

УДК 615.32: 547.972+543.544

СОВРЕМЕННАЯ СТАНДАРТИЗАЦИЯ КАК МЕТОДОЛОГИЧЕСКАЯ ОСНОВА РАЦИОНАЛЬНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РЕСУРСОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ ФЛАВОНОИДЫ

© 2012 А.В. Куркина

Самарский государственный медицинский университет

Поступила в редакцию 30.04.2012

Теоретически и экспериментально обоснованы методические и методологические подходы к химической стандартизации ЛРС и лекарственных препаратов, содержащих флавоноиды. С использованием спектрофотометрии, тонкослойной хроматографии (ТСХ) разработаны 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 dracunculus* L.), репешка аптечного (*Agrimonia eupatoria* L.), ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.). Для целей стандартизации ЛРС рекомендованы ГСО цинарозида, ГСО рутина и ГСО изосалипурпозиды. Новые подходы к стандартизации лекарственных растений, содержащих флавоноиды, представляют интерес в плане разработки ресурсосберегающих технологий получения новых фитопрепаратов, а также рационального использования растительных ресурсов.

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

Известно, что лекарственное растительное сырье (ЛРС), содержащее флавоноиды, широко применяется сегодня в медицинской практике в качестве источника желчегонных, гепатопротекторных, антиоксидантных, ангиопротекторных, диуретических, противовоспалительных, противоязвенных, спазмолитических и других лекарственных средств [1-6, 8]. Однако актуальным вопросом является внедрение природоохранных мероприятий, а также создание ресурсосберегающих технологий, позволяющих оптимизировать подходы к заготовке ЛРС и созданию фитопрепаратов. Рациональное использование биологических ресурсов в контексте заготовки ЛРС и создания эффективных препаратов на современном этапе предполагает гармонизацию стандартизации в следующем ряду: сырье – лекарственная субстанция – лекарственный препарат. Основой для совершенствования методов стандартизации является глубокое изучение химического состава лекарственных растений и фитопрепаратов на их основе. В этой связи актуальным направлением является также предложение изменений к имеющейся нормативной документации (НД), а также разработка новой нормативной документации на ЛРС, лекарственные субстанции и препараты.

Цель исследований: разработка методических и методологических подходов к стандартизации сырья лекарственных растений, содержащих флавоноиды, в плане научного обоснования рационального использования растительных ресурсов.

Материалы и методы. В работе исследованы следующие виды ЛРС, содержащих флавоноиды: 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.), цветки ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.), траву полыни эстрагон (*Artemisia dracunculus* L.), траву репешка аптечного (*Agrimonia eupatoria* L.). Кроме этого, были исследованы также индивидуальные соединения, выделенные из изучаемых видов ЛРС. Колоночную хроматографию осуществляли с использованием силикагеля L 40/100, полиамида («Woelm»), сефадекса LH-20 (Швеция) и оксида алюминия (II степени активности по Брокману). В качестве элюентных смесей служили смеси воды и этилового спирта, хлороформа и этилового спирта, а также гексана и хлороформа в градиентном режиме (с увеличением степени полярности). Н-ЯМР-спектры получали на приборах «Bruker AM 300» (300 МГц), масс-спектры снимали на масс-спектрометре «Kratos MS-30», регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena). Тонкослойную хроматографию (ТСХ) проводили на пластинках «Silufol UV 254» (Чехия) и «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» (Россия) с использованием различных систем растворителей: хлороформ-этанол в соотношениях (2:1, 4:1, 9:1, 19:1), хлороформ-метанол-вода (26:14:3), н-бутанол-ледяная уксусная кислота-вода (4:1:2). Хроматография на бумаге выполнялась с использованием системы растворителей: н-бутанол-ледяная уксусная кислота-вода (4:1:2). Для проявления веществ использовали детекцию

Куркина Анна Владимировна, кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры фармакогнозии и ботаникой и основами фитотерапии. E-mail: Annushkae@yandex.ru

в УФ-свете при длине волны 254 и 366 нм, а также обработку хроматограмм растворами алюминия хлорида (флавоноиды), диазобензолсульфокислоты (фенольные соединения), фосфорновольфрамовой кислоты (терпеноиды).

