

УДК 615.32:547.9+543.544

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ САПОНИНОВ В ПРЕПАРАТАХ АРАЛИИ МАНЬЧЖУРСКОЙ

© В.А. Куркин*, Т.К. Рязанова, Л.В. Зулькарняева

Самарский государственный медицинский университет, ул. Чапаевская, 89,
Самара, 443099 (Россия), e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

Разработана методика количественного определения содержания сапонинов в препаратах (настойке и сиропах) на основе корней аралии маньчжурской (*Aralia elata* (Miq.) Seem., синоним: *A. mandshurica* Rupr. et Maxim.) методом прямой спектрофотометрии после реакции с концентрированной серной кислотой (аналитическая длина волны – 510 нм для настоек, 525 нм для сиропов). Количественное определение сапонинов в сиропах проводили после предварительного гидролиза с использованием 20% раствора серной кислоты в течение 2 ч. Содержание сапонинов в образцах настоек варьировало от 1,51±0,05 до 1,72±0,06% в пересчете на аммонийную соль аралозидов А, В, С с усредненной молекулярной массой, в сиропах – от 0,131±0,003 % до 0,145±0,004 % в пересчете на олеаноловую кислоту, что в переводе на аммонийную соль аралозидов А, В и С с усредненной молекулярной массой соответствует 0,287–0,318%. Определено, что ошибка единичного определения содержания сапонинов в настойке из корней аралии маньчжурской с доверительной вероятностью 95% составляет ±3,44%, в сиропе из «Сапарала» – ±2,62%, а в сиропе из настойки – ±3,17%.

Ключевые слова: аралия маньчжурская, *Aralia elata* (Miq.) Seem., *A. mandshurica* Rupr. et Maxim., сапонины, аралозиды, олеаноловая кислота, «Сапарал», сироп, настойка, стандартизация, спектрофотометрия.

Введение

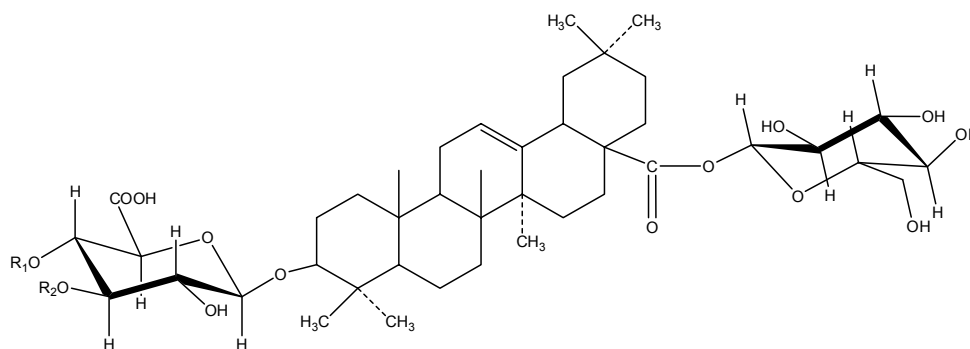
Корни аралии маньчжурской (*Aralia elata* (Miq.) Seem., синоним: *A. mandshurica* Rupr. et Maxim.) широко используются в официальной медицине в качестве источника лекарственных средств с общетонизирующей, адаптогенной активностью [1]. Согласно литературным данным, считается, что фармакологическое действие корней аралии обусловлено сапонидами (аралозидами) – гликозидами олеаноловой кислоты [1] (рис. 1).

На данный момент препараты на основе корней аралии маньчжурской на фармацевтическом рынке Российской Федерации немногочисленны и представлены настойками четырех производителей (ОАО «Дальхимфарм», ОАО «Кировская фармацевтическая фабрика», ОАО «Тверская фармфабрика», ОАО «Владивостокская фармфабрика»). Корни аралии маньчжурской также входят в состав противодиабетического растительного сбора «Арфазетин» [2]. Ранее существовал препарат «Сапарал» (таблетки 0,05 г), содержащий аммонийные соли аралозидов [3]. Как известно, лекарственная форма оказывает определенное психологическое воздействие на пациентов, которое может повлиять на эффективность лекарственной терапии. Наиболее значима проблема корригирования при производстве жидких пероральных лекарственных

форм, причем одним из важных факторов являются удобство применения [4]. Лекарственной формой, имеющей приятные органолептические свойства и позволяющей корригировать неприятные вкусовые ощущения, являются сиропы. Согласно результатам анализа ассортимента адаптогенов на фармацевтическом рынке РФ на данный момент среди лекарственных средств отсутствуют сиропы на основе растительных адаптогенов [5].

