

УДК 615.322: 547.972+543.544

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫХ В СЫРЬЕ И ПРЕПАРАТАХ *ALOE ARBORESCENS* MILL.*

© В.А. Куркин^{1**}, Т.К. Рязанова¹, А.А. Шмыгарева², С.Н. Глущенко²

¹ Самарский государственный медицинский университет,
ул. Чапаевская, 89, Самара 443099 (Россия), e-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

² Оренбургский государственный медицинский университет,
ул. Советская, 6, Оренбург 460000 (Россия)

Алоэ древовидное (*Aloe arborescens* Mill., сем. *Asphodelaceae*) является фармакопейным растением, сырье которого используется для производства лекарственных препаратов с различным терапевтическим применением. Стандартизацию видов алоэ, согласно требованиям Британской, Японской, Европейской Фармакопей и Фармакопеи США проводят по содержанию барбалоина спектрофотометрическим методом. Методики анализа многостадийны, предусматривают предварительный кислотный гидролиз в сочетании с окислением, жидкость-жидкостную экстракцию образовавшихся агликонов и последующее комплексообразование с магния ацетатом.

В ходе исследования хроматографическим методом выделены смесь алоинов А и В (барбалоин) и алоэнин. Определено, что в электронных спектрах извлечений и препаратов из листьев алоэ древовидного наблюдается bathochromный сдвиг длинноволновой полосы в щелочно-аммиачном растворе, что подтверждает наличие антраценпроизводных. В условиях дифференциальной спектрофотометрии наблюдается максимум поглощения в области 412–416 нм, что свидетельствует о целесообразности использования в методике анализа барбалоина, имеющего максимум поглощения при длине волны 412 нм. В результате проведенного исследования разработаны методики количественного определения суммы антраценпроизводных в листьях и препаратах алоэ древовидного с использованием дифференциальной спектрофотометрии в пересчете на барбалоин при аналитической длине волны 412 нм. Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на барбалоин составило $0.60 \pm 0.03\%$ в свежих листьях алоэ древовидного, $0.50 \pm 0.02\%$ – в свежеприготовленном соке алоэ древовидного, $0.14 \pm 0.005\%$ – в препарате «Алоэ сок» (ЗАО «Вифитех») и $0.02 \pm 0.001\%$ – в препаратах «Алоэ экстракт жидкий», раствор для подкожного введения, производства ЗАО «Вифитех» и ОАО «Дальхимфарм».

Ключевые слова: алоэ древовидное, *Aloe arborescens* Mill, листья, антраценпроизводные, барбалоин, спектрофотометрия, хроматографический анализ.

Введение

Алоэ древовидное (*Aloe arborescens* Mill., сем. *Asphodelaceae*) является фармакопейным растением, сырье которого используется для производства ряда лекарственных препаратов с различным терапевтическим применением [1–3]. Родиной алоэ древовидного является Южная Африка, в России, как и в ряде других стран, виды алоэ широко распространены как комнатная и оранжерейная культура. История применения видов алоэ насчитывает более 6 тыс. лет [1, 3, 4].

Куркин Владимир Александрович – заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru, v.a.kurkin@samsmu.ru

Рязанова Татьяна Константиновна – доцент кафедры управления и экономики фармации, e-mail: t.k.ryazanova@samsmu.ru

Шмыгарева Анна Анатольевна – профессор кафедры управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии, e-mail: a.shmygareva@mail.ru

Глущенко Светлана Николаевна – соискатель, e-mail: svetlana94g@gmail.com

Лекарственные препараты из алоэ обладают широким спектром фармакологической активности благодаря присутствию биологически актив-

* Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcprtm.2021039221s

** Автор, с которым следует вести переписку.

ных соединений, относящихся к классам фенольные соединения (антрахиноны, антроны, пироны, хромоны и др.), биополимеры (полисахариды, гликопротеины), липиды, каротиноиды, аминокислоты, органические кислоты и др. [1, 2, 5–8]. В России разрешены к применению алоэ экстракт жидкий, алоэ сок, алоэ линимент, которые оказывают противовоспалительное, ранозаживляющее действие, разрабатываются другие лекарственные формы [9–12]. Продемонстрирована эффективность препаратов алоэ древовидного для приема внутрь при воспалительных заболеваниях, сопровождающихся запорами и снижением секреторной активности, а также их высокая антиоксидантная и ранозаживляющая активность [13–18].

Одним из наиболее известных биологически активных соединений видов алоэ является барбалоин, или алоин (смесь диастереоизомеров, обозначаемых как алоины А и В) (рис. 1а, б) [1, 2, 6, 7]. Содержание алоинов в разных видах алоэ может составлять от 0.1 до 10% и более в пересчете на абсолютно сухое сырье [19, 20]. В организме человека алоины метаболизируются в более активное соединение (алоэ-эмодин-9-антрон), который, как было установлено в исследованиях биологической активности, обуславливает слабительный эффект препаратов алоэ [1]. Помимо слабительного действия для барбалоина продемонстрировано противогистаминное, противовоспалительное, противовирусное, антимикробное, противоопухолевое действие [20]. Несмотря на опасения относительно канцерогенного потенциала алоинов и алоэ-эмодина, вызванные результатами некоторых исследований на крысах, тем не менее по результатам анализа совокупных данных многолетнего применения препаратов алоэ, выводов доклинических и клинических исследований не получено убедительных доказательств канцерогенной активности алоинов и алоэ-эмодина [6]. Другим важным биологически активным соединением сырья и препаратов алоэ древовидного является алоэнин (рис. 1в). Присутствие алоэнина подтверждено во всех образцах коммерческой продукции и лекарственного сырья и препаратов [1]. Результаты фармакологических исследований показывают, что он обладает выраженными антигистаминными, противовоспалительными свойствами, оказывает ингибирующее влияние на секрецию желудочного сока [1, 21].