Результаты и обсуждение. Флавоноиды как критерий подлинности и качества ЛРС и фитопрепаратов актуальны не только в случае отношения лекарственных растений к этой группе биологически активных соединений (БАС), но и для целого ряда эфиромасличных видов, стандартизация которых затруднена по эфирному маслу (пижма обыкновенная, полынь эстрагон и др.) в силу различных причин. Затруднительна также стандартизация по содержанию эфирного масла экстракционных фитопрепаратов, полученных на основе эфиромасличного сырья (цветки ромашки аптечной, трава тысячелистника, листья мяты перечной и др.).

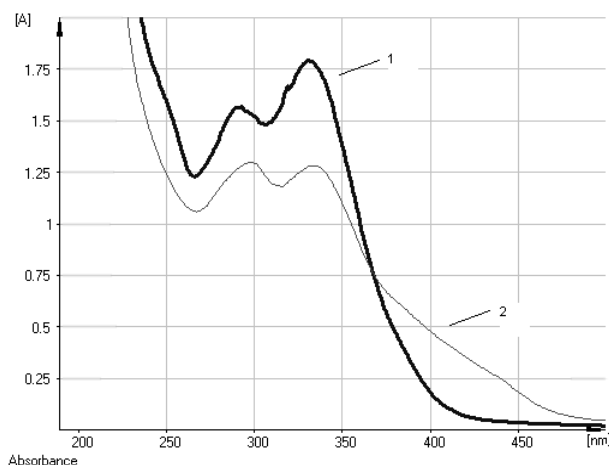


Рис. 1. УФ-спектры растворов водно-спиртового извлечения из цветков пижмы обыкновенной: 1 — раствор извлечения; 2 — раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

Нерешенные проблемы в области стандартизации ЛРС и фитопрепаратов возникают и в случае сочетания флавоноидов с другими группами БАС (фенилпропаноиды, дубильные вещества, алкалоиды и др.). В этом отношении перспективными методами являются тонкослойная хроматография и спектрофотометрия, позволяющие в присутствии диагностических комплексообразующих реагентов, в частности, алюминия хлорида, избирательно определять физико-химические и спектральные характеристики флавоноидов, содержащихся в ЛРС и фитопрепаратах, особенно в случае использования в методиках соответствующих Государственных стандартных образцов. 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 *п*-кумаровой, кофейной, хлорогеновой кислотами и их производными.

Это имеет место как в случае эфиромасличных растений, например, пижма обыкновенная (рис. 1), так и в видах, в которых ведущей группой биологически активных соединений являются флавоноиды (бессмертник песчаный и др.) (рис. 2). В обоих вариантах использование дифференциальной спектрофотометрии приводит к получению кривой поглощения, спектральные характеристики которой определяются особенностями химического строения флавоноидов [9].

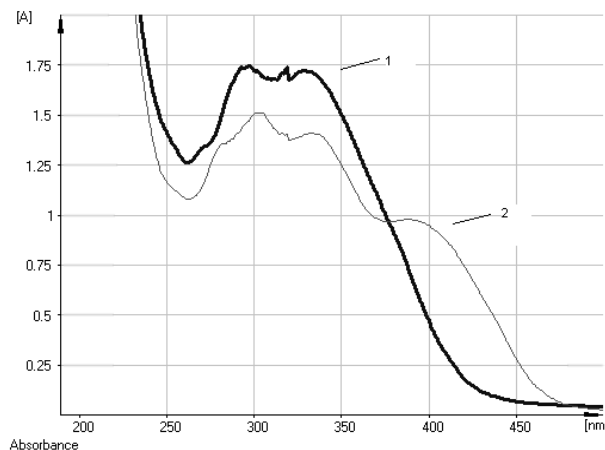


Рис. 2. УФ-спектры растворов водно-спиртового извлечения из цветков бессмертника песчаного: 1 — раствор извлечения; 2 — раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

В дифференциальных электронных спектрах растворов водно-спиртовых извлечений цветков пижмы обыкновенной, цветков ромашки аптечной и цветков бессмертника песчаного обнаруживаются максимумы поглощения соответственно при 400 нм, 412 нм и 418 нм (рис. 3-5). Кривая поглощения УФ-спектра раствора извлечения из цветков пижмы обыкновенной в варианте дифференциальной спектрофотометрии в основном обусловлена веществами флавоновой природы (рис. 1, 3 и 6), имеющими, как правило, в этих условиях максимум поглощения около 400 нм, свойственный государственному стандартному образцу (ГСО) цинарозида (рис. 6).