Куркин Владимир Александрович – заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, профессор, доктор фармацевтических наук, тел. (846) 260-33-59, e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru
Рязанова Татьяна Константиновна – заведующий лабораторией санитарно-химических методов исследования НИИ гигиены и экологии человека, кандидат фармацевтических наук, тел. (846) 260-33-59, e-mail: guazantatyana@mail.ru
Зулькарняева Ляйсян Ваилевна – студентка, e-mail: zulkarnjaeva-lesja@rambler.ru

* Автор, с которым следует вести переписку.



Гликозид	R ₁	R ₂
Аралозид А	α-L-арабинофуранозил	H
Аралозид В	α-L-арабинофуранозил	α-L-арабинофуранозил
Аралозид С	β-D-галактопиранозил	β-D-ксилофуранозил

Рис. 1. Структурные формулы аралозидов

Кроме этого, имеются определенные трудности со стандартизацией сырья и препаратов аралии маньчжурской. Методика количественного определения суммы сапонинов в действующей фармакопейной статье на корни аралии маньчжурской многостадийна и трудоемка, возможны значительные потери действующих соединений на различных этапах процесса [6]. Известные методики анализа препаратов аралии основаны на методике анализа сырья. В литературных источниках описана методика количественного определения сапонинов после предварительного гидролиза в пересчете на олеаноловую кислоту методом ультрафиолетовой спектрофотометрии при аналитической длине волны 310 нм [7]. На наш взгляд, в используемой для анализа области спектра возможно внесение вклада других природных соединений. В связи с этим была выбрана длина волны 510 нм (для аралозидов) и 525 нм (для олеаноловой кислоты), характерными максимумами в длинноволновой области для этих соединений после обработки концентрированной серной кислотой.

Цель данного исследования – разработка современных методов оценки количественного содержания сапонинов (аралозидов) в препаратах аралии маньчжурской: настойке и перспективной лекарственной форме – сиропе. Нами исследовались сиропы, полученные из настойки аралии и из субстанции «Сапарал» (сумма аммонийных солей аралозидов с содержанием сапонинов не менее 80%).

Экспериментальная часть

Объектами исследования являлись промышленные образцы «Аралии настойка» (производства ОАО «Дальхимфарм» и ОАО «Тверская фармацевтическая фабрика»), образцы субстанции «Сапарал» с содержанием сапонинов 85,0%, рабочий образец аралозид А (степень чистоты 97,0%) и рабочие образцы сиропов, полученных из настойки и «Сапарала» (корригент – сорбит). Сиропы получали на основании вкусового сиропа, полученного по стандартной технологии [8], в который настойку или «Сапарал» добавляли таким образом, чтобы содержание действующих веществ в столовой ложке составляло 50 мг (разовая доза).

В исследовании использовали спектрофотометрический метод. Регистрацию спектров проводили с помощью спектрофотометров «Specord 40» (Analytik Jena) и СФ-2000.

С целью разработки методики количественного определения аралозидов изучены спектры поглощения извлечения из корней аралии маньчжурской и «Сапарала» после взаимодействия с концентрированной серной кислотой (рис. 2).

В качестве аналитической нами была выбрана длина волны 510 нм. В качестве стандарта использовали «Сапарал», который, на наш взгляд, соответствует аммонийной соли аралозидов А, В, С с усредненной молекулярной массой, в пересчете на которую проводится количественное определение в фармакопейной статье [6].

Для анализа настоек 2,0 мл препарата помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили 95% этиловым спиртом до метки (раствор А). 10,0 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили 95% этиловым спиртом до метки (раствор В). К 1,0 мл полученного раствора добавляли 4,0 мл концентрированной серной кислоты, нагревали при перемешивании на кипящей водя-

ной бане 15 мин. После охлаждения измеряли оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 510 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали приготовленный следующим образом раствор: к 1,0 мл 95% этилового спирта добавляли 4,0 мл концентрированной серной кислоты, нагревали на кипящей водяной бане при перемешивании 15 мин, охлаждали до комнатной температуры.

Приготовление раствора рабочего стандартного образца «Сапарала». 0,05 г «Сапарала» (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл. Растворяют в 20 мл воды очищенной и доводят водой очищенной до метки. К 1,0 мл полученного раствора добавляют 4,0 мл концентрированной серной кислоты, нагревают на кипящей водяной бане при перемешивании в течение 15 мин.

После охлаждения измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 510 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм на фоне раствора сравнения.