Стандартизацию видов алоэ в Британской, Японской, Европейской Фармакопеех и Фармакопее США проводят по содержанию барбалоина (алоина А) спектрофотометрическим методом [2, 22–25]. В Российской Федерации в представленных на сайте Министерства здравоохранения проектах фармакопейных статей «Алоэ древовидного листа свежие» и «Алоэ древовидного листа» (взамен ФС 42-2191-84 и ФС 42-2800-91 соответственно) количественное определение также предусмотрено проводить спектрофотометрическим методом с пересчетом содержания суммы антраценпроизводных на алоэ-эмодин [2, 23, 25]. Все описанные в литературе методики многостадийны, предусматривают предварительный кислотный гидролиз в сочетании с окислением, жидкость-жидкостную экстракцию образовавшихся агликонов и последующее комплексообразование с магнием ацетатом [1, 23, 25].

В связи с этим целью работы являются исследования по совершенствованию методик количественного определения суммы антраценпроизводных в пересчете на барбалоин в сырье и препаратах алоэ древовидного.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования использовали свежие листья *Aloe arborescens* Mill., полученный *ex tempore* сок из свежих листьев алоэ древовидного, лекарственные препараты «Алоэ сок» (производитель ЗАО «Вифитех»), «Алоэ экстракт жидкий», раствор для подкожного введения (производители ЗАО «Вифитех», ОАО «Дальхимфарм»). Образцы сырья собирали летом и осенью 2020 г. Из листьев алоэ выжимали сок, который использовали для качественного (тонкослойная хроматография) и количественного анализа (спектрофотометрия), а также для препаративного выделения индивидуальных соединений.

Выделение индивидуальных веществ из листьев алоэ древовидного проводили с использованием колонной хроматографии на полиамиде (Woelm) в условиях градиентного элюирования смесями растворителей вода-этанол в различных соотношениях с последующей рехроматографией на силикагеле L 40/100 смесями растворителей хлороформ-этанол в разных соотношениях. Для количественного определения суммы антраценпроизводных в свежих листьях алоэ древовидного использовали метод дифференциальной спектрофотометрии, основанный на реакции антраценпроизводных с щелочно-аммиачным раствором [26]. Регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena). Содержание суммы антраценпроизводных в сырье и препаратах алоэ древовидного проводили методом дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 412 нм в пересчете на барбалоин и абсолютно сухое сырье.

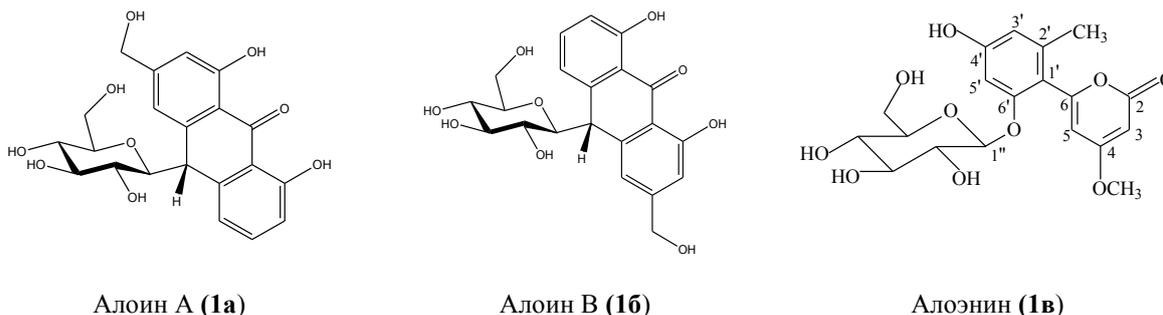


Рис. 1. Фенольные компоненты листьев алоэ древовидного

Тонкослойную хроматографию (ТСХ) осуществляли с использованием хроматографических пластинок «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ», микропипеткой наносили 0.02 мл водно-спиртовых извлечений исследуемых видов, а также раствор барбалоина и алоэнина. Определение проводили в системе *n*-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4 : 1 : 2) и хлороформ – этанол – вода (26 : 16 : 3). Хроматографическую пластинку помещали в камеру, которую предварительно насыщали в течение 24 ч смесью растворителей и хроматографировали восходящим способом. Полученную хроматограмму просматривали при дневном свете, в УФ-свете при $\lambda=254$ нм и $\lambda=366$ нм.

Обсуждение результатов

По результатам проводимых нами хроматографических исследований из свежих листьев алоэ древовидного с использованием многократной колоночной хроматографии на силикагеле, полиамиде и различных элюентных смесей были выделены доминирующие вещества, идентифицированные с использованием УФ-, ^1H -ЯМР-, ^{13}C -ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии как барбалоин, известный как смесь изомеров алоина А (**1a**) и алоина В (**1b**), и алоэнин (**1c**) (рис. 1).

