

ФАРМАКОГНОЗИЯ И БОТАНИКА

А.А. Погоцкая, Г.Н. Бузук

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ХЛОРИСТОВОДОРОДНОЙ И УКСУСНОЙ КИСЛОТ НА ИЗВЛЕЧЕНИЕ АЛКАЛОИДОВ ИЗ ЛИСТЬЕВ МАКЛЕЙИ СЕРДЦЕВИДНОЙ

Витебский государственный медицинский университет

Изучена возможность применения хлористоводородной кислоты для экстракции алкалоидов из растительного сырья листьев маклеи в сравнении с оптимальным экстрагентом (80-100% раствором уксусной кислоты).

Установлено, что в целом с повышением концентрации хлористоводородной кислоты выход суммы алкалоидов из листьев маклеи увеличивается. Экстрагирующая способность хлористоводородной кислоты 1 % сопоставима с экстрагирующей способностью кислоты 20 % и почти в 1,5 раза превышает кислоту в концентрации 5 – 15 %. В экстрактах, полученных с использованием уксусной кислоты в высоких концентрациях, содержание алкалоидов значительно выше (в 1,3 раза), чем в экстрактах с использованием оптимальных концентраций хлористоводородной кислоты.

Ключевые слова: маклея, уксусная кислота, хлористоводородная кислота.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время для лечения и предупреждения возникновения ряда заболеваний используются лекарственные средства, которые получают из веществ синтетического, растительного, животного и минерального происхождения. Из лекарственного растительного сырья получают примерно одну треть всех разрешенных к медицинскому применению лекарствен-

ных средств. В наше время медицина достигла значительных успехов в лечении заболеваний, вызываемых различными инфекционными агентами. К числу таких достижений относится создание новых антибиотиков и синтетических химиотерапевтических средств, действующих на патогенный возбудитель. Однако, постоянное и широкое, при этом не всегда оправданное, применение антибиотиков и синтетических химиотерапевтических средств приводит к ряду явлений, осложняющих возможность их рационального использования. К ним относятся: возникновение аллергических реакций от применения большинства антибиотиков и, как следствие, аллергизация населения, особенно детей; наличие серьезных побочных (токсических) эффектов на системы и органы; развитие лекарственной резистентности микроорганизмов к известным антимикробным средствам; нарушение нормального состава микрофлоры, приводящее в конечном итоге к расширению спектра патогенной микрофлоры за счет микроорганизмов, ранее относившихся к условно-патогенным, и появлению новых инфекционных процессов (дисбактериозы, бактерионосительство и выделение патогенного возбудителя в окружающую среду). Использование средств растительного происхождения в первую очередь обусловлено их высокой биологической активностью, комплексным воздействием на организм больного и безопасностью их применения при лечении хронических заболеваний и с целью профилактики. Несмотря на значительные успехи, достигнутые в области антибиотикотерапии инфекционных болезней и болезней другой этиологии, проблема изыскания и изучения новых антимикробных средств остается актуальной. Это связано с постоянно нарастающей устойчивостью микроорганизмов к ранее применяемым антимикробным средствам.

Анализ сообщений последних лет показывает, что тенденции к снижению данных негативных явлений не наблюдается. Повышения эффективности лечения ряда заболеваний можно добиться, исполь-

зуя средства многонаправленного действия на основные факторы патологического процесса, включая фитопрепараты. Поиск соединений, обладающих антибактериальной активностью, – одна из важных задач практической медицины. Природные вещества являются наиболее желательными кандидатами на эту роль.

Биохимическое исследование лекарственных растений на содержание биологически активных веществ, предопределяющих использование этих растений в фармацевтической промышленности и медицинской практике, является одним из наиболее актуальных направлений.

К лекарственным растениям, обладающим противовоспалительными, antimикробными и регенерирующими свойствами, относятся виды маклей.

Ранее нами были предложены листья маклеи сердцевидной в качестве нового лекарственного растительного сырья, которое может производиться в Республике Беларусь [1]. Как известно, antimикробный эффект данного сырья обусловлен наличием двух основных алкалоидов изохинолинового ряда – сангвинарином и хелеритрином [2,3,4]. Алкалоиды, содержащиеся в растении, обладают широким спектром antimикробной активности, характеризуются отсутствием раздражающего действия на кожу и слизистые оболочки при пролонгированном использовании.

Несмотря на длительное применение сангвиритрина в медицине, проблема стандартизации сырья остается актуальной. Нерешенным в полной мере остается вопрос количественного определения алкалоидов, в частности, их выделение из растительного сырья.

При выборе условий экстрагирования многих алкалоидов из лекарственного растительного сырья руководствуются общепринятым положением, согласно которому алкалоиды извлекаются органическим растворителем из щелочной среды.