Кривая поглощения УФ-спектра раствора извлечения из цветков ромашки аптечной в варианте дифференциальной спектрофотометрии в основном обусловлена флавонолами (рис. 4 и 7), имеющими, как правило, в этих условиях максимум поглощения около 410-412 нм (рис. 6), свойственный такому известному ГСО, как рутин (рис. 7). В УФ-спектр раствора извлечения из цветков бессмертника песчаного значительный вклад вносят халконы, особенно в варианте дифференциальной спектрофотометрии (рис. 2, 5 и 8). Это подтверждается спектральными характеристиками ГСО изосалипурпозиды, имеющего максимум поглощения в УФ-спектре при длине волны 418 нм (рис. 8). Следовательно, для целей стандартизации лекарственных растений,

содержащих флавоноиды, целесообразно использование в случае флавонов, флавонолов и халконов соответственно ГСО цинарозида, ГСО рутина и ГСО изосалипурпозид. В этом контексте ключевым вопросом является углубленное изучение компонентного состава, в том числе флавоноидов, особенно в случае недостаточной степени изученности сырья лекарственных растений или противоречивости данных химического состава, к каковым относятся бессмертник песчаный и пижма обыкновенная.

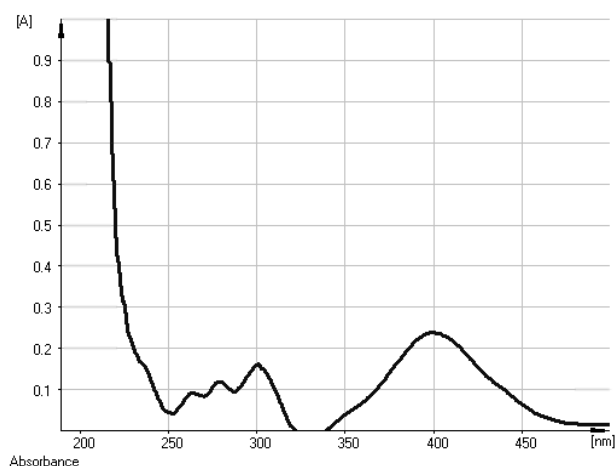


Рис. 3. УФ-спектр раствора водно-спиртового извлечения из цветков пижмы обыкновенной (дифференциальный спектр)

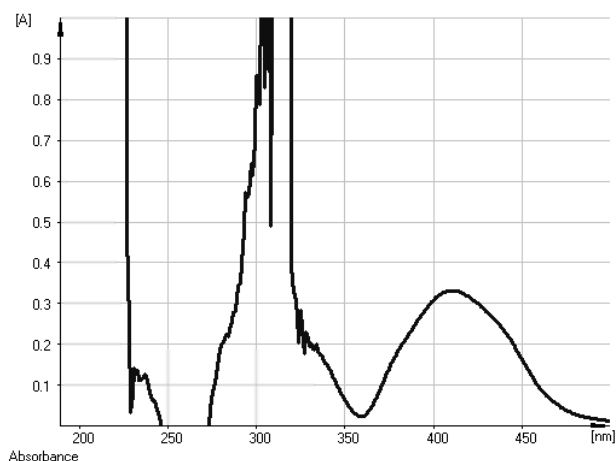


Рис. 4. УФ-спектр раствора водно-спиртового извлечения из цветков ромашки аптечной (дифференциальный спектр)

В ходе изучения химического состава цветков бессмертника песчаного, произрастающего в Самарской области, определено, что доминирующим соединением сырья данного растения является халкон изосалипурпозид. При этом выделены также и охарактеризованы салипурпозид, прунин, нарингенин (флавоноиды, 5,7-дигидроксифталид, 5-гидрокси-7-метокси-фталид. Ранее нами были предложены объективные методики качественного и количественного анализа по содержанию

флавоноидов с использованием ТСХ и дифференциальной спектрофотометрии в присутствии Государственного стандартного образца (ГСО) изосалипурпозид [7].