Спектры ЯМР ^1H получали на приборе «Bruker AM 300» (300 МГц), спектры ЯМР ^{13}C – на приборе «Bruker DRX 500» (126.76 МГц), масс-спектры снимали на масс-спектрометре «Kratos MS-30», регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena).

Барбалоин (1) Кристаллы желтого цвета состава $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$, т.пл. 147–149 °С (водный спирт). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 270, 299, 360 нм.

Спектр ЯМР ^1H (300 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д., J/Гц): 4.57 (2H, д, J = 7.5, CH_2OH -группа), 4.63 (1H, д, J=7, H-10), 3.0–4.7 (6H глюкопиранозы), 4.78 (1H, д, J=7.2, H-1' глюкопиранозы), 7.22 (1H, д, J=2.0, H-2), 7.32 (1H, т, J = 7.5, H-6), 7.69 (1H, д, J=2.0, H-4), 7.80 (1H, дд, J=1.5 и 8.0, H-7), 8.43 (1H, с), 7.87 (1H, дд, J=1.5 и 8.0, H-5), 12.46 (1H, с, OH-группа при C-1), 12.58 (1H, с, OH-группа при C-8).

Спектр ЯМР ^{13}C (126.76 МГц, DMSO-d_6 , $\delta_{\text{с}}$, м.д.): 193.35 (C-9), 161.69 (C-8), 161.52 (C-1), 151.05 (C-3), 137.98 (C-6), 119.76 (C-5), 118.35 (C-4), 116.88 (C-7), 114.36 (C-2), 82.76 (C-1' глюкозы), 80.36 (C-5' глюкозы), 78.57 (C-3' глюкозы), 73.21 (C-2' глюкозы), 70.03 (C-4' глюкозы), 62.01 (CH_2OH -группа при C-3), 61.23 (C-6' глюкозы), 52.08 (C-10).

Масс-спектр (HR-ESI-MS, 180 °С, m/z): m/z 441.1908 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Алоэнин (2). Светло-желтые игольчатые кристаллы состава $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$, т.пл. 144–146 °С (водный спирт). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 229 пл., 306.

Спектр ЯМР ^1H (300 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д., J/Гц): 2.12 (3H, с, ароматическая CH_3 при C-2'), 3.1–5.0 (6H глюкопиранозы), 3.83 (3H, с, OCH_3 при C-4), 4.82 (1H, д, J = 7, H-1'' глюкопиранозы), 5.58 (1H, J = 2, H-3), 6.24 (1H, J = 2, H-5), 6.35 (1H, J = 2, H-5), 6.48 (1H, J = 2, H-5'), 10.87 (1H, с, OH-группа при C-4').

Спектр ЯМР ^{13}C (126.76 МГц, DMSO-d_6 , $\delta_{\text{с}}$, м.д.): 19.80 (C-2' CH_3), 56.25 (C-4, CH_3O), 60.62 (C-6'' глюкозы), 69.49 (C-4'' глюкозы), 73.23 (C-2'' глюкозы), 76.67 (C-3'' глюкозы), 77.08 (C-5'' глюкозы), 87.87 (C-5), 101.23 (C-3), 100.78 (C-1'' глюкозы), 104.28 (C-5'), 110.77 (C-3'), 113.37 (C-1'), 138.96 (C-1'), 156.59 (C-6), 157.91 (C-4'), 159.49 (C-4), 164.09 (C-6'), 171.01 (C-2).

Масс-спектр (HR-ESI-MS, 180 °С, m/z): m/z 411.1282 $[\text{M}+\text{H}]^+$, m/z 433.1105 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, m/z 449.0845 $[\text{M}+\text{K}]^+$.

При использовании метода ТСХ алоины на хроматограмме при просматривании в УФ-свете (366 нм) проявляются в виде пятна с ярко-желтой флуоресценцией с $R_f \approx 0.52$, алоэнин в УФ-свете при 366 нм обнаруживается в виде пятна с ярко-голубой флуоресценцией с $R_f \approx 0.45$.

При изучении электронных спектров сока, водно-спиртовых извлечений листьев алоэ древовидного обнаружен вклад в кривую поглощения алоэнина в области 300–310 нм и барбалоина в области 290–310 нм и 350–390 нм (рис. 2). Вклад антраценпроизводных в спектр лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов алоэ древовидного подтверждается батохромным сдвигом длинноволновой полосы в щелочно-аммиачной среде, а также данными дифференциальных спектров с максимумом поглощения 412–416 нм (рис. 2–6 и рис. 1–6 электронного приложения). При этом важно отметить, что в случае алоэнина не наблюдается батохромный сдвиг длинноволновой полосы в щелочно-аммиачной среде, что свидетельствует о возможности определения суммы антраценпроизводных в присутствии данного вещества, несмотря на его относительно высокое содержание.

С учетом того, что антраценпроизводные и, в частности, барбалоин, являются биологически активными соединениями и вносят вклад в кривую поглощения, а также принимая во внимание тот факт, что максимумы поглощения раствора барбалоина (смесь алоина А и алоина В), приготовленного *ex tempore* сока и водно-спиртового извлечения сырья алоэ древовидного, находятся в области 412 нм (дифференциальный вариант), целесообразным является определение содержания суммы антраценпроизводных в пересчете на барбалоин при длине волны 412 нм (рис. 3–6 и рис. 1–6 электронного приложения).

