

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К СТАНДАРТИЗАЦИИ ТРАВЫ ЗВЕРБОЯ

Моисеев Д.В., Лукашов Р.И.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

Введение. Создание национальной лекарственной политики предполагает обеспечение лекарственной безопасности населения. Лекарственная безопасность подразумевает не только выпуск высококачественной лекарственной продукции химико-фармацевтическими предприятиями, но и высокое качество исходного сырья.

Понятие «качество» включает ряд показателей и строго регламентируется в соответствии с требованиями действующих нормативных документов (НД) на лекарственное растительное сырье (ЛРС). Наиболее важным показателем качества с точки зрения химико-фармацевтического анализа ЛРС является количественное содержание действующих веществ.

Трава зверобоя обладает рядом ценных фармакологических свойств и широко применяется в медицинской практике, в том числе за рубежом [1]. Основными группами действующих веществ в траве зверобоя являются флавоноиды, гиперфорин и производные гиперичина.

Наиболее широко для химического анализа травы зверобоя используются хроматографические и спектрофотометрические методы. Методики, разработанные на основе этих методов, должны обеспечивать высокую воспроизводимость, точность, линейность, правильность и достоверность полученных результатов анализа. Каждая методика обладает определенными преимуществами и недостатками, поэтому важно подобрать методику, оптимальную для конкретных условий выполнения анализа.

Целью данной работы является характеристика качественного и количественного химического состав травы зверобоя, а также краткий аналитический обзор современных фармакопейных методик стандартизации травы зверобоя по действующим веществам.

Материалы и методы. Содержание в траве зверобоя гиперцицина колеблется от 0,08 до 0,5% от массы высушенного сырья, кроме того, существуют данные о присутствии других конденсированных антраценпроизводных: псевдогиперцицина, протопсевдогиперцицина, гиперикодегидродиантрона и франгулоэмодинантрона. Представители данной группы природных соединений содержатся во всех частях растения, кроме корней

Трава зверобоя содержит также флавоноиды в сумме не менее 1,5% (гиперозид, рутин, кверцетин, изокверцетрин, биапигенин), смолы – около 10%, дубильные вещества пирокатехиновой группы – от 7 до 15%, эфирное масло до 0,1%, антоцианы, фенилпропанониды (хлорогеновая кислота), флороглюцины (гиперфорин и адигиперфорин). Содержит холин, каротин (около 55 мг%), аскорбиновую (приблизительно 140 мг%) и никотиновую кислоты, сапонины, горечи, цериловый спирт, следы алкалоидоподобных соединений и др.

Результаты и обсуждение. В составе эфирного масла обнаружены d-линен, сесквитерпены и сложные эфиры изовалериановой кислоты. Цветки содержат более 1,1% гиперозида [1,2]

Количественное определение действующих веществ в траве зверобоя согласно т.2 ГФ РБ проводят по двум методикам [2]. В первой методике (заимствована из Европейской Фармакопеи) определяется сумма гиперцицинов в пересчете на гиперцицин. Проводится двукратная экстракция смесью тетрагидрофуран: вода (20: 80 об./об.) при нагревании в водяной бане при температуре 70⁰С в течение 30 минут, затем выпаривание досуха и растворение сухого остатка в метаноле. Компенсационный раствор – метанол. В качестве аналитического сигнала используется значение оптической плотности (А) при 590 нм. Недостатками такой методики являются трудоемкость, длительность выполнения, использование дорогих и токсичных растворителей. Положительным моментом является высокая степень перехода производных гиперцицина из измельченного ЛРС в экстрагент.

Нами разработана методика определения суммы гиперцицинов в пересчете на гиперцицин в траве зверобоя [3]. Данная методика не требует применения токсичных и дорогостоящих растворителей и реактивов, характеризуется простой исполнением и доступностью оборудования. В качестве основного экстрагента рекомендован 70% спирт. Продолжительность однократного извлечения 60 минут при нагревании на водяной бане при температуре 60⁰С.

Вторая методика (приводит данные Фармакопеи СССР XI изд.) основана на определении в сырье суммы флавоноидов в пересчете на рутин. Указанная методика разработана на основе метода дифференциальной фотометрии. Экстракция проводится трижды 50% этанолом при нагревании на водяной бане в течение 30 минут. После фильтрации полученного раствора проводят реакцию комплексообразования со спиртовым раствором алюминия хлорида 50 г/л. Раствор сравнения – стандарт рутина. Компенсационный раствор не содержит алюминия хлорида. Измерение значения оптической плотности проводят при 415 нм. Существенными недостатками такой методики представляются длительность выполнения и неполное высвобождение активных компонентов в экстрагент.

Преимущества – доступность реактивов и оборудования, низкая токсичность растворителей.

Ряд авторов [4] для определения суммы флавоноидов в траве зверобоя предлагает использовать однократную экстракцию 70% спиртом на кипящей водяной бане в течение 90 минут, что обеспечивает наиболее полное высвобождение определяемых веществ в растворитель. Однако нами установлено, что при экстракции на кипящей водяной бане происходит значительное снижение (до 50%) содержания гиперфорина (одно из активных веществ) по сравнению с экстракцией при температуре 60°C.

Методика USP-30 NF-25 [5] предлагает использовать для определения производных гиперина в траве зверобоя метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с градиентным элюированием. Экстракция данных соединений проводится смесью ацетон – метанол (1:1 об./об.). Определение проводят с помощью спектрофотометрического детектора при длинах волн 270 и 590 нм. Определение проводят на хроматографической колонке размерами 250 × 4,6 мм, содержащей силикагель с привитыми C₁₈-группами.

Основными преимуществами методики, выполненной на основе метода ВЭЖХ, являются высокая чувствительность, высокая селективность, малое время анализа, возможность определения веществ, не относящихся к производным гиперина, а также возможность качественного анализа соединений растительного происхождения. Недостатки – использование токсичных растворителей для экстракции, дорогостоящего оборудования.

Выводы. В настоящее время отсутствуют единые подходы к определению биологически активных веществ (БАВ) в траве зверобоя. Наиболее важным являются комплексный подход к определению различных групп БАВ травы зверобоя, разработка методик количественного анализа на основе метода производной спектрофотометрии, а также обоснование выбора доступных и нетоксичных экстрагентов.

Литература

1. WHO monographs on selected medicinal plants / World Health Organization. – Geneva – 2002. – Vol 2. – P. 149–171.
2. Государственная Фармакопея Республики Беларусь. Т.2. Контроль качества вспомогательных веществ и лекарственного растительного сырья / Центр экспертиз и испытания в здравоохранении // Под общ. ред. А.А. Шерякова. – Молодечно. «Победа». – 2008 – С. 346–348.
3. Лукашов, Р.И Стандартизация травы зверобоя по производным гиперина / Р.И. Лукашов, Д.В. Моисеев // Материалы IX международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию образования Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета «Студенческая медицинская наука XXI века», 29 – 30 октября 2009 года. – Витебск, ВГМУ – 2009 – С. 415–417.
4. Правдивцева, О.Е. Исследование по обоснованию новых подходов к стандартизации сырья и препаратов зверобоя продырявленного / О.Е. Правдивцева, В.А. Куркин // Химия растительного сырья. – 2008. - № 1. – С. 81–86.
5. USP 30– NF 25– 2005 [электронный ресурс]. – электрон. текст данные и программа. – 1 электрон. оптич. диск (CD – ROM)