Содержание суммы сапонинов (X) в пересчете на аммонийную соль аралозидов А, В, С с усредненной молекулярной массой в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot X_{ar} \cdot 25 \cdot 25 \cdot 5 \cdot 1 \cdot 100}{D_0 \cdot 2 \cdot 10 \cdot 1 \cdot 50 \cdot 5} = \frac{D \cdot m_0 \cdot X_{ar} \cdot 62,5}{D_0 \cdot m},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; D_0 – оптическая плотность раствора РСО «Сапарала»; m_0 – навеска «Сапарала», г; X_{ar} – степень чистоты «Сапарала», %;

При отсутствии рабочего образца «Сапарала» возможно использование удельного показателя поглощения – 56,0:

$$X = \frac{D \cdot 25 \cdot 25 \cdot 5}{2 \cdot 10 \cdot 1 \cdot 56} = \frac{D \cdot 62,5}{m \cdot 112},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; 56 – значение удельного показателя поглощения для «Сапарала» (аммонийной соли аралозидов А, В и С с усредненной молекулярной массой) после взаимодействия с концентрированной серной кислотой при аналитической длине волны 510 нм.

Содержание суммы сапонинов в проанализированных образцах настоек аралии маньчжурской варьировало от $1,51 \pm 0,05$ до $1,72 \pm 0,06\%$.

Результаты статистической обработки проведенных опытов показывают, что ошибка единичного определения суммы сапонинов в корнях аралии маньчжурской с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 3,44\%$.

Метрологические характеристики метода количественного определения суммы сапонинов в настойке аралии маньчжурской представлены в таблице 1.

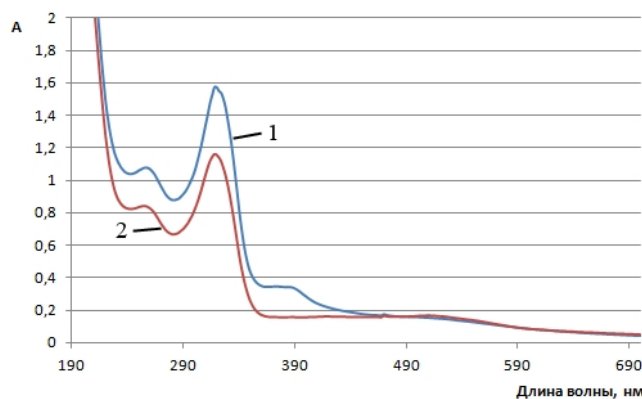


Рис. 2. Спектры поглощения извлечения из корней аралии маньчжурской (1), «Сапарала» (2) после взаимодействия с концентрированной серной кислотой

Таблица 1. Метрологические характеристики методики количественного определения сапонинов в настойке аралии маньчжурской (производства ОАО «Дальхимфарм»)

n	f	\bar{X}	S	P, %	t (P, f)	ΔX	E, %
6	5	1,60	0,05198	95	2,57	$\pm 0,055$	$\pm 3,44$

Таблица 2. Сравнительная характеристика экстракционной способности различных растворителей (с использованием сиропа из «Сапарала»)

Растворитель	Степень извлечения сапонинов, %
Хлороформ	46±2
Хлороформ – этиловый спирт 95% (9 : 1)	97±2
Хлороформ – этиловый спирт 95% (4 : 1)	99±2

В связи с мешающим влиянием корригента (сорбита) на результаты количественного определения сапонинов в сиропах из настойки аралии и «Сапарала» мы проводили предварительный гидролиз аралозидов до агликона (олеаноловой кислоты). Гидролиз проводили с использованием 20% раствора серной кислоты в течение 2 ч. Для извлечения из реакционной смеси агликона использовали жидкость-жидкостную экстракцию. В таблице 2 представлена сравнительная характеристика извлекающей способности смесей растворителей. Исследование экстракционной способности растворителей проводили с использованием сиропа из «Сапарала», для которого было

известно содержащееся в нем количество сапонинов.

Таким образом, оптимальной извлекающей способностью обладает смесь хлороформа и 95% этилового спирта в соотношении 4 : 1.

Количественное определение сапонинов в сиропе, как и в настойке, проводили прямым спектрофотометрическим методом после взаимодействия с концентрированной серной кислотой. Оптическую плотность измеряли при аналитической длине волны 525 нм, которая соответствует длинноволновому максимуму поглощения олеаноловой кислоты после реакции с серной кислотой (рис. 3).