С целью усовершенствования методов анализа сырья маклеи сердцевидной нами была разработана методика выделения и количественного определения алкалоидов маклейи.

В исследованиях, проведенных нами ранее, уже уделялось внимание проблеме выделения суммы алкалоидов из сырья: подбору оптимального экстрагента и условий экстракции. В ходе проведенных экспериментов была установлена высокая эффективность 80 - 100 % растворов уксусной кислоты по сравнению с традиционным экстрагентом - хлороформом при щелочном значении pH и альтернативным экстрагентом - спиртом этиловым различных концентраций. Вместе с тем, в традиционных схемах извлечения алкалоидов из растительного сырья на этапе получения алкалоидов - солей в ходе многоступенчатой очистки суммы алкалоидов чаще всего используются 1-5 % растворы хлористоводородной кислоты. В связи с этим, представляло значительный интерес провести сравнение эффективности различных концентраций кислоты хлористоводородной в сравнении с оптимальным экстрагентом - 80 % раствором уксусной кислоты.

Целью данной работы является количественное определение суммы алкалоидов листьев маклеи сердцевидной после экстракции их водными растворами хлористоводородной кислоты и растворами уксусной кислоты высоких концентраций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Навеску 0,25 г (точная навеска) измельченных и просеянных сквозь сито с отверстиями диаметром 0,5 мм листьев маклеи помещали в пенициллиновые флаконы, добавляли по 5 мл хлористоводородной кислоты различной концентрации, встряхивали и оставляли при комнатной температуре на 15 ч, затем выдерживали в терmostатируемой водяной бане при температуре 95 °C в течение 1 ч, используя устройство, описанное нами в предыдущих работах [5]. Полученные экстракты охлаждали в течение 10-15 мин и центрифугировали 10 мин при 8000 об/мин. Из листьев маклеи сердцевидной были получены экстракты с использованием 1 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 % и 38 % хлористоводородной кислоты, а также с использованием 80 % и 100 % уксусной кислоты.

Следует отметить, что листья маклейи сердцевидной практически не смачивались растворами хлористоводородной кислоты даже при интенсивном встряхивании. После нагревания на водяной бане листья маклейи также находились на поверхности, в верхней части пенициллинового флакона, что значительно затрудняет анализ полученного экстракта. При использовании уксусной кислоты в предложенных высоких концентрациях данного явления не наблюдается.

Количественное определение алкалоидов в полученных экстрактах проводили разработанным и описанным нами ранее методом денситометрии [6] с использованием внешнего стандарта – раствора сангвиритрина известной концентрации.

Для определения суммы алкалоидов на хроматографическую бумагу размером 9 на 12 см с помощью микропипетки наносили по 5 мкл исследуемых хлористоводородных и уксуснокислых экстрактов маклейи в виде тонких полосок, а затем высушивали с помощью фена. После нанесения всех растворов проводили проявление путем погружения бумаги с нанесенными пробами на 1-2 мин в рабочий раствор модифицированного реактива Драгендорфа. Алкалоиды проявлялись в виде полосок

оранжевого цвета на желтом фоне. Бумагу вынимали из проявляющего реактива, а затем проявленную хроматограмму помещали между двумя стеклами и сканировали.

Полученное цифровое изображение обрабатывали с помощью компьютерной программы Imagej ver. 1.41h (<http://rsbweb.nih.gov>) [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В предварительных опытах нами был изучен характер зависимостей цветометрических характеристик пятен проявленных соединений от количества нанесенного сангвиритрина. С этой целью в луночных планшетах была подготовлена серия разведений растворов сангвиритрина в пределах от 0,1 до 1,0 мкг/мкл. По 10 мкл полученных растворов с помощью микропипетки наносили в виде полосок длиной около 5 см и шириной около 0,5 см на хроматографическую бумагу размером 9 на 12 см, а затем высушивали с помощью фена.

Полученные при этом соответствующие хроматограмма и денситограмма представлены на рисунке 1.



Рисунок 1 – Хроматограмма и денситограмма различных количеств сангвиритрина (0,1 - 0,8 мкг/мкл)

Как можно видеть из рисунка 1, в диапазоне концентраций сангвиритрина (0,1 - 0,8 мкг) зависимость отражающей способности продукта реакции алкалоидов с реагентом Драгендорфа носит линейный характер.

Исходя из средних значений площадей пиков суммы алкалоидов маклейи и сангвиритрина, рассчитывали количественное содержание алкалоидов.

Полученные данные представлены на рисунке 2.

