

УДК 615.32: 547.9+543.544

СТАНДАРТИЗАЦИЯ КОРНЕЙ СОЛОДКИ ГОЛОЙ И ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА «СОЛОДКИ ЭКСТРАКТ ЖИДКИЙ»**Куркин В.А., Егоров М.В.***ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru*

В настоящей работе обсуждаются новые аспекты химической стандартизации корней солодки голой (*Glycyrrhiza glabra* L.) и препаратов на основе сырья данного растения. Предложены новые подходы к химической стандартизации сырья и препаратов солодки голой, заключающиеся в определении методом спектрофотометрии и тонкослойной хроматографии (ТСХ) содержания сапонинов (глицирризиновая кислота) и флавоноидов (ликуразид). Разработаны методики качественного и количественного анализа лекарственного препарата солодки экстракта жидкого с использованием стандартных образцов глицирама (моноаммониевая соль глицирризиновой кислоты) и ликуразида (основной флавоноид данного растения). На основе результатов физико-химических, спектральных и фармакологических исследований сапонинов и флавоноидов, содержащихся в лекарственном растении, обоснована целесообразность создания импортозамещающих растительных препаратов на основе корней солодки.

Ключевые слова: лекарственные растения, сырье солодка голая, *Glycyrrhiza glabra* L., сапонины, глицирризиновая кислота, глицирам, флавоноиды, ликуразид, препараты, жидкий экстракт, стандартизация, тонкослойная хроматография, спектрофотометрия

STANDARDIZATION OF GLYCYRRHIZA GLABRA L. ROOTS AND PHARMACEUTICAL «GLYCYRRHIZAE LIQUID EXTRACT»**Kurkin V.A., Egorov M.V.***Samara State Medical University, Samara, e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru*

The new aspects of the chemical standardization of the roots of *Glycyrrhiza glabra* L. and its phytopharmaceuticals were discussed in this paper. New approaches for the chemical standardization of herbal materials of *Glycyrrhiza glabra* L. and its preparations were elaborated. It means the determination of saponins (glycyrrhizic acid) and flavonoids (licuraside) by the using such methods as thin layer chromatography (TLC) and spectrophotometry. The methods of the qualitative and quantitative analysis of liquid extract of *Glycyrrhiza glabra* L. by using such phytochemicals as glycyram (monoammonium salt of glycyrrhizic acid) and licuraside (predominant flavonoid of this plant) were proposed. Its important that on base of physical-chemical, spectral and pharmacological investigations of saponins and flavonoids, which contained the roots of *Glycyrrhiza glabra* L. the reasonability of the creation of the domestic phytopharmaceuticals was proved.

Keywords: medicinal plants, herbal materials, *Glycyrrhiza glabra* L., saponins, glycyrrhizic acid, glycyram, flavonoids, licuraside, phytopharmaceuticals, fluid extract, standardization, thin layer chromatography, spectrophotometry

В настоящее время особую актуальность приобретают исследования в плане расширения ассортимента доступных широким слоям населения препаратов на основе лекарственного растительного сырья [4–7]. Одной из актуальных задач современной фармации, в том числе фармакогнозии, является создание и внедрение импортозамещающих лекарственных средств, а также поиск рациональных путей использования лекарственных растений и лекарственного растительного сырья (ЛРС) в соответствии с принципами доказательной медицины [3]. В этом отношении особый интерес представляет солодка голая (*Glycyrrhiza glabra* L.), на основе корней которой выпускается целый ряд препаратов (экстракты густой и сухой, экстракт-концентрат, сироп солодкового корня и др.) [3, 4, 7]. Однако создание современных препаратов возможно лишь на основе методик, отвечающих параметрам валидации [4]. В этом контексте для успешной реализации Стратегии лекарственного обеспечения населения Рос-

сийской Федерации на период до 2025 года имеются объективные предпосылки, поскольку в области фармакогнозии за последние 15–20 лет произошли качественные изменения в плане изучения химического состава лекарственных растений и ЛРС, причем этому способствовало то обстоятельство, что данная наука обогатилась современными спектральными и физико-химическими методами. Внедрение тонкослойной хроматографии (ТСХ), высокоэффективной жидкостной хроматографии, ЯМР-спектроскопии и других методов открыло новые возможности для совершенствования стандартизации ЛРС и фитопрепаратов, а также внедрения научно обоснованных технологий получения лекарственных средств корней солодки, в том числе на основе сапонинов и флавоноидов [1, 3–5, 8].