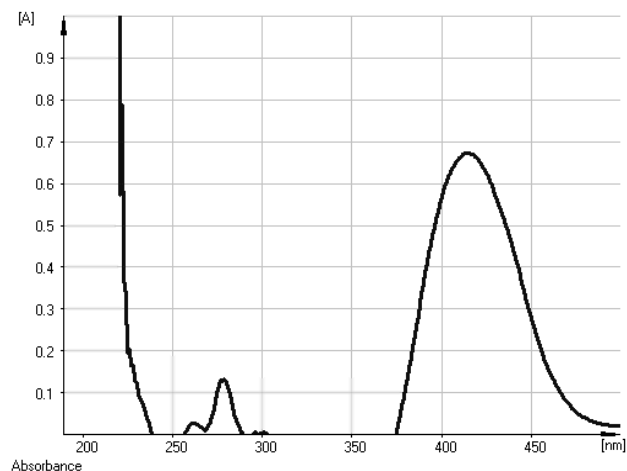


Рис. 5. УФ-спектр раствора водно-спиртового извлечения из цветков бессмертника песчаного (дифференциальный спектр)

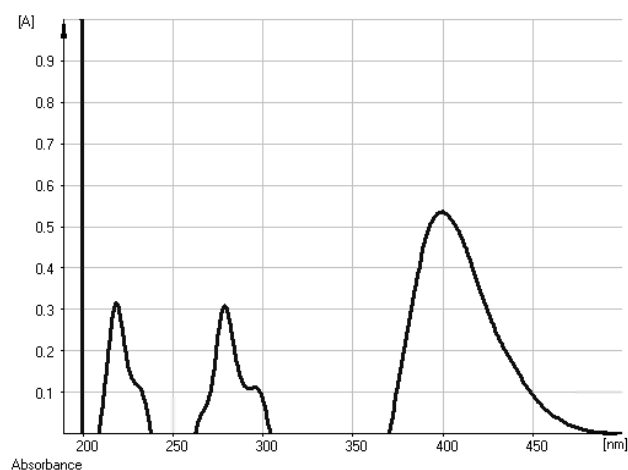


Рис. 6. УФ-спектр раствора ГСО цинарозида (дифференциальный спектр)

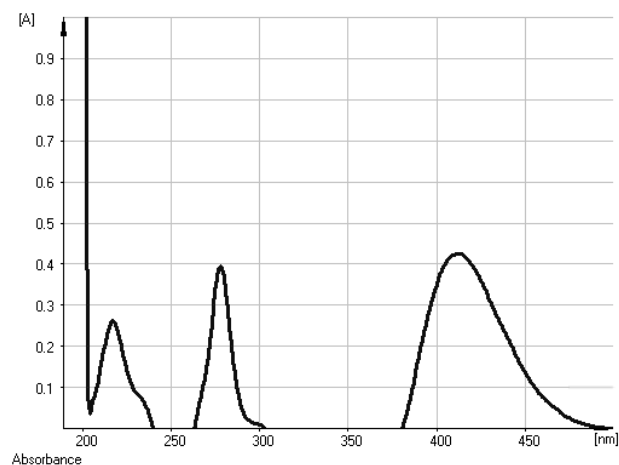


Рис. 7. УФ-спектр раствора ГСО рутина (дифференциальный спектр)

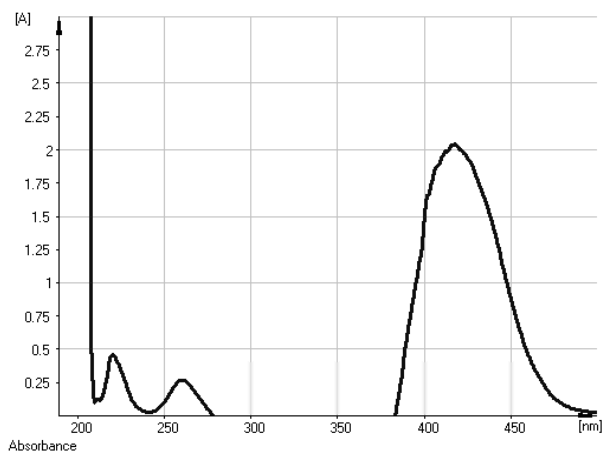


Рис. 8. УФ-спектр раствора ГСО изосалипурпозид (дифференциальный спектр)