С использованием данного метода нами разработана методика количественного определения суммы антраценпроизводных в свежих листьях алоэ древовидного. Для этого сравнилась экстракционная способность спиртов различных концентраций, соотношения сырье : экстрагент и времени экстрагирования. В ходе разработки методики определено, что важными параметрами являются: 40% этиловый спирт, соотношение «сырье – экстрагент» – 1 : 50, время экстракции 60 мин (табл. 1).

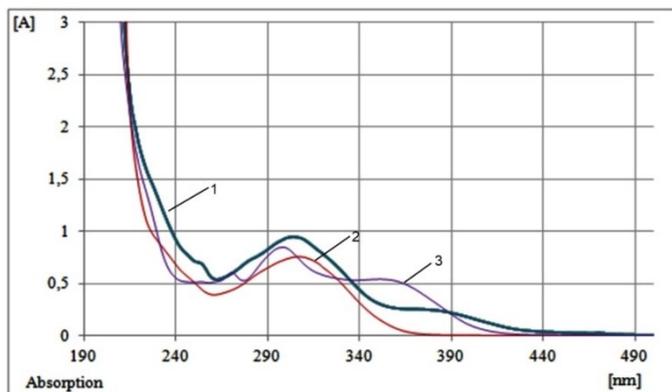


Рис. 2. Электронные спектры водно-спиртового извлечения из свежих листьев алоэ древовидного и выделенных из листьев алоэ соединений: 1 – водно-спиртовое извлечение из свежих листьев алоэ древовидного, 2 – 0.003% раствор барбалоина, 3 – 0.003% раствор алоэнина

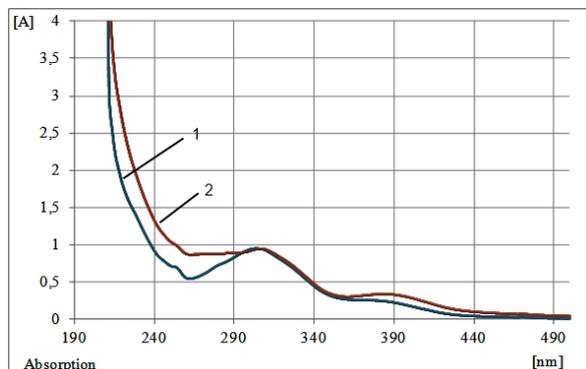


Рис. 3. Электронные спектры водно-спиртового извлечения из свежих листьев алоэ древовидного: 1 – водно-спиртовое извлечение из свежих листьев алоэ древовидного, 2 – водно-спиртовое извлечение в щелочно-аммиачной среде

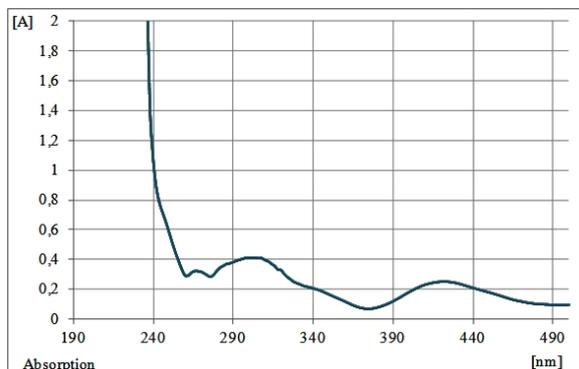


Рис. 4. Электронный спектр водно-спиртового извлечения из свежих листьев алоэ древовидного (дифференциальный вариант)

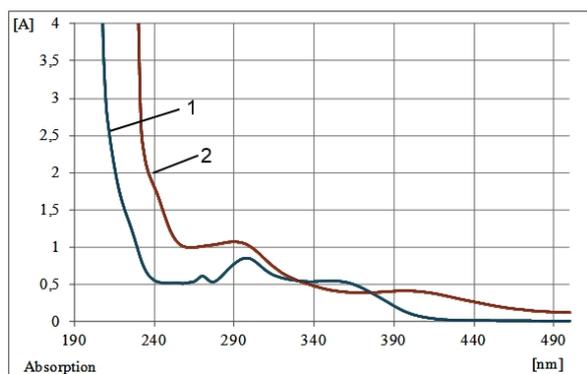


Рис. 5. Электронные спектры 0,003% раствора барбалоина: 1 – 0.003% раствор барбалоина, 2 – 0.003% раствор барбалоина в щелочно-аммиачной среде

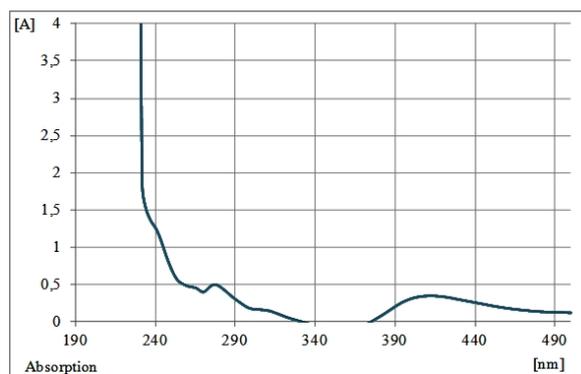


Рис. 6. Электронный спектр 0.003% раствора барбалоина (дифференциальный вариант)

Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в свежих листьях алоэ древовидного. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 40% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до ± 0.01 . Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 мин. Затем колбу охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр (красная полоса). Испытуемый раствор готовят следующим образом: 2 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят раствор до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор). Испытуемый раствор нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане. Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 412 нм через 40 мин после приготовления. В качестве раствора сравнения раствор, полученный следующим образом: 2 мл извлечения (1 : 50), помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора водой очищенной до метки.

