

УДК 615.322, 615.451.1

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ЖИДКОСТНОЙ ЭКСТРАКЦИИ СУММЫ ГЛИКОАЛКАЛОИДОВ ИЗ КОЖУРЫ КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ КЛУБНЕНОСНОГО (*SOLANUM TUBEROSUM*, F. *SOLANACEAE*)

© Т.О. Острикова*, Н.Г. Богомолов, А.В. Шулькин, П.Ю. Мыльников, И.В. Черных

Рязанский государственный медицинский университет имени академика
И.П. Павлова, ул. Высоковольная, 9, Рязань, 390026, Россия,
tostrikova0@gmail.com

Гликоалкалоиды (ГА) растений семейства Пасленовые (в частности картофеля клубненосного), такие как α -соланин и α -чаконин, обладают широким спектром фармакологических эффектов: противомикробным, противогрибковым, противоопухолевым и пр., что продемонстрировано использованием индивидуальных веществ и на различных экстрактах. Применение субстанций данных веществ на практике в качестве лекарственных средств малоперспективно в связи с высокой стоимостью и зарубежным производством. Таким образом, целью работы являлась разработка экономичного способа извлечения суммы ГА из стандартизированной кожуры клубней картофеля клубненосного с получением сухого экстракта с максимальным содержанием целевых веществ. Для этого были подобраны экстрагенты в соответствии с растворимостью α -соланина и α -чаконина: уксусная кислота, метанол, этанол, пиридин; выбрана методика экстракции (однократная мацерация в течение 90 мин) и апробированы способы осаждения: отгон растворителя под вакуумом, осаждение аммиаком или охлаждением после нагревания. Критериями для выбора растворителя стал выход суммы ГА (ВЭЖХ-МС/МС), содержание сопутствующих веществ и более токсичного соланидина, экономическая и правовая доступность, токсичность, количество соланидина. Оптимальной методикой являлась жидкостная экстракция водной уксусной кислотой и осаждение раствором аммиака. Выбранная методика подверглась модификации изменением времени, кратности экстракции, применения ультразвука. В результате было установлено, что содержание суммы α -соланина и α -чаконина на 100 г высушенного растительного сырья было наибольшим при использовании трехкратной мацерации по 10 мин. Таким образом, была разработана методика метода жидкостной экстракции суммы ГА.

Ключевые слова: гликоалкалоиды, α -соланин, α -чаконин, жидкостная экстракция, стандартизация, экстрагенты, модификация, картофель клубненосный, кожура клубней, мацерация, ВЭЖХ-МС/МС.

Для цитирования: Острикова Т.О., Богомолов Н.Г., Шулькин А.В., Мыльников П.Ю., Черных И.В. Разработка методики жидкостной экстракции суммы гликоалкалоидов из кожуры клубней картофеля клубненосного (*Solanum tuberosum*, F. *Solanaceae*) // Химия растительного сырья. 2025. №1. С. 254–265. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250115267>.

Введение

Гликоалкалоиды (ГА) растений семейства Пасленовые (f. *Solanaceae*) представляют интерес для разработки лекарственных средств с противоопухолевой, противомикробной, противогрибковой активностями [1–3]. Известным представителем данного семейства является широко культивируемое пищевое растение – картофель клубненосный (*Solanum tuberosum* L.). Его годовое потребление на душу населения в Российской Федерации в некоторых регионах более 100 кг [4]. Картофель содержит ГА – α -соланин и α -чаконин [5], которые являются гликозилированными производными соланидина. Веществами богаты все части растения: побеги, листья, клубни, подземные столоны, цветки, плоды [6]. Использовать для получения ГА возможно любую вегетативную или генеративную часть картофеля, в том числе и кожуру клубней, которая в настоящее время повторно не используется и утилизируется [7].

Несмотря на описанные в литературе фармакологические свойства индивидуальных соединений [1–3, 8], остается актуальным использование экстракта как многокомпонентной системы, в которой кроме ГА имеются и сопутствующие вещества (феноловые кислоты, белки, полисахариды, макро- и микроэлементы), способные расширить спектр эффектов исследуемых веществ или снизить их токсичность. Так, известно, что полисахариды оказывают дополнительное гиполипидемическое, антикоагулянтное и др. эффекты [9, 10].

* Автор, с которым следует вести переписку.