С целью обоснования методик качественного и количественного анализа сырья и препаратов пижмы обыкновенной из цветков данного растения с использованием колоночной хроматографии были выделены 7-О-β-D-глюкопиранозид акацетина (тилианин), 7-О-β-D-глюкопиранозид апигенина (космосиин), акацетин (5,7-дигидрокси-4'-метоксифлавоон) и апигенин (5,7,4'-тригидрокси-флавоон). Важно отметить, что тилианин (доминирующий флавоноид) и космосиин впервые выделены из цветков пижмы обыкновенной.

Выводы: разработанные новые методические и методологические подходы к стандартизации ЛРС и фитопрепаратов, содержащих флавоноиды, могут быть положены в основу объективных методик качественного и количественного анализа данной группы действующих веществ, представленных флавонами, флавонолами и халконами, которые, в свою очередь, будут способствовать обоснованию ресурсосберегающих технологий

получения экстракционных фитопрепаратов и, следовательно, рациональному использованию растительных ресурсов. Для целей стандартизации ЛРС рекомендованы ГСО цинарозид (пижма обыкновенная, мята перечная), ГСО рутина (ромашка аптечная, эрва шерстистая, репешок аптечный, полынь эстрагон) и ГСО изосалипурпозид (бессмертник песчаный).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Государственная Фармакопея СССР. Одиннадцатое издание. Вып. 2. – М.: Медицина, 1990. 400 с.
2. Государственный реестр лекарственных средств. Т.1. Официальное издание / Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения и соц. развития; Науч. центр экспертизы средств мед. применения. – М.: Медицина, 2008. 1398 с.
3. Кулагин, О.Л. Антиоксидантная активность некоторых фитопрепаратов, содержащих флавоноиды и фенилпропаноиды / О.Л. Кулагин, В.А. Куркин, Н.С. Додонов и др. // Фармация. 2007. Т. 55. № 2. С. 30-32.
4. Куркин, В.А. Основы фитотерапии: Учебное пособие для студентов фармацевтических вузов. – Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2009. 963 с.
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. Современные аспекты химической классификации биологически активных соединений лекарственных растений // Фармация. 2002. Т. 50. № 2. С. 8-16.
7. Куркина, А.В. Новые подходы к стандартизации сырья бессмертника песчаного - *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. // Традиционная медицина. 2010. № 1 (20). С. 45-49.
8. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейство *Asteraceae* (Compositae). – СПб.: Наука, 1993. 352 с.
9. Mabry, T.J. The Systematic Identification of Flavonoids. / T.J. Mabry, K.R. Markham, M.B. Thomas. – Berlin; Heidelberg; New York, 1970. 354 с.

MODERN STANDARDIZATION AS THE METHODOLOGICAL BASIS OF RATIONAL USE THE MEDICAL PLANTS, CONTAINING FLAVONOIDS

© 2012 A.V. Kurkina
Samara State Medical University

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 dracunculus* L., *Mentha piperita* L., *Agrimonia eupatoria* L., *Aerva lanata* L., *Matricaria chamomilla* L. We used such methods as spectrophotometry and thin layer chromatography (TLC). 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 technologies for resource-saving phytopharmaceuticals and rational use of plant supplies.

Key words: *Helichrysum arenarium* (L.) Moench., *Tanacetum vulgare* L., *Aerva lanata* L., *Mentha piperita* L., *Artemisia dracunculus* L., *Agrimonia eupatoria* L., *Matricaria chamomilla* L., medicinal plants, flavonoids, medicines, standardization, spectrophotometry, chromatography.

Anna Kurkina, Candidate of Pharmacy, Assistant at the Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. E-mail: Annushkae@yandex.ru