Цель данной работы – исследование по разработке методик качественного и количественного анализа лекарственного препарата «Солодки экстракт жидкий».

Материал и методы исследования

В качестве объектов исследования служили корни солодки голой, биологически активные соединения (глицирризиновая кислота, ликуразид, ликвиритин, ононин, ликвиритигенин, изоликвиритигенин, формонетин), выделенные из сырья данного растения, а также глицирам-стандартный образец и ликуразид-стандартный образец. Лекарственный препарат «Солодки экстракт жидкий» получали экстракцией из корней солодки голой (1:1) 40% этиловым спиртом.

В работе использованы тонкослойная хроматография, регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena).

Результаты исследования и их обсуждение

Для достижения поставленной цели нами были изучены условия хроматографического разделения сапонинов и флавоноидов корней солодки и экстракта жидкого, позволяющие обнаруживать доминирующие БАС – глицирризиновую кислоту и ликуразид. Для достоверного определения веществ нами предложено использовать государственные стандартные образцы – глицирам (моноаммониевая соль глицирризиновой кислоты) (сапонин) и ликуразид

(флавоноид). Использование данных стандартов позволяет исключить ошибки при идентификации диагностических веществ и, следовательно, обеспечивать валидацию методик качественного анализа сырья и препаратов солодки. Использование в качестве ГСО глицирама объясняется тем, что глицирризиновая кислота вещество нестабильное, что препятствует использованию данного соединения в качестве государственного стандартного образца.

При использовании пластинок «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» (система растворителей хлороформ – метанол – вода, 26:14:3) ликуразид обнаруживается на хроматограмме в виде доминирующего желтого или желтовато-оранжевого пятна с величиной R_f около 0,5, а глицирризиновая кислота – в виде фиолетового флуоресцирующего пятна (254 нм) с величиной R_f около 0,3 (на уровне ГСО глицирама). При этом обнаруживаются также пятна ликвиритина (R_f около 0,6), ононина (R_f около 0,7), ликвиритигенина и изоликвиритигенина (R_f около 0,8), а также формонетина (R_f около 0,9) (рис. 1).

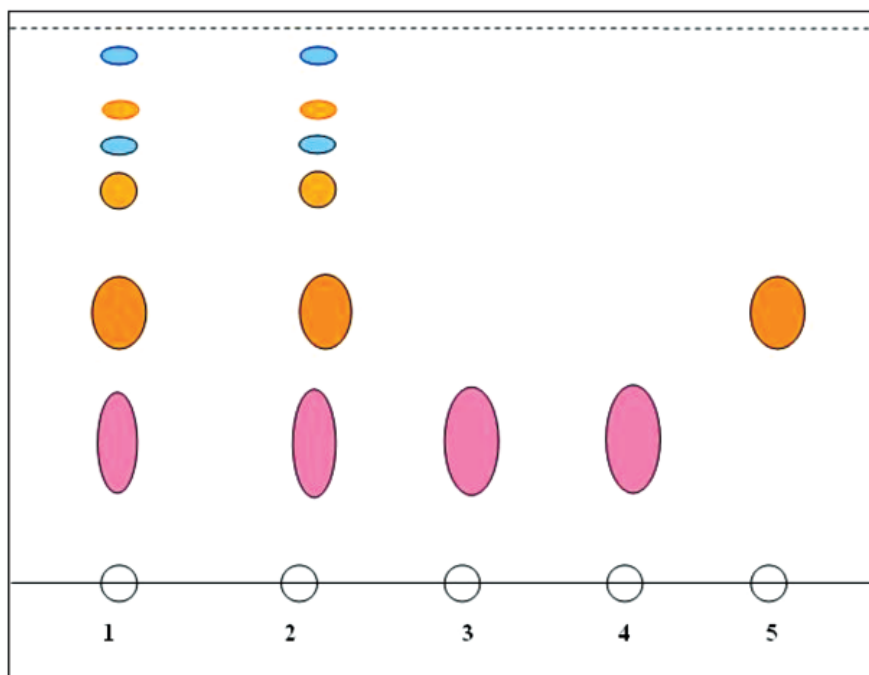


Рис. 1. Хроматографический профиль веществ корней и экстракта солодки голой. Обозначения: 1 – водно-спиртовое извлечение корней солодки голой; 2 – экстракт солодки жидкий; 3 – глицирам; 4 – глицирризиновая кислота; 5 – ликуразид