Примечание: Приготовление раствора барбалоина. Около 0.0050 г (точная навеска) барбалоина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 15 мл 70% этилового спирта, доводят объем раствора 70% этиловым спиртом до метки (раствор А барбалоина). 5 мл раствора А барбалоина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор Б барбалоина). Измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 412 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, который готовят следующим образом: 5 мл раствора А барбалоина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора до метки водой очищенной (раствор сравнения Б барбалоина).

Таблица 1. Влияние различных факторов на полноту извлечения антраценпроизводных из свежих листьев алоэ древовидного

Параметры экстракции	Соотношение сырье : экстрагент	Продолжительность экстракции, мин	Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на барбалоин и абсолютно сухое сырье, %
Экстрагент			
95%	1 : 50	60	0.40 \pm 0.02
70%	1 : 50	60	0.55 \pm 0.02
40%	1 : 50	60	0.62 \pm 0.03
20%	1 : 50	60	0.37 \pm 0.01
Время экстрагирования			
60%	1 : 50	30	0.44 \pm 0.02
60%	1 : 50	60	0.62 \pm 0.03
60%	1 : 50	90	0.42 \pm 0.02
Соотношение «сырье : экстрагент»			
60%	1 : 30	60	0.40 \pm 0.01
60%	1 : 50	60	0.56 \pm 0.03
60%	1 : 100	60	0.60 \pm 0.03

Щелочно-аммиачный раствор готовят в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания.

Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на барбалоин и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле

$$x = \frac{D \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 5 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 25 \cdot 2 \cdot 25 \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; D_0 – оптическая плотность раствора СО барбалоина; m – масса сырья, г; m_0 – масса СО барбалоина, г; W – потеря в массе при высушивании, %.

В случае отсутствия стандартного образца барбалоина целесообразно использовать теоретическое значение удельного показателя поглощения – 102.

$$x = \frac{D \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{m \cdot 102 \cdot 2 \cdot (100 - W)} = \frac{D \cdot 62500}{m \cdot 102 \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса сырья, г; 102 – удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) барбалоина при 412 нм; W – потеря в массе при высушивании, %.

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы антраценпроизводных в свежих листьях алоэ древовидного представлены в таблице 2. Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в свежих листьях алоэ древовидного с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 3.36\%$ (табл. 2).

В соответствии с принципами унификации и гармонизации аналитических подходов для лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов на его основе разработанная для анализа сырья методика была адаптирована нами для анализа полученного *ex tempore* сока алоэ древовидного и лекарственных препаратов «Алоэ сок» (ЗАО «Вифитех»), «Алоэ экстракт жидкий», раствор для подкожного введения (ОАО «Дальхимфарм»; ЗАО «Вифитех»). Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на барбалоин составило $0.50 \pm 0.02\%$ в свежеприготовленном соке алоэ древовидного, $0.135 \pm 0.006\%$ в препарате «Алоэ сок» и $0.020 \pm 0.001\%$ в препаратах «Алоэ экстракт жидкий», раствор для подкожного введения. Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы антраценпроизводных в соке и препаратах алоэ древовидного представлены в таблице 2.

Валидационная оценка разработанной методики проводилась по показателям: специфичность, линейность, правильность и воспроизводимость. Специфичность методики определялась по соответствию максимумов поглощения в спектрах поглощения извлечения, сока и препаратов из листьев алоэ древовидного и выделенного из листьев барбалоина в щелочно-аммиачной среде. Линейность методики определяли для серии растворов барбалоина (с концентрациями в диапазоне от 0.01572 до 0.03816 мг/мл). Коэффициент корреляции составил 0.99995.

Правильность методики определяли методом добавок путем добавления раствора выделенного вещества с известной концентрацией (25, 50 и 75%) к испытуемому раствору. При этом средний процент восстановления составил 98%.

Таблица 2. Метрологические характеристики методик количественного определения суммы антраценпроизводных в сырье и препаратах алоэ древовидного

Образец	f	\bar{X}	S	$P, \%$	$t(P, f)$	$\pm X$	$E, \%$
Листья алоэ свежие	10	0.60	0.02991	95	2.23	± 0.02	± 3.36
Сок алоэ <i>ex tempore</i>	10	0.50	0.03140	95	2.23	± 0.02	± 4.25
«Алоэ сок»	10	0.135	0.00948	95	2.23	± 0.006	± 4.72
«Алоэ экстракт жидкий», раствор для подкожного введения	10	0.020	0.00147	95	2.23	± 0.001	± 4.91

Выводы

1. С использованием колоночной хроматографии из свежих листьев алоэ древовидного выделены смесь диастереоизомеров алоина А и алоина В (барбалоин) и алоэнин, идентифицированные на основании данных УФ-, ¹H-ЯМР-, ¹³C-ЯМР-спектроскопии.