Методика количественного определения сапонинов в сиропах аралии

5,0 г сиропа (точная навеска) помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, добавляют 7,5 мл 20% раствора серной кислоты и нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 2 ч. Полученный раствор охлаждают, помещают в делительную воронку и экстрагируют образовавшийся агликон (олеаноловую кислоту) смесью хлороформа и 95% этилового спирта в соотношении 4 : 1. Экстракцию проводили три раза, каждый раз сливая нижний слой в коническую колбу. Полученный экстракт промывают водой очищенной. После отделения хлороформное извлечение упаривают досуха в фарфоровой чашке на кипящей водяной бане. Остаток растворяют в 95% этиловом спирте и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл. К 1,0 мл полученного раствора добавляют 4,0 мл концентрированной серной кислоты и нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин.

После охлаждения измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 525 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют приготовленный следующим образом раствор: к 1,0 мл 95% этилового спирта добавляют 4,0 мл концентрированной серной кислоты, нагревают на кипящей водяной бане при перемешивании 15 мин, охлаждают до комнатной температуры.

Параллельно готовят раствор стандартного образца олеаноловой кислоты. 0,02 г олеаноловой кислоты (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл. Растворяют в 95% этиловом спирте при нагревании. К 1,0 мл полученного раствора добавляют 4,0 мл концентрированной серной кислоты, нагревают на кипящей водяной бане при перемешивании в течение 15 мин.

Содержание суммы сапонинов в процентах (X) в пересчете на олеаноловую кислоту рассчитывают по формуле

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot 25 \cdot 5 \cdot 1 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 1 \cdot 100 \cdot 5} = \frac{D \cdot m_0 \cdot 25}{D_0 \cdot m}$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; D₀ – оптическая плотность раствора СО олеаноловой кислоты; m – масса навески сиропа, г; m₀ – навеска олеаноловой кислоты, г.

Содержание сапонинов в сиропе в пересчете на олеаноловую кислоту варьировало от 0,131±0,003 до 0,145±0,004%. С учетом средней молекулярной массы сапонинов (1000 г/моль) содержание сапонинов в сиропах составляло 0,287–0,318% в пересчете на аммонийную соль аралозидов А, В и С с усредненной молекулярной массой.

Результаты статистической обработки проведенных опытов показывают, что ошибка единичного определения суммы сапонинов в сиропе из сапарала с доверительной вероятностью 95% составляет ±2,62%, в сиропе из настойки – ±3,17%. Метрологические характеристики метода количественного определения суммы сапонинов в сиропе аралии маньчжурской представлены в таблице 3.

Рис. 3. Спектр поглощения олеаноловой кислоты (1) и сиропа аралии маньчжурской (2) после взаимодействия с концентрированной серной кислотой

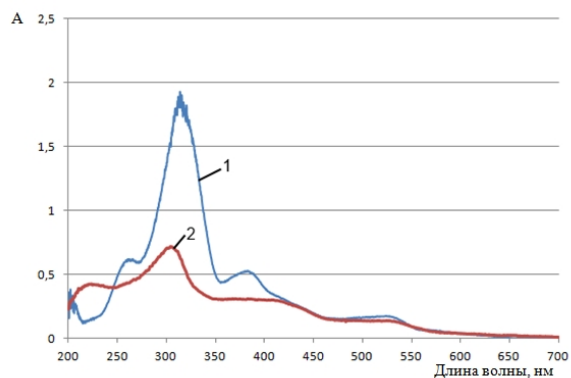


Таблица 3. Метрологические характеристики методики количественного определения сапонинов в сиропах аралии маньчжурской

Объект	n	f	\bar{X}	S	$P, \%$	$t(P, f)$	ΔX	$E, \%$
Сироп из «Сапарала»	7	6	0,141	0,004	95	2,446	$\pm 0,004$	$\pm 2,62$
Сироп из настойки	7	6	0,144	0,0049	95	2,446	$\pm 0,005$	$\pm 3,17$

Выводы

Таким образом, в ходе исследования были разработаны методика количественного определения суммы сапонинов в настойке и сиропах аралии маньчжурской методом прямой спектрофотометрии после взаимодействия с концентрированной серной кислотой. Все полученные результаты были статистически обработаны. Содержание сапонинов в образцах настоек сиропов варьировало от $1,51 \pm 0,05$ до $1,72 \pm 0,06\%$ в пересчете на аммонийную соль аралозидов с усредненной молекулярной массой, в сиропах – от $0,131 \pm 0,003$ до $0,145 \pm 0,004\%$ в пересчете на олеаноловую кислоту, что в переводе на аммонийную соль аралозидов А, В и С с усредненной молекулярной массой соответствует $0,287–0,318\%$.