Для целей количественного анализа предложено, как и в случае корней солодки [1, 2], использование двух показателей – содержания глицирризиновой кислоты и содержания суммы флавоноидов (в пере-

счете на ликуразид). При количественном определении содержания глицирризиновой кислоты в электронном спектре испытуемого раствора содержится один интенсивный максимум поглощения при длине волны

258 ± 2 нм (рис. 2), коррелирующий с таким глицирризиновой кислоты и глицирама [1]. Для определения суммы флавоноидов, как и в случае корней солодки, предложены подходы к стандартизации, заключающиеся в использовании дифференциальной спектрофотометрии при аналитической длине

волны 420 нм [2], так как в УФ-спектре раствора Б экстракта солодки в присутствии $AlCl_3$ наблюдается bathochромный сдвиг длинноволновой полосы (рис. 3), соответствующий спектральным характеристикам ликуразида – одного из основных флавоноидов корней солодки голой.

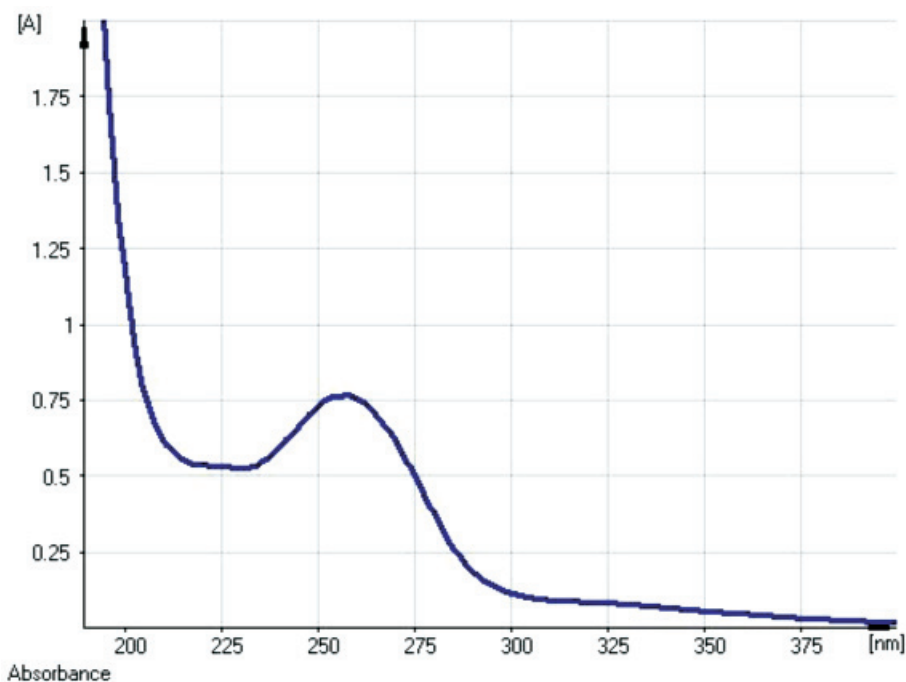


Рис. 2. УФ-спектр испытуемого раствора Б жидкого экстракта солодки

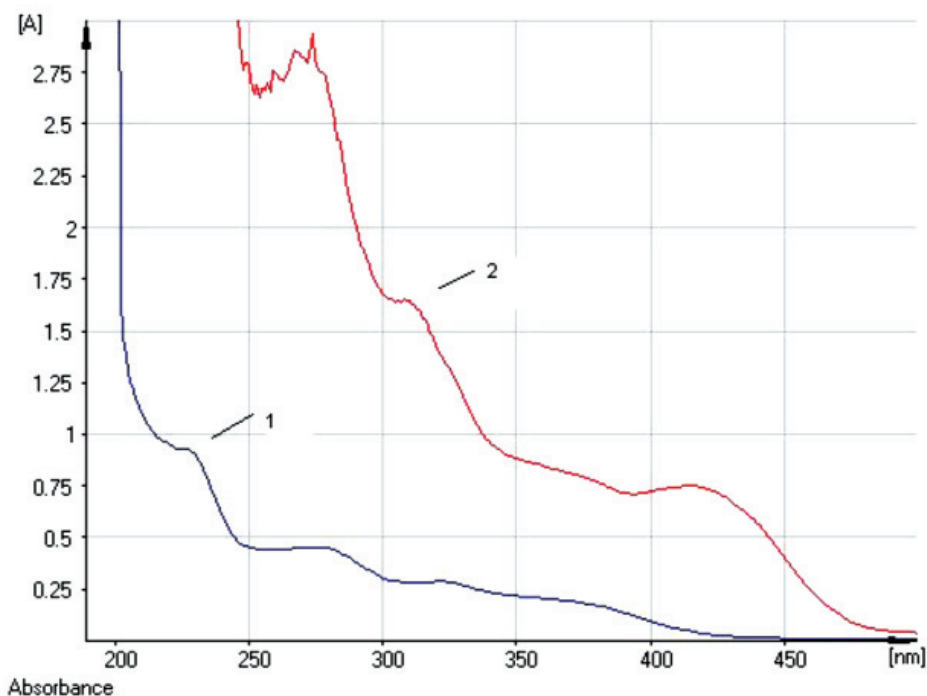


Рис. 3. УФ-спектры раствора Б экстракта солодки (1) и раствора Б в присутствии $AlCl_3$ (2)

Методика количественного определения содержания глицирризиновой кислоты в препарате «Солодки экстракт жидкий». 2,00 мл экстракта солодкового корня жидкого помещают в колбу коническую со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 20 мл спирта 95% и перемешивают. Далее добавляют 50 мл 3% ацетонового раствора кислоты трихлоруксусной и нагревают в течение 10 мин. После охлаждения полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр, колбу промывают двумя порциями 3% ацетонового раствора кислоты трихлоруксусной по 10 мл, фильтруя через тот же фильтр. К полученному фильтрату прибавляют по каплям раствор аммиака концентрированный до появления обильного осадка (рН от 8,3 до 8,6 по универсальному индикатору). Раствор с осадком переносят на беззольный фильтр, помещенный в воронку Бюхнера. Колбу и фильтр промывают 50 мл ацетона в три приема. Осадок с фильтром переносят в колбу, в которой проводилось осаждение, растворяют в 50 мл воды, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 мл и доводят объем раствора водой до