2. Во всех электронных спектрах исследуемых образцов, кроме алоэнина, при добавлении щелочно-аммиачного раствора обнаруживается батохромный сдвиг длинноволновой полосы, что свидетельствует о вкладе антраценпроизводных в электронные спектры исследуемых объектов. В условиях дифференциальной спектрофотометрии наблюдается максимум поглощения в области 412–416 нм. Это дает основание применять методику определения содержания суммы антраценпроизводных методом дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 412 нм в пересчете на барбалоин в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах алоэ древовидного.

3. Разработана методика количественного определения суммы антраценпроизводных в свежих листьях алоэ древовидного, подобраны оптимальные условия экстракции: экстрагент – 40% спирта этилового, экстракция в течение 60 мин при соотношении «сырье-экстрагент» – 1 : 50.

4. Разработанная методика адаптирована для определения содержания суммы антраценпроизводных в выжатом *ex tempore* соке алоэ и лекарственных растительных препаратах из алоэ древовидного, что позволит унифицировать анализ сырья и препаратов по действующим компонентам.

Список литературы

1. Зилфикаров И.Н., Оленников Д.Н., Ибрагимов Т.А., Челомбитко В.А., Вандышев В.В. Современные аспекты фармакогнозического и биохимического изучения суккулентного сырья алоэ древовидного и каллизии душистой. Щёлково, 2013. 192 с.
2. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). 4-е изд., перераб. и доп. Самара, 2019. 1278 с.
3. Лавренов В.К., Лавренов Г.В. Полная энциклопедия лекарственных растений. В 2 т. М., 1999. Т. 2. 267 с.
4. Mabona U., van Vuuren S.F. Southern African medicinal plants used to treat skin diseases // S. Afr. J. Botany. 2013. Vol. 87. Pp. 175–193. DOI: 10.1016/j.sajb.2013.04.002.
5. Кудрицкая С.Е., Фишман Г.М., Загородская Л.М., Чиковани Д.М. Каротиноиды *Aloe arborescens* // Химия природных соединений. 1985. №4. С. 573.
6. ЕМА/НМРС/759585/2015/. Assessment report on *Aloe barbadensis* Mill. and on *Aloe* (various species, mainly *Aloe ferox* Mill. and its hybrids), *folii succus siccatus*. 2016. 56 p.
7. Groom Q.J., Reynolds T. Barbaloin in aloe species // *Planta Med.* 1987. Vol. 53. N4. Pp. 345–348. DOI: 10.1055/s-2006-962735.
8. Beppu H., Kawai K., Shimpo K., Chihara T., Tamai I., Ida C., Ueda M., Kuzuya H. Studies on the components of *Aloe arborescens* from Japan – monthly variation and differences due to part and position of the leaf // *Biochemical Systematics and Ecology.* 2004. Vol. 32. N9. Pp. 783–795. DOI: 10.1016/j.bse.2004.01.001.
9. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>.
10. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата «Алоэ сок» [Электронный ресурс]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=4ed4e116-a81b-4a9a-9d09-a09e94de3a71&t=.
11. Инструкции по медицинскому применению лекарственных препаратов «Алоэ экстракт жидкий» разных производителей [Электронный ресурс]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=2f720a05-e221-45a5-ac7d-61cb4f725060&t=.
12. Глушенко С.Н., Шмыгарева А.А., Саньков А.Н. Разработка суппозиторий на основе сока алоэ древовидного // *Аспирантский вестник Поволжья.* 2020. №1-2. С. 126–130. DOI: 10.17816/2072-2354.2020.20.1.126-130.
13. Yamamoto M., Masui T., Sugiyama K. et al. Anti-inflammatory active constituents of *Aloe arborescens* Miller // *Agric. Biol. Chem.* 1991. Vol. 55. Pp. 1627–1629. DOI: 10.1080/00021369.1991.10870794.
14. Beppu H., Koike T., Shimpo K., Chihara T., Hoshino M., Ida C., Kuzuya H. Radical-scavenging effects of *Aloe arborescens* Miller on prevention of pancreatic islet B-cell destruction in rats // *J. Ethnopharmacol.* 2003. Vol. 83. Pp. 37–45. DOI: 10.1016/s0378-8741(03)00268-x.
15. Cock I.E. The Genus *Aloe*: Phytochemistry and Therapeutic Uses Including Treatments for Gastrointestinal Conditions and Chronic Inflammation // *Novel Natural Products: Therapeutic Effects in Pain, Arthritis and Gastro-intestinal Diseases, Progress in Drug Research.* Springer Basel, 2015. Pp. 179–235. DOI: 10.1007/978-3-0348-0927-6_6.
16. Patent 79151113 (JP). Wound healing compositions from *Aloe arborescens* extracts / S. Kameyama, M. Shinho. 1980.
17. Singab A.N.B., El-Hefnawy H.M., Esmat A., Gad H.A., Nazeam J.A. A systemic review on *aloe arborescens* pharmacological profile: Biological activities and pilot clinical trials // *Phytother. Res.* 2015. Vol. 29. Pp. 1858–1867. DOI: 10.1002/ptr.5483.