Список литературы

1. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). 2-е изд., перераб. и доп. Самара, 2007. 1239 с.
2. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. Электрон. дан. 2015. Режим доступа: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>.
3. Минина С.А., Каухова И.Е. Химия и технология фитопрепаратов: учебное пособие. М., 2004. 560 с.
4. Чуешов В.И., Чернов М.Ю., Хохлова Л.М. и др. Промышленная технология лекарств: учебник для студентов высших учебных заведений. В 2 т. Т. 2. Харьков, 1999. 704 с.
5. Куркин В.А., Петрухина И.К., Акушская А.С. Исследование номенклатуры адаптогенных лекарственных препаратов, представленных на фармацевтическом рынке Российской Федерации // *Фундаментальные исследования*. 2014. №8, Ч. 4. С. 898–902.
6. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. МЗ СССР. 11-е изд., доп. М., 1990. 400 с.
7. Писарев Д.И., Н.А. Мартынова Н.Н. Нетребенко и др. Сапонины и их определение в корневищах аралии маньчжурской в условиях Белгородской области // *Химия растительного сырья*. 2009. №4. С. 197–198.
8. ОФС.1.4.1.0012.15 «Сиропа». Государственная фармакопея Российской Федерации: Т. 2. МЗ РФ. 13-е изд. М., 2015. 1004 с.

Поступило в редакцию 26 мая 2016 г.

После переработки 2 марта 2017 г.

Kurkin V.A.*, Ryazanova T.K., Zulkarnyayeva L.V. QUANTITATIVE DETERMINATION OF SAPONINS IN THE DRUGS OF *ARALIA ELATA*

Samara State Medical University, Chapaevskaia st., 89, Samara, 443099 (Russia), e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

The method of the quantitative determination of the content of total saponins in the herbal drugs (tincture and syrup) of *Aralia elata* (Miq.) Seem. (synonym: *Aralia mandshurica* Rupr. et Maxim.) was developed by means of the direct spectrophotometry following reaction with concentrated sulfuric acid (analytical wavelength – 510 nm for tincture and 525 nm for syrups). The quantitative determination of the content of total saponins in syrups was conducted following preliminary hydrolysis in the presence of 20% sulfuric acid during two hours. The content of total saponins in the tincture varies from 1.51±0.05% to 1.72±0.06% calculated on ammonium salt of aralosides A, B, C with average molecular weight, in syrups from 0.131±0.003 % to 0.145±0.004 % calculated on oleanolic acid (0.287-0.318% calculated on ammonium salt of aralosides A, B, C with average molecular weight). It was determined that the error of a single definition of the contents of total saponins in the tincture from the roots of *Aralia mandshurica* with confidence probability of 95 % is ± 3.14 %, in syrup from “Sapara” ±2.62%, in syrup from tincture ±3.17%.

Keywords: *Aralia elata* (Miq.) Seem., *Aralia mandshurica* Rupr. et Maxim., saponins, aralosides, oleanolic acid, sapara, tincture, syrup, standardization, spectrophotometry.

References

1. Kurkin V.A. *Farmakognosiia*. [Pharmacognosy]. Samara, 2007, 1239 p. (in Russ.).
2. *Gosudarstvennyi reestr lekarstvennykh sredstv*. [State Register of Medicines]. 2015. [Electronic resource]. URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>. (in Russ.).
3. Minina S.A., Kaukhova I.E. *Khimiia i tekhnologiia fitopreparatov*. [Chemistry and technology of phytopreparations]. Moscow, 2004, 560 p. (in Russ.).
4. Chueshov V.I., Chernov M.Iu., Khokhlova L.M. et al. *Promyshlennaia tekhnologiia lekarstv*. [Industrial technology of medicines]. Kharkiv, 1999. vol. 2, 704 p. (in Russ.).
5. Kurkin V.A., Petrukhina I.K., Akushskaia A.S. *Fundamental'nye issledovaniia*, 2014, no. 8, part. 4, pp. 898–902. (in Russ.).
6. *Gosudarstvennaia farmakopeia SSSR: Vyp. 2. Obshchie metody analiza. Lekarstvennoe rastitel'noe syr'e*. [State Pharmacopoeia of the USSR: Vol. 2. General methods of analysis. Medicinal plant raw materials]. 11 ed. Moscow, 1990, 400 p. (in Russ.).
7. Pisarev D.I., N.A. Martynova N.N. Netrobenko et al. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2009, no. 4, pp. 197–198. (in Russ.).
8. *Gosudarstvennaia farmakopeia Rossiiskoi Federatsii: T. 2. OFS.1.4.1.0012.15 «Siropy»*. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation: T. 2. OFS.1.4.1.0012.15 "Syrups"]. 13 ed. Moscow, 2015, 1004 p. (in Russ.).

Received May 26, 2016

Revised March 2, 2017

* Corresponding author.