

Актуальные аспекты стандартизации лекарственного растительного сырья, содержащего флавоноиды

Куркина А.В.

Actual aspects of standardization of medicinal vegetative raw materials containing flavonoids

Kurkina A.V.

Самарский государственный медицинский университет, г. Самара

© Куркина А.В.

Целью настоящей работы являются исследования по обоснованию подходов к химической стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС) и препаратов, содержащих флавоноиды. Теоретически и экспериментально обоснованы методические и методологические подходы к химической стандартизации ЛРС и лекарственных препаратов, содержащих флавоноиды. С использованием спектрофотометрии, тонкослойной хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии обоснованы методики качественного и количественного анализа лекарственного растительного сырья и препаратов бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench.), пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare* L.), эрвы шерстистой (*Aerva lanata* L.), мяты перечной (*Mentha piperita* L.), полыни эстрагон (*Artemisia dracuncululus* L.), репешка аптечного (*Agrimonia eupatoria* L.), ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.). Для целей стандартизации ЛРС рекомендованы государственные стандартные образцы цинарозида, рутина и изосалипурпозиды. Новые подходы к стандартизации лекарственных растений, содержащих флавоноиды, будут использованы для разработки новых фитопрепаратов.

Ключевые слова: лекарственные растения, сырье, флавоноиды, лекарственные средства, стандартизация, спектрофотометрия, хроматография.

The main purpose of our paper is the studies on the substantiation of the new approaches to the chemical standardization of plant drugs and their medicines containing flavonoids. On the basis of the study of chemical composition of medicinal plants there were developed the methodic and methodological approaches to the standardization of plant drugs and preparations containing flavonoids. We studied such medicinal plants as *Helichrysum arenarium* (L.) Moench., *Tanacetum vulgare* L., *Artemisia dracuncululus* L., *Mentha piperita* L., *Agrimonia eupatoria* L., *Aerva lanata* L., *Matricaria chamomilla* L. We used such methods as spectrophotometry, thin layer chromatography, high performance liquid chromatography. For purpose of standardization were recommended the state standard samples of rutin, cynaroside and isosalipurposide. The developed new approaches to standardization of medicinal plants containing flavonoids and their medicines will be useful in elaboration of new phytopharmaceuticals.

Key words: medicinal plants, flavonoids, medicines, standardization, spectrophotometry, chromatography.

УДК 615.322:547.562].07

Введение

Лекарственное растительное сырье (ЛРС), содержащее флавоноиды, широко применяется в медицинской практике в качестве источника желчегонных, гепатопротекторных, антиоксидантных, капилляроукрепляющих, ангиопротекторных, диуретических, противовоспалительных, противоязвенных, спазмолитических и других лекарственных средств [1–6]. За последние 15–20 лет число фармакопейных видов сырья, отнесенных к флавоноидам, увеличилось

с 11 до 28 наименований [5, 6]. Кроме того, флавоноиды имеют статус второй группы биологически активных соединений (БАС) в 30 видах лекарственных растений, включая эфиромасличное сырье (цветки пижмы, листья мяты перечной, трава полыни эстрагон и др.), а также виды, содержащие фенилпропаноиды, в частности, гидроксикоричные кислоты (цветки бессмертника песчаного и др.), в случае которых подходы к химической стандартизации достаточно противоречивы, а используемые методики анализа не всегда отвечают параметрам валидации [1, 5].

В связи с этим актуальным является совершенствование действующей и разработка новой нормативной документации (НД) на ЛРС, лекарственные субстанции и фитопрепараты.

Материал и методы

В работе исследовано лекарственное растительное сырье, содержащее флавоноиды, для которого весьма актуальным является совершенствование методов стандартизации и их гармонизация в ряду: сырье — лекарственная субстанция — лекарственный препарат. В сравнении исследовали следующие виды ЛРС: цветки бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium* L.) Moench.), цветки пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare* L.), траву эрвы шерстистой (*Aerva lanata* L.), листья мяты перечной (*Mentha piperita* L.), траву полыни эстрагон (*Artemisia dracuncululus* L.), траву репешка аптечного (*Agrimonia eupatoria* L.). Наряду с вышеперечисленными видами ЛРС были исследованы также индивидуальные соединения, выделенные из изучаемого сырья. Регистрацию ультрафиолетовых (УФ) спектров проводили с помощью спектрофотометра Specord 40 (Analytik Jena). Исследование методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) проводилось на микроколоночном жидкостном хроматографе «Милихром-5» (НПО «Научприбор», Россия) в изократическом режиме (стальная колонка 2 × 80 мм; КАХ 6-80-4, сорбент — «Диасорб С-16») в обращенно-фазовом варианте ВЭЖХ. В качестве подвижной фазы использовали смесь воды и ацетонитрила в соотношениях 70 : 30 и 80 : 20 (об%). Скорость подачи элюента составила 0,1 мл/мин. Детектирование веществ осуществляли УФ-детектором при длинах волн 254, 270, 290, 330 и 360 нм.

