влияют на выход БАВ, такие как концентрация экстрагента (спирта этилового), время экстракции, а также использование ультразвуковой бани и ротационного испарителя (табл. 1). Электронные спектры снимали с помощью УФ-спектрофотометра UNICO 2800 (рис. 1).

Методика количественного определения суммы флавоноидов в водно-спиртовом извлечении травы астрагала перепончатого. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 100 мл, 70% спирта этилового. Колбу закрывают пробкой, взвешивают с точностью до $\pm 0,01$, помещают в ротационный испаритель (умеренное кипение) в течение 10 мин., при температуре 60°C . После чего взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение

фильтруют через бумажный фильтр («красная» полоса). Испытуемый раствор готовят следующим образом: 1,0 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляют 2,0 мл 3% алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки 96% спиртом этиловым. Измеряют оптическую плотность на спектрофотометре через 40 мин., при длине волны 399 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, полученный следующим образом: 1,0 мл извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора 96% спиртом этиловым до метки.

Таблица 1. Влияние различных факторов на полноту извлечения из травы астрагала перепончатого (*Astragalus membranaceus* L.)

Концентрация этилового спирта, %	Соотношение «сырье: Экстракт»	Время экстракции, мин	Содержание суммы флавоноидов, %
70	1:100	40 мин. водяная баня	3,70±0,02
70	1:100	30 мин. водяная баня	3,00±0,02
40	1:100	30 мин. водяная баня	2,50±0,03
96	1:100	30 мин. водяная баня	1,30±0,03
70	1:100	90 мин. водяная баня	4,20±0,04
70	1:100	10 мин. вакуумное кипение	4,80±0,04

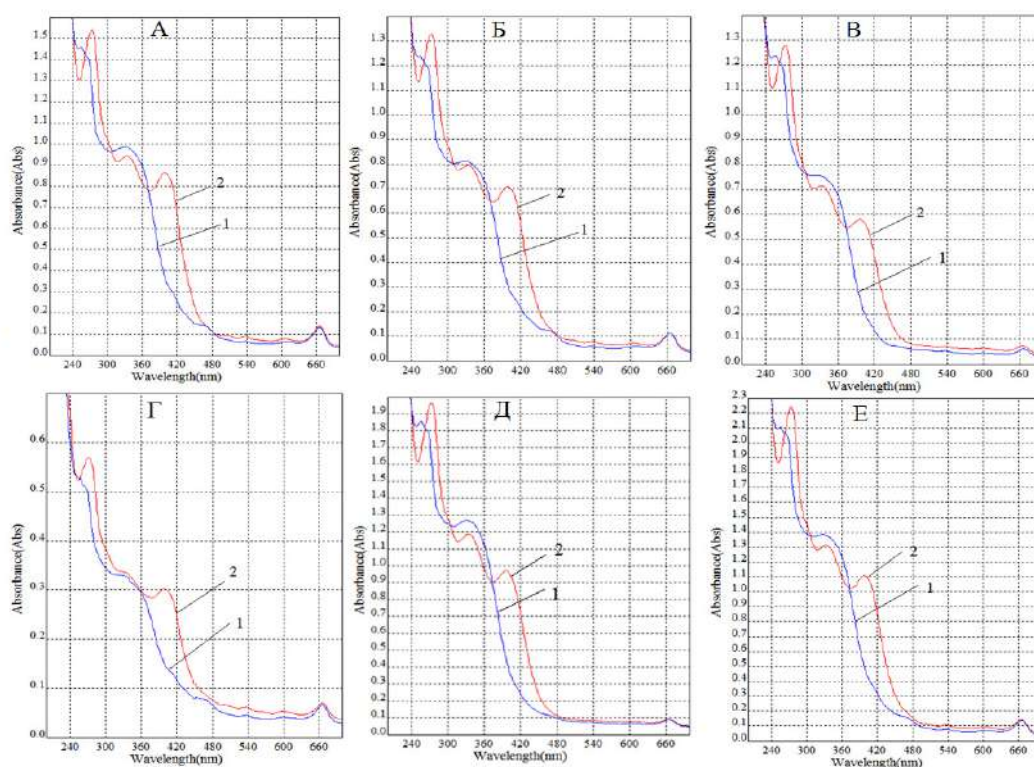


Рис. 1. Электронные спектры раствора водно-спиртового извлечения травы (1) астрагала перепончатого с 3% раствором алюминия хлорида (2). А- мацерация 70% спиртом 40 мин на водяной бане; Б - мацерация 70% спиртом 30 мин на водяной бане ;В- мацерация 40% спиртом 30 мин на водяной бане; Г - мацерация 96% спиртом 30 мин на водяной бане; Д - мацерация 70% спиртом 90 мин на водяной бане; Е- режим вакуумного кипения 70% спирт 10 мин.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате количественного определения суммы флавоноидов методом прямой спектрофотометрии травы астрагала перепончатого, содержание рассчитывали в % по формуле:

$$X = \frac{D \times 25 \times 100 \times 100}{m \times 330 \times (100 - W) \times 2}$$