18. Clementi M.E., Tringali G., Triggiani D., Giardina B. *Aloe arborescens* extract protects IMR-32 cells against alzheimer amyloid beta peptide via inhibition of radical peroxide production // Nat. Prod. Commun. 2015. Vol. 10. Pp. 1993–1995. DOI: 10.1177/1934578X1501001147.
19. Salehi B., Albayrak S., Antolak H., Kręgiel D. et al. Aloe Genus Plants: From Farm to Food Applications and Phyto-pharmacotherapy // Int. J. Mol. Sci. 2018. Vol. 19. N9. P. 2843. DOI: 10.3390/ijms19092843.
20. Patel D.K., Patel K., Tahilyani V. Barbaloin: a concise report of its pharmacological and analytical aspects // Asian Pac. J. Trop. Biomed. 2012. Vol. 2. N10. Pp. 835–838. DOI: 10.1016/S2221-1691(12)60239-1.
21. Оленников Д.Н., Зилфикаров И.Н., Ибрагимов Т.А. Исследование химического состава алоэ древовидного (*Aloe arborescens* Mill.) // Химия растительного сырья. 2010. №3. С. 77–82. DOI: 10.24412/Fdiaz_V-Vb0.
22. Olennikov D.N., Rokhin A.V., Zilfikarov I.N. Method for determining content of phenolic compounds in *Aloe arborescens* // Chemistry of Natural Compounds. 2008. Vol. 44. №6. Pp. 715–718. DOI: 10.1007/s10600-009-9192-6.
23. Государственная фармакопея Российской Федерации, XIV изд. М., 2018. Т. IV. 1831 с.
24. European Pharmacopoeia, 9th ed. Strasbourg, France, 2017.
25. Сергунова Е.В., Сорокина А.А. Изучение показателей качества листьев алоэ древовидного различных способов консервации // Фармация. 2019. Т. 68. №7. С. 21–25. DOI: 0.29296/25419218-2019-07-04.

Поступила в редакцию 17 февраля 2021 г.

После переработки 4 марта 2021 г.

Принята к публикации 5 марта 2021 г.

Для цитирования: Куркин В.А., Рязанова Т.К., Шмыгарева А.А., Глущенко С.Н. Разработка методик количественного определения суммы антраценпроизводных в сырье и препаратах *Aloe arborescens* Mill. // Химия растительного сырья. 2021. №3. С. 153–161. DOI: 10.14258/jcprm.2021039221.

Kurkin V.A.^{1*}, Ryazanova T.K.¹, Shmygareva A.A.², Glushchenko S.N.² THE DEVELOPMENT OF METHODS FOR DETERMINATION THE TOTAL OF ANTHRACENE DERIVATIVES IN RAW MATERIALS AND PREPARATIONS OF *ALOE ARBORESCENS* MILL.

¹ Samara State Medical University, ul. Chapaevskaya, 89; Samara 443099 (Russia), e-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

² Orenburg State Medical University, ul. Sovetskaya, 6, Orenburg 460000 (Russia)

Aloe arborescens Mill., family *Asphodelaceae*, is a pharmacopoeial plant, the raw material of which is used for the production of medicinal products for various therapeutic uses. The standardization of *Aloe* species in accordance with the requirements of the British, Japanese, European Pharmacopoeias and the United States Pharmacopoeia is carried out according to the barbaloin content by the spectrophotometric method. The methods are multistage, provide for preliminary acid hydrolysis in combination with the oxidation, liquid-liquid extraction of the formed aglycones and subsequent complexation with magnesium acetate. A mixture of isomers of aloin A and aloin B (barbaloin) and aloenin were isolated by chromatographic methods. It was determined that in all electronic spectra of the extracts and preparations from the leaves of *Aloe arborescens* Mill., a bathochromic shift of the long-wavelength band in the alkaline-ammonia solution is observed, which confirms the presence of anthracene derivatives. Under conditions of differential absorption, a maximum absorption is observed in the range of 412–416 nm, which indicates the advisability of using barbaloin in the analysis method, which has a maximum absorption at a wavelength of 412 nm. As a result of the study, there were developed methods for the quantitative determination of the total of anthracene derivatives in leaves and preparations of *Aloe arborescens* Mill. by using of the differential spectrophotometry calculated on barbaloin at an analytical wavelength of 412 nm. The content of total anthracene derivatives calculated on barbaloin was 0.60±0.03% in *Aloe arborescens* fresh leaves, 0.5±0.02% in freshly prepared juice, 0.135±0.006% in "Aloe juice" and 0.020±0.001% in "Aloe liquid extract", solution for subcutaneous administration, produced by ZAO "Vifitech" and OAO "Dalkhimpharm".

Keywords: *Aloe arborescens* Mill, leaves; anthracene derivatives, barbaloin, spectrophotometry, chromatographic analysis.

* Corresponding author.