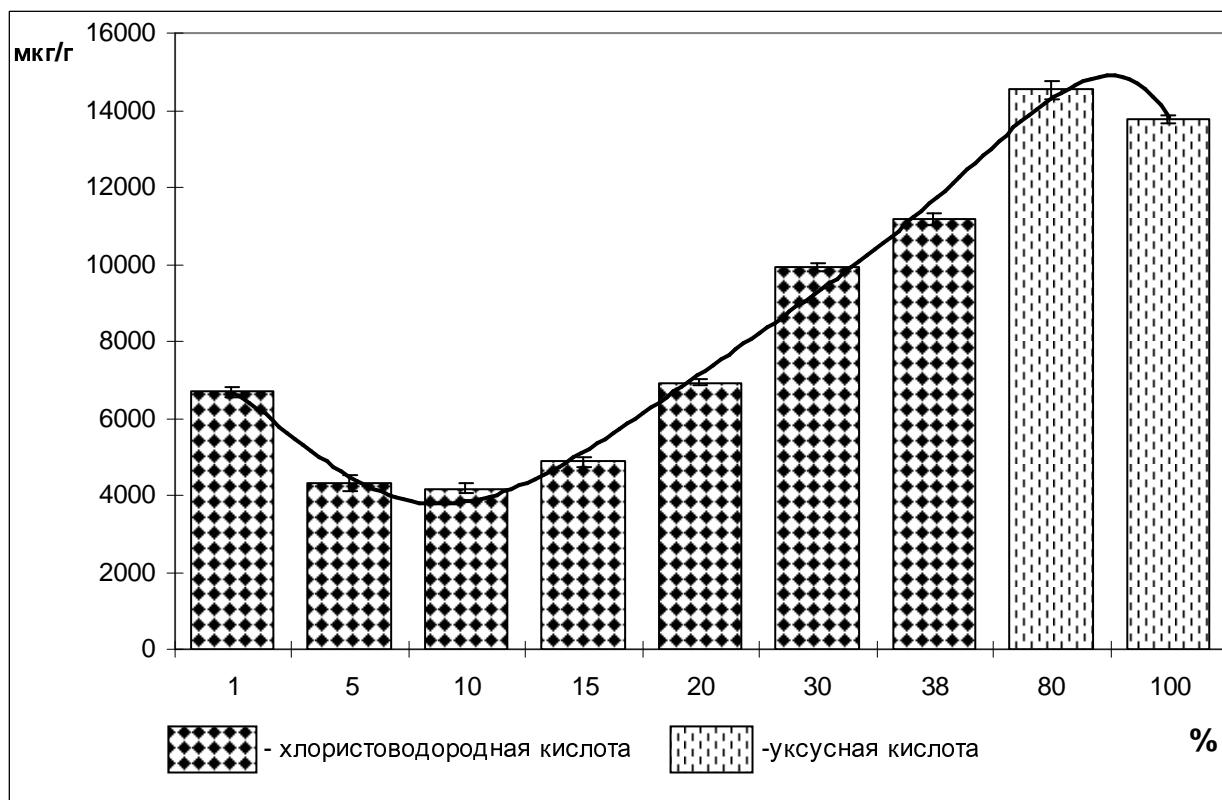


Рисунок 2 – Сравнительная характеристика влияния различных концентраций хлористоводородной и уксусной кислот высоких концентраций на извлечение алкалоидов из листьев маклейи

Из представленной диаграммы видно, что в целом с повышением концентрации хлористоводородной кислоты содержание суммы алкалоидов увеличивается, однако такому повышению предшествует снижение экстрагируемости алкалоидов. Так, экстрагирующая способность хлористоводородной кислоты 1 % практически сопоставима с экстрагирующей способностью кислоты 20 % и почти в 1,5 раза превышает кислоту в концентрации 5 - 15 %. Это, вероятно, является следствием плохой растворимости сангвиритрина в 10 % растворе хлористоводородной кислоты.

При разработке методики количественного определения алкалоидов с использованием уксусной кислоты нами изучался диапазон концентраций от 0 % (вода очищенная) до концентрированной кислоты. Было установлено, что во время экстракции водой очищенной при нагревании выход алкалоидов из сырья маклейи наименьший [5], поэтому в дальнейших исследованиях возможность использования воды очищенной в качестве экстрагента не рассматривалась.

В литературе имеются указания на минимальную растворимость сангвиритрина в 10%-ном растворе кислоты серной, что используется в технологических регламентах его получения из растительного сырья и методике количественного определения гравиметрическим методом [7]. Вместе с тем, рядом авторов для извлечения сангвиритрина из лекарственных форм рекомендуется использовать 1 % раствор серной кислоты для подкисления и создания необходимой pH в процессе экстракции [8]. Эти результаты согласуются с данными, полученными нами при использовании в качестве экстрагента растворов хлористоводородной кислоты.