, где D – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса сырья, г; 330 – удельный показатель преломления гиперозид; W – потеря в массе при высушивании, в процентах.

Оптимальными условиями экстрагирования были выявлены: соотношение «сырье: экстрагент» 1:100, экстрагент – спирт 70%, время экстракции – 10 мин. в режиме вакуумного кипения при $t=60^\circ\text{C}$. Сумма флавоноидов (в пересчете на гиперозид) составила $4,8\% \pm 0,04$. Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы флавоноидов в режиме вакуумного кипения в сырье астрагала перепончатого представлены в табл. 2.

Таблица 2. Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в сырье астрагала перепончатого (*Astragalus membranaceus* L.)

f	\bar{X}	S	$P, \%$	$t(P,f)$	ΔX	$E, \%$
10	4,80	0,1121	95	2,23	$\pm 0,2501$	$\pm 5,21$

Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы флавоноидов составляет $\pm 5,21\%$.

Вывод

В представленной статье представлена разработанная авторами методика спектрофотометрического количественного определения суммы флавоноидов в траве астрагала перепончатого (в пересчете на гиперозид) при использовании экстракции в режиме вакуумного кипения, в течение 10 мин. при температуре 60°C . Содержание суммы флавоноидов в сырье равно $4,80\%$. Методика, в сравнении с фармакопейными методами позволяет существенно сократить время исследования и при этом получить достаточно высокое содержание действующих веществ.

Литература (references)

1. Астрагал. При диабете, болезнях сердца, печени, нарушениях нервной системы URL: <https://www.rulit.me/books/astragal-pri-diabete-boleznyah-serdca-pecheni-narusheniyah-nervnoj-sistemy-read-455089-1.html> (дата обращения 01.08.2022).
2. Акопян В.Б., Ершов Ю.А. Основы взаимодействия ультразвука с биологическими 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. Baumana, 2005. (in Russian)]
3. 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 lekarstvennyh preparatov iz rastitel'nogo i zhitvotnogo 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)]
4. 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. Development of numerical quality indicators for standardization of the herb astragalus woolly-flowered (*Astragalus dasyanthus* L.) // Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2020. – V.19, N.2. – P. 171-178. (in Russian.)]
5. 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.)]
6. 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. Studying the possibility of identifying a new biologically active

- substance of cardioprotective action // Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2020. – V.19, N.2. – pp. 185-190. (in Russian)]
7. 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 farmaceuticheskikh vuzov. – Izd. 2-e, pererab. i dop. – Samara: ООО «Ofort», GOU VPO «SamGMU», 2007. – 1239 p. (in Russian)]
 8. 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 farmaceuticheskikh vuzov. – Izd. 5-e, pererab. i dop. – Samara: ООО «Printing Association «Standard»», FGBOU VO «SamGMU», 2020. – 1278 p. (in Russian)]
 9. 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. Actual aspects of standardization of medicinal plant raw materials included in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation of the XIII edition // Izvestiya Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. – 2016. – V.18, N.2(3). – P.730-736.
 10. 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)]
 11. 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)]
 12. 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 vysshikh uchebnykh zavedenij. V 2-h t. – T. 2 - Har'kov: NFAU MTK – Kniga, 1999. – 704 p. (in Russian)]
 13. I.H. Bowen, D. Corrigan, I.J. Cubbin, P.A.G.M. de Smet, R. Hänsel, U. Sonnenborn, J. Westendorf, H. Winterhoff, H.J. 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 «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: majya.gybalko@yandex.ru

Куркин Владимир Александрович – доктор фармацевтических наук, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

Шмыгарева Анна Анатольевна – доктор фармацевтических наук, заведующая кафедрой управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: a.shmygareva@mail.ru

Саньков Анатолий Николаевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: a.n.sankov@mail.ru

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.