метки (раствор А). 1 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора водой до метки (раствор Б).

Оптическую плотность раствора Б измеряют на спектрофотометре при длине волны 258 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения воду.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б ГСО глицирама.

Содержание глицирризиновой кислоты в жидком экстракте в пересчете на глицирам в процентах (X) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{D \cdot m_o \cdot 250 \cdot 25 \cdot 5 \cdot 100}{V \cdot 1 \cdot D_o \cdot 50 \cdot 25} = \frac{D \cdot m_o \cdot 2500}{V \cdot D_o},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора (Б) при длине волны 258 нм; D_o – оптическая плотность раствора ГСО глицирама (Б) при длине волны 258 нм; V – объем препарата, в мл; m_o – масса ГСО глицирама в граммах.

Ошибка единичного определения с доверительной вероятностью составляет 4,78% (табл. 1).

Таблица 1

Метрологические характеристики методики количественного определения глицирризиновой кислоты в экстракте солодки жидком

<i>f</i>	\bar{x}	<i>S</i>	<i>P</i> , %	<i>t(P, f)</i>	Δx	<i>E</i> , %
10	8,15	0,1746	95	2,23	±0,39	±4,78

В случае методики количественного определения суммы флавоноидов ошибка

единичного определения с доверительной вероятностью составляет 3,78% (табл. 2).

Таблица 2

Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в экстракте солодки жидком

<i>f</i>	\bar{x}	<i>S</i>	<i>P</i> , %	<i>t(P, f)</i>	Δx	<i>E</i> , %
10	1,94	0,0345	95	2,23	±0,077	±3,95

Опыты с добавками ГСО глицирама и ликуразида в жидкий экстракт показали, что ошибка анализа находится в пределах ошибки единичного определения, что свидетельствует об отсутствии систематической ошибки в разработанных методиках.