Результаты

Сравнительное изучение электронных спектров водно-спиртовых извлечений из ЛРС показало, что наряду с флавоноидами существенный вклад в кривую поглощения УФ-спектров вносят гидроксикоричные кислоты (фенилпропаноиды), представленные в основном кофейной, хлорогеновой кислотами и их производными. Из данных, приведенных в табл. 1 и 2, следует, что именно фенилпропаноиды во многом обуславли-

вают характер кривой поглощения «плечо» в области около 290 нм и максимум поглощения в области около 330 нм. Это имеет место как для эфирно-масличных растений, например, цветков пижмы, так и для видов, в которых ведущей группой биологически активных соединений являются флавоноиды (цветки бессмертника песчаного и др.) (табл. 1). В обоих вариантах использование дифференциальной спектрофотометрии приводит к получению кривой поглощения, спектральные характеристики которой определяются особенностями химического строения флавоноидов [15].

Таблица 1

Сравнительная характеристика УФ-спектров водно-спиртовых извлечений лекарственного растительного сырья, содержащего флавоноиды

Водно-спиртовые извлечения	Значения максимумов поглощения, нм		
	Исходный раствор	+AlCl ₃	Дифференциальный спектр (длинноволновый максимум)
цветков бессмертника песчаного	292пл*, 331	281, 334, 400пл*	418
цветков пижмы	291пл*, 332	291, 332, 400пл*	400
цветков ромашки аптечной	293, 322	298, 323	411
травы тысячелистника	291, 331	281, 334, 396пл*	395
травы эрвы шерстистой	268, 322, 360пл*	278, 330пл*, 407	407
травы репешка аптечного	267, 321,	278, 334пл*, 397	403
листьев мяты перечной	288, 327	290, 333	389
травы полыни эстрагон	292пл*, 329	292пл*, 330, 410пл*	405

Примечание. Здесь и в табл 2: * — «изгиб» в кривой поглощения спектра.

Таблица 2

Сравнительная характеристика УФ-спектров некоторых флавоноидов и фенилпропаноидов

Вещество	Значения максимумов поглощения, нм		
	Исходный раствор	+AlCl ₃	Дифференциальный спектр
Рутин	257, 267пл*, 362	274, 300, 409	412
Цинарозид	256, 267пл*, 352	278, 298пл*, 395	400
Изосалиурпозид	246пл*, 370	252пл*, 408	418
Кофейная кислота	290, 330	288, 334	—
Хлорогеновая кислота	290, 331	290, 333	—

Анализ данных, представленных в табл. 1 и 2, показывает, что в дифференциальных электронных спектрах водно-спиртовых извлечений из цветков пижмы обыкновенной обнаруживается максимум поглощения при длине волны 400 нм. Кривая поглощения УФ-спектра извлечения из цветков пижмы обыкновенной в варианте дифференциальной спектрофотометрии в основном обусловлена веществами флавоновой природы, имеющими, как правило, в этих условиях максимум поглощения около 400 нм, свойственный государственному стандартному образцу (ГСО) цинарозида. Сопоставимые спектральные характеристики получены и для водно-спиртовых извлечений из травы рюшника аптечного, листьев мяты перечной и травы тысячелистника. Кривая поглощения УФ-спектра извлечения из цветков ромашки аптечной и травы эрвы шерстистой в варианте дифференциальной спектрофотометрии в основном обусловлена флавонолами, имеющими, как правило, в этих условиях максимум поглощения около 407—411 нм, свойственный ГСО рутина. В УФ-спектр извлечения из цветков бессмертника песчаного значительный вклад вносят халконы, особенно в варианте дифференциальной спектрофотометрии. Это подтверждается спектральными характеристиками ГСО изосалипурпозид, имеющего максимум поглощения в УФ-спектре при длине волны 418 нм. Следовательно, для целей стандартизации лекарственного сырья, содержащего флавоноиды, целесообразно использование в случае флавонов, флавонолов и халконов соответственно ГСО цинарозида, рутина и изосалипурпозид. В этом контексте ключевым вопросом является углубленное изучение компонентного состава, в том числе флавоноидов. Дополнительное исследование химического состава сырья особенно важно в случае недостаточной степени его изученности или противоречивости данных химического состава, к каковым относятся бессмертник песчаный и пижма обыкновенная.