References

1. Zilfikarov I.N., Olennikov D.N., Ibragimov T.A., Chelombit'ko V.A., Vandyshev V.V. *Sovremennyye aspekty farmakognosticheskogo i biokhimicheskogo izucheniya sukkulentnogo syr'ya aloe drevovidnogo i kallizii dushistoy*. [Modern aspects of pharmacognostic and biochemical study of succulent raw materials of aloe tree and callusia arboreal]. Shcholkovo, 2013, 192 p. (in Russ.).
2. Kurkin V.A. *Farmakognoziya: uchebnik dlya studentov farmatsevticheskikh vuzov (fakul'tetov). 4-ye izd., pere-rab. i dop.* [Pharmacognosy: a textbook for students of pharmaceutical universities (faculties). 4th ed., Revised. and add.]. Samara, 2019, 1278 p. (in Russ.).
3. Lavrenov V.K., Lavrenov G.V. *Polnaya entsiklopediya lekarstvennykh rasteniy. V 2-kh t.* [Complete encyclopedia of medicinal plants. In 2 volumes]. Moscow, 1999, vol. 2, 267 p. (in Russ.).
4. Mabona U., van Vuuren S.F. *S. Afr. J. Botany.*, 2013, vol. 87, pp. 175–193. DOI: 10.1016/j.sajb.2013.04.002.
5. Kudritskaya S.Ye., Fishman G.M., Zagorodskaya L.M., Chikovani D.M. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*, 1985, no. 4, pp. 573. (in Russ.).
6. *EMA/HMPC/759585/2015/. Assessment report on Aloe barbadensis Mill. and on Aloe (various species, mainly Aloe ferox Mill. and its hybrids), folii succus siccatus*, 2016, 56 p.
7. Groom Q.J., Reynolds T. *Planta Med.*, 1987, vol. 53, no. 4, pp. 345–348. DOI: 10.1055/s-2006-962735.
8. Beppu H., Kawai K., Shimpo K., Chihara T., Tamai I., Ida C., Ueda M., Kuzuya H. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2004, vol. 32, no. 9, pp. 783–795. DOI: 10.1016/j.bse.2004.01.001.
9. *Gosudarstvennyy reyestr lekarstvennykh sredstv* [State register of medicines]. URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>. (in Russ.).
10. *Instruktsiya po meditsinskomu primeneniyu lekarstvennogo preparata «Aloe sok»* [Instructions for medical use of the medicinal product "Aloe juice"]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=4ed4e116-a81b-4a9a-9d09-a09e94de3a71&t=. (in Russ.).
11. *Instruktsii po meditsinskomu primeneniyu lekarstvennykh preparatov «Aloe ekstrakt zhidkiy» raznykh proizvoditeley* [Instructions for the medical use of medicines "Aloe extract liquid" from different manufacturers]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=2f720a05-e221-45a5-ac7d-61cb4f725060&t=. (in Russ.).
12. Glushchenko S.N., Shmygareva A.A., San'kov A.N. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*, 2020, no. 1-2, pp. 126–130. DOI: 10.17816/2072-2354.2020.20.1.126-130. (in Russ.).
13. Yamamoto M., Masui T., Sugiyama K. et al. *Agric. Biol. Chem.*, 1991, vol. 55, pp. 1627–1629. DOI: 10.1080/00021369.1991.10870794.
14. Beppu H., Koike T., Shimpo K., Chihara T., Hoshino M., Ida C., Kuzuya H. *J. Ethnopharmacol.*, 2003, vol. 83, pp. 37–45. DOI: 10.1016/s0378-8741(03)00268-x.
15. Cock I.E. *Novel Natural Products: Therapeutic Effects in Pain, Arthritis and Gastro-intestinal Diseases, Progress in Drug Research*. Springer Basel, 2015, pp. 179–235. DOI: 10.1007/978-3-0348-0927-6_6.
16. Patent 79151113 (JP). 1980.
17. Singab A.N.B., El-Hefnawy H.M., Esmat A., Gad H.A., Nazeam J.A. *Phytother. Res.*, 2015, vol. 29, pp. 1858–1867. DOI: 10.1002/ptr.5483.
18. Clementi M.E., Tringali G., Triggiani D., Giardina B. *Nat. Prod. Commun.*, 2015, vol. 10, pp. 1993–1995. DOI: 10.1177/1934578X1501001147.
19. Salehi B., Albayrak S., Antolak H., Kręgiel D. et al. *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, vol. 19, no. 9, p. 2843. DOI: 10.3390/ijms19092843.
20. Patel D.K., Patel K., Tahilyani V. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 2012, vol. 2, no. 10, pp. 835–838. DOI: 10.1016/S2221-1691(12)60239-1.
21. Olennikov D.N., Zilfikarov I.N., Ibragimov T.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2010, no. 3, pp. 77–82. DOI: 10.24412/Fdioz_V-Vb0.
22. Olennikov D.N., Rokhin A.V., Zilfikarov I.N. *Chemistry of Natural Compounds*, 2008, vol. 44, no. 6, pp. 715–718. DOI: 10.1007/s10600-009-9192-6.
23. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii, XIV izd.* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV ed.]. Moscow, 2018, vol. IV, 1831 p. (in Russ.).
24. *European Pharmacopoeia, 9th ed.* Strasbourg, France, 2017.
25. Sergunova Ye.V., Sorokina A.A. *Farmatsiya*, 2019, vol. 68, no. 7, pp. 21–25. DOI: 0.29296/25419218-2019-07-04. (in Russ.).

Received February 17, 2021

Revised March 4, 2021

Accepted March 5, 2021

For citing: Kurkin V.A., Ryazanova T.K., Shmygareva A.A., Glushchenko S.N. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2021, no. 3, pp. 153–161. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprn.2021039221.