Следовательно, использование в методиках количественного анализа ГСО глицирама и ликуразида позволяет объективно оценивать уровень содержания глицирризиновой кислоты и суммы флавоноидов в экстракте солодки жидком. Содержание глицирризиновой кислоты в сырье и экстракте солодки жидком находится в интервале от 7,50 до

15,23% (корни) и суммы флавоноидов от 1,90 до 2,11% (экстракт) соответственно.

Выводы

1. На основе изучения физико-химических и спектральных свойств сапонинов и флавоноидов корней солодки голой предложены новые подходы к стандартизации сырья и препаратов данного растения с использованием стандартных образцов ликуразида и глицирама.

2. Разработаны унифицированные методики качественного и количественного анализа корней солодки и экстракта

жидкого с использованием ТСХ и спектрофотометрии.

3. Метрологические характеристики методики количественного определения глицирризиновой кислоты и суммы флавоноидов в экстракте солодки жидком свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения составляет $\pm 4,78\%$ и $\pm 3,95\%$ соответственно.

Список литературы

1. Егоров М.В., Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Быков В.А. Валидация методик качественного анализа сырья и препаратов солодки // Фармация. – 2005. – Т. 53, № 1. – С. 9-12.

2. Егоров М.В., Куркин В.А. Совершенствование методов стандартизации корней солодки // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2011. – Т. 13, № 1(8). – С. 1992–1995.

3. Котельников Г.П., Шпигель А.С. Доказательная медицина. Научно обоснованная медицинская практика: монография. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», 2012. – 242 с.

4. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). – 2-е изд., перераб. и доп. – Самара: ООО «Офорт»; ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2007. – 1239 с.

5. Куркин В.А. Основы фитотерапии: учебное пособие для студентов фармацевтических вузов. – Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2009. – 963 с.

6. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография. – Самара: ООО «Офорт»; ГБОУ ВПО СамГМУ Минздравсоцразвития России, 2012. – 290 с.

7. Муравьева Д.А., Самылина И.А., Яковлев Г.П. Фармакогнозия: учебник. – М.: Медицина, 2002. – 656 с.

8. Wagner H. Pharmazeutische Biologie. Drogen und ihre Inhaltsstoffe. – Stuttgart-New York: Gustav Fischer Verlag, 1993. – 522 p.

References

1. Egorov M.V., Kurkin V.A., Zapesochnaya G.G., Bykov V.A. Validatsiya metodik kachestvennogo analiza

syrya i preparatov solodki // Фармация. 2005. Vol. 53, no. 1. pp. 9–12.

2. Egorov M.V., Kurkin V.A. Sovershenstvovanie metodov analiza standartizatsii kornei solodki // Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiiskoi Akademii nauk 2011. Vol. 13, no. 1(8). pp. 1992–1995.

3. Kotelnikov G.P., Shpigel A.S. Dokazatel'naya meditsina. Nauchno obosnovannaya meditsinskaya praktika: monografiya. Izd. 2-oe, pererab. i dop. M.: Izdatel'skaya gruppa. «GEOTAR-Media», 2012. 242 p.

4. Kurkin V.A. Farmakognozija: Uchebnik dlja studentov farmaceuticheskikh vuzov (fakul'tetov). 2-e izd., pererab. i dop., Samara, 2007, 1239 p.

5. Kurkin V.A. Osnovy fitoterapii: Uchebnoe posobie dlja studentov farmaceuticheskikh vuzov. Samara: ООО «Ofort», ГОУ ВПО «SamGMU», 2009. 963 p.

6. Kurkina A.V. Flavonoidy farmakopeinykh rastenii: Monografiya. Samara: ООО «Ofort», ГБОУ ВПО SamGMU Minzdravsotsrazvitiya Rossii, 2012. 290 p.

7. Murav'eva D.A., Samylina I.A., Yakovlev G.P. Farmakognozija: Uchebnik. M.: Medicina, 2002. 656 p.

8. Wagner H. Pharmazeutische Biologie. Drogen und ihre Inhaltsstoffe, Stuttgart-New York: Gustav Fischer Verlag, 1993. 522 p.

Рецензенты:

Первушкин С.В., д.фарм.н., профессор, заведующий кафедрой фармацевтической технологии ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Самара;

Дубищев А.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой фармакологии им. заслуженного деятеля науки РФ, профессора А.А. Лебедева, ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Самара.

Работа поступила в редакцию 30.04.2014.