В ходе изучения химического состава цветков бессмертника песчаного, произрастающего в Самарской области, определено, что доминирующим флавоноидом сырья данного растения является халкон изосалипурпозид. При этом выделены также и охарактеризованы салипурпозид, прунин, нарингенин (флавоноиды, 5,7-дигидроксифталид, 5-гидрокси-7-метоксифталид). Ранее были предложены объективные методики стандартизации цветков бессмертника песчаного по со-

держанию флавоноидов с использованием ТСХ и дифференциальной спектрофотометрии в присутствии ГСО изосалипурпозид [7]. Принимая во внимание то обстоятельство, что цветки бессмертника песчаного служат источником получения ГСО изосалипурпозид, представляется актуальной разработка методики количественного определения изосалипурпозид в данном сырье. С использованием ВЭЖХ изучен компонентный состав цветков бессмертника песчаного (рис. 1). На основании сравнения значений времени удерживания веществ t_R на хроматограмме извлечения и индивидуальных веществ идентифицированы изосалипурпозид салипурпозид, прунин, 5,7-дигидроксифталид, 5-гидрокси-7-метоксифталид (рис. 1). Для количественной оценки содержания изосалипурпозид предложены условия хроматографирования, в которых пик целевого вещества имеет время удерживания около 4,5 мин (рис. 2 и 3). Определено, что содержание изосалипурпозид в цветках бессмертника песчаного варьирует от 1,56 до 1,78%.

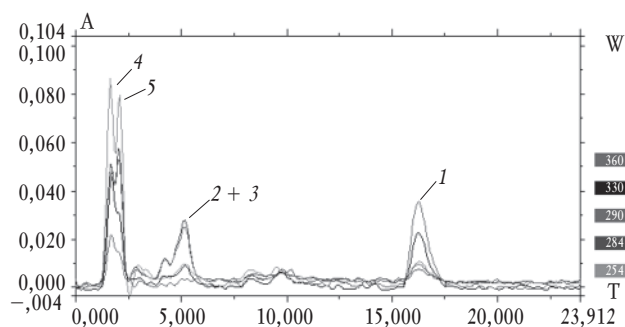


Рис. 1. ВЭЖХ извлечения из цветков бессмертника песчаного: изосалипурпозид (пик 1), салипурпозид и прунин (2 + 3), 5,7-дигидроксифталид (4), 5-гидрокси-7-метоксифталид (5)

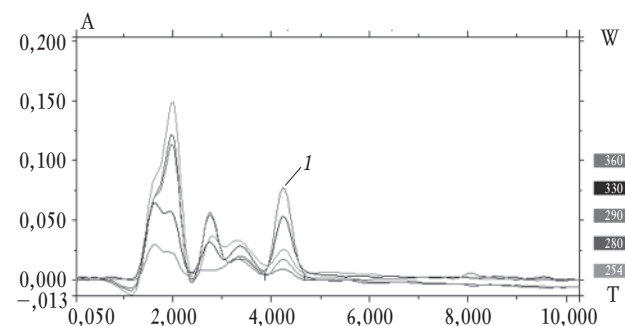


Рис. 2. ВЭЖХ извлечения из цветков бессмертника песчаного: изосалипурпозид (1)

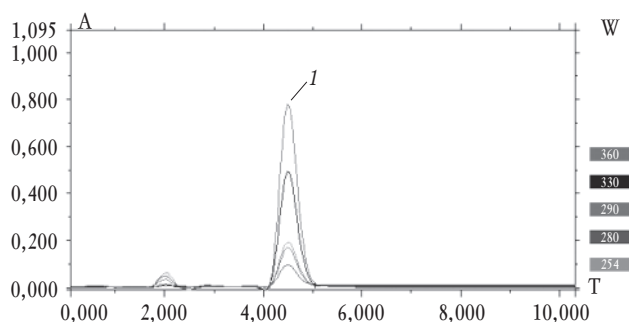


Рис. 3. ВЭЖХ изосалипурпозид (I)

Обсуждение

Результаты изучения электронных спектров водно-спиртовых извлечений из цветков пижмы обыкновенной, цветков бессмертника песчаного, цветков ромашки аптечной, травы тысячелистника, листьев мяты перечной, травы эрвы шерстистой, травы репешка аптечного и травы полыни эстрагон, а также растворов ГСО рутина, цинарозида и изосалипурпозид свидетельствуют о том, что данные стандарты могут быть использованы для стандартизации ЛРС, содержащего флавоны, флавонолы и халконы. Принимая во внимание то обстоятельство, что исследуемое лекарственное сырье содержит наиболее распространенные в растительном мире группы флавоноидов, разработанные методические и методологические подходы представляют интерес с точки зрения химической стандартизации и создания фитопрепаратов как на основе фармакопейных видов, так и других растений, содержащих флавоноиды, перспективных в плане внедрения в медицинскую практику. Так, подход применения ГСО рутина в методиках количественного определения суммы флавоноидов был использован для стандартизации травы эрвы шерстистой и травы репешка аптечного — перспективного источника гепатопротекторных и желчегонных лекарственных препаратов [9]. В соответствии с этим ранее разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в траве репешка аптечного с использованием метода дифференциальной спектрофотометрии (аналитическая длина волны 403 нм) и ГСО рутина [9]. Разработана также методика количественного определения суммы флавоноидов в траве эрвы шерстистой методом дифференциальной спектрофотометрии (аналитическая длина волны 407 нм) [8]. Выделение тилиа-

нина (доминирующий флавоон) и других флавоноидов подтверждает обоснованность методологических подходов к стандартизации сырья и препаратов пижмы обыкновенной по сумме флавоноидов с использованием дифференциальной спектрофотометрии и ГСО цинарозида [10].