Вместе с тем, в экстрактах, полученных с использованием уксусной кислоты высоких концентраций, содержание алкалоидов значительно выше (в 1,3 раза), чем в экстрактах с использованием хлористоводородной кислоты концентрированной. Также из приведенных данных видно, что уксусная кислота 100 % несколько уступает уксусной кислоте 80 % по экстрагирующей способности, что согласуется с

данными, полученными нами ранее методом ВЭЖХ [5].

Таким образом, уксусная кислота как экстрагент алкалоидов имеет преимущество перед использованием с этой целью минеральных кислот.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучена возможность применения хлористоводородной кислоты в качестве экстрагента алкалоидов из лекарственного растительного сырья. Установлено, что, несмотря на общую тенденцию увеличения выхода алкалоидов с увеличением концентрации кислоты, применение хлористоводородной кислоты концентрированной уступает по экстрагирующему способности уксусной кислоте высоких концентраций. Отмечено, что хлористоводородная кислота 1 % превосходит 5-15 % растворы по экстрагирующему способности алкалоидов из растительного сырья.

SUMMARY

A.A. Pogotskaya, G.N. Buzuk

THE RELATIVE CHARACTERISTIC OF THE INFLUENCE OF VARIOUS CONCENTRATIONS OF HYDROCHLORIC AND ACETIC ACIDS ON EXTRACTION OF ALKALOIDS FROM LEAVES OF MACLEAYA CORDATA

There has been studied the possibility of the application of Acidum hydrochloricum for the extraction of alkaloids from vegetative raw materials of the leaves of Macleaya cordata in comparison with optimum extragent (80-100 % acetic acid solution).

It is positioned, that as a whole with strengthening of the concentraition of the Acidum hydrochloricum the yield of the sum of alkaloids from the leaves of Macleaya cordata is enlarged. Extracting ability of 1 % of Acidum hydrochloricum is comparable to extracting ability of 20 % of acid and almost in 1,5 times exceeds acid in concentration 5 - 15 %. In the extracts received with use of an acetic acid in high concentrations, the maintenance of alkaloids considerably above (in 1,3 times), than in extracts with using of optimum concentrations of Acidum hydrochloricum.

Keywords: Macleaya cordata, Acetic acid, Acidum hydrochloricum.

ЛИТЕРАТУРА

- Новое лекарственное сырье – Folia Macleaya / А.А. Погоцкая [и др.] // Вестник фармации. – 2004. – Т.25, № 3. – С. 33-41.
- Адгина, В.В. Химиотерапевтическое изучение сангвиритрина при некоторых экспериментальных микозах / В.В. Адгина, С.А. Вичканова, О.Е. Ласская // Хим. - фарм. журнал. – 1976. – № 9. – С. 64 - 66.
- Вичканова, С.А. Клиническое исследование антимикробного растительного препарата сангвиритрин / С.А. Вичканова // Фармация. – 2003. – № 2. – С. 31 - 34.
- Сангвиритрин – новый лекарственный растительный препарат антимикробного действия. / С.А. Вичканова [и др.] // Хим. - фарм. журнал. – 1982. – Т.16, № 12. – С. 1515 - 1520.
- Погоцкая, А.А. Влияние возрастающих концентраций уксусной кислоты на извлечение алкалоидов из листьев маклеи / А.А. Погоцкая, Г.Н. Бузук, Н.А. Алексеев // Вестник фармации. – 2009. – Т.44, № 2. – С. 16-22.
- Погоцкая, А.А. Применение сканера и компьютерных программ цифровой обработки изображений для количественного определения алкалоидов в листьях маклеи сердцевидной / А.А. Погоцкая, Г.Н. Бузук // Вестник фармации. – 2009. – Т.46, № 4. – С. 32-38.
- Савина, А.А. Изучение сопутствующих веществ при производстве сангвиритрина из маклеи мелкоплодной / А.А. Савина, В.И. Шейченко, О.Н. Толкачев // Хим. - фарм. журнал. - 1997. – № 8. – С.32 - 33.
- Копылова, И.Е. Спектрофотометрический метод количественного определения сангвиритрина в готовом продукте и лекарственных формах / И.Е. Копылова, Г.А. Маслова, М.Е. Перельсон // Хим. - фарм. журнал. – 1978. – № 9. – С. 131 - 132.

Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
Витебский государственный
медицинский университет,
кафедра фармакогнозии и ботаники
с курсом ФПК и ПК, тел. раб.: 8 (0212) 37-09-29.
Погоцкая А.А.

Поступила 18.06.2010 г.