Целесообразность и актуальность нового подхода к стандартизации эфирно-масличного лекарственного растительного сырья не только по содержанию эфирного масла, но и флавоноидов, была ранее показана при стандартизации травы полыни эстрагон по содержанию суммы флавоноидов с использованием ГСО рутина [14]. Противоречивость сведений относительно флавоноидного состава полыни эстрагон послужила основанием для детального изучения в данном растении именно этой группы действующих веществ [5, 6, 11, 14]. Это обстоятельство стало основанием для разработки методики количественного определения суммы флавоноидов с применением дифференциальной спектрофотометрии и использованием ГСО рутина.

Заключение

Таким образом, разработанные новые методические и методологические подходы к стандартизации ЛРС и фитопрепаратов, содержащих флавоноиды, могут быть положены в основу методик качественного и количественного анализа данной группы действующих веществ, представленных флавонами, флавонолами и халконами. Для целей стандартизации ЛРС рекомендованы ГСО цинарозида (пижма обыкновенная, мята перечная), ГСО рутина (ромашка аптечная, эрва шерстистая, репешок аптечный, полынь эстрагон) и ГСО изосалипурпозид (бессмертник песчаный).

Литература

1. Государственная фармакопея СССР. 11-е издание. Вып. 2. М.: Медицина, 1990. 400 с.
2. Государственный реестр лекарственных средств. Т. 1. Официальное издание. М., 2008. 1398 с.
3. Кулагин О.А., Куркин В.А., Додонов Н.С. и др. Антиоксидантная активность некоторых фитопрепаратов, содержащих флавоноиды и фенилпропаноиды // Фармация. 2007. Т. 55, № 2. С. 30—32.
4. Куркин В.А. Современные аспекты химической классификации биологически активных соединений лекарственных растений // Фармация. 2002. Т. 50, № 2. С. 8—16.

5. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для фармацевтических вузов (факультетов). 2-е изд., перераб. и доп. Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ», 2007. 1239 с.
6. Куркин В.А. Основы фитотерапии: учебное пособие для студентов фармацевтических вузов. Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ Росздора», 2009. 963 с.
7. Куркина А.В. Новые подходы к стандартизации сырья бессмертника песчаного — *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. // Традиц. медицина. 2010. № 1 (20). С. 45—49.
8. Куркина А.В., Осипова А.А. Новые подходы к стандартизации сырья эрвы шерстистой // Химия раст. сырья. 2010. № 2. С. 117—121.
9. Куркина А.В. Методика количественного определения суммы флавоноидов в траве репешка аптечного // Хим.-фарм. журн. 2010. Т. 44, № 12. С. 88—91.
10. Куркина А.В., Хусаинова А.И. Методика определения суммы флавоноидов в цветках пижмы // Фармация. 2010. Т. 58, № 3. С. 21—24.
11. Онучак Л.А., Куркин В.А., Минахметов Р.А., Куркина А.В. Высокоэффективная жидкостная хроматография в анализе экстрактов *Artemisia dracuncululus* L. // Химия природных соединений. 2000. № 2. С. 115—117.
12. Растительные ресурсы СССР: цветковые растения, их химический состав, использование; семейство *Asteraceae* (*Compositae*). СПб.: Наука, 1993. 352 с.
13. Руцких И.Б., Ханина М.А., Серых Е.А. и др. Состав эфирного масла полыни тархун (*Artemisia dracuncululus* L.) сибирской флоры // Химия раст. сырья. 2000. № 3. С. 65—76.
14. Сутильникова А.В. Качественный и количественный анализ лекарственного сырья и настойки полыни эстрагон // Фармация. 2002. Т. 50, № 3. С. 11—14.
15. Mabry T.J., Markham K.R., Thomas M.B. The Systematic Identification of Flavonoids. Berlin; Heidelberg; New York, 1970. 354 p.

Поступила в редакцию 01.04.2011 г.

Утверждена к печати 01.06.2011 г.

Сведения об авторах

А.В. Куркина — канд. фарм. наук, ассистент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии СамГМУ (г. Самара).

Для корреспонденции

Куркина Анна Владимировна, тел.: 8-906-345-8979, 8 (846) 260-33-59; e-mail: Annushkae@yandex.ru