Для извлечения ГА предложен ряд методик, включающих использование различных морфологических групп картофеля клубненосного (листьев [11], ростков [12], кожуры и мякоти [13] и др.), экстрагентов, в том числе токсичных (метанола [14], пиридина [15], уксусной кислоты [16] и др. [17, 18]), дополнительных технологических операций (использование сублимационной сушки при пробоподготовке [11], ультразвука (УЗ) при экстракции [12, 16], применение электромембранного потенциала [19] и пр.). Недостатками описанных методов является отсутствие стандартизации исходного растительного сырья (степень измельчения, сорт картофеля, длительность инсоляции (при ее наличии), толщина кожуры, коэффициенты поглощения экстрагентов), что в значительной степени может влиять на количественное содержание ГА в полученном продукте и не позволяет полноценно их воспроизводить. Так, известно, что измельченность увеличивает выход биологически активных веществ [20], содержание α -соланина и α -чаконина значительно (от 84 до 2226 мг/кг высушенной кожуры) варьирует в зависимости от сорта картофеля [21]. Одной из функций ГА является защитная: их накопление происходит под действием ультрафиолетового облучения, при механических повреждениях, при заражении бактериями или грибами, а также при повреждении насекомыми-вредителями или травоядными животными. В связи с этим необходимо учитывать наличие описанных факторов и интенсивность их влияния на растительное сырье при его хранении и пробоподготовке [22]. ГА могут находиться и в кожуре, и в мякоти картофеля, поэтому толщина растительного сырья может также влиять на выход биологически активных веществ. Отсутствие данных по коэффициенту поглощения экстрагентов может исказить результаты вследствие снижения эффективного объема растворителя для экстракции ГА.

Цель работы – разработка экономичного способа извлечения суммы ГА из стандартизированной кожуры клубней картофеля клубненосного с получением сухого экстракта с максимальным содержанием целевых веществ.

Экспериментальная часть

Оборудование и реактивы. В работе использовалось оборудование: шкаф сушильный FED 240 (Binder, Германия), муфельная печь SNOL 6.7 1300 (SNOL, Россия), шейкер медицинский серии S: S-3.02M.A10 (Elmi, Латвия), шейкер лабораторный ПЭ-6300 двухместный с подогревом (Экрос, Россия), центрифуга лабораторная CM-6MT (ротор на 24 пробирки объемом 10–15 мл) (Elmi, Латвия), роторно-вакуумный испаритель LABTEX ИР-1ЛТ (ЛАБТЕХ, Россия), вакуумный мембранный насос НВМ-3D (Вакуумтех, Россия), ультразвуковая ванна 22 л (Stegler, Китай), аквадистиллятор медицинский электрический АЭ-25 (Ливам, Россия), деионизатор лабораторный Д-301 (Аквилон, Россия), весы аналитические (0.01–220 г) (Shinko Denshi Co, Япония), весы лабораторные электронные ОНАУS PX163 (США), автоматические пипетки 0.5–5 мл, 10–100 мкл, 100–1000 мкл (Thermo Fisher Scientific, США), pH-метр FP20-Micro стационарный (Mettler-Toledo, Китай), высокоэффективный жидкостный хроматограф «Ultimate 3000» (Thermo Fisher Scientific, США) с tandemным масс-селективным детектором TSQ Fortis (Thermo Fisher Scientific, США), оснащенный автосамплером и дегазатором, колонкой Selectra C18 4.6mm x 100mm, 3 μ m, 100 Å с предколонкой Selectra C18 SLC-18GDC46-3UM (UCT, США).

В данном исследовании использовались реактивы: пиридин ЧДА (ЭКОС, Россия), уксусная кислота 70%-я (Ленреактив, Россия), ледяная уксусная кислота (ЭКОС, Россия), метанол ЧДА (ХИММЕД, Россия), этанол 96%-й ЧДА (ХИММЕД, Россия), этилацетат ЧДА (Реахим, Россия), аммиак водный ЧДА (Сигма-Тек, Россия), стандартные образцы α -соланина, α -чаконина, соланидина (Sigma – Aldrich, США), фексофенадина (United States Pharmacopeia (USP) Reference Standard, США), метанол для градиентной ВЭЖХ (Химмед, Россия), кислота муравьиная 98%-я для аналитики («Panreac», Испания), вода ВЭЖХ-МС («VWR», Франция), диметилсульфоксид (ДМСО) (ООО НПП «ПанЭко», Россия).

Скрининг методики экстракции суммы ГА (растворитель). Для повышения достоверности результатов исходное растительное сырье было стандартизировано по следующим показателям: макро- и микроскопические признаки, коэффициент поглощения экстрагентов, влажность, зола общая и нерастворимая в хлористоводородной кислоте, потеря в массе при высушивании, микробиологическая чистота, содержание радионуклидов, остаточные пестициды, тяжелые металлы, наличие экстрактивных веществ в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации XV издания (ГФ РФ XV).

На первом этапе для экстракции ГА (α -соланин и α -чаконин) были отобраны экстрагенты в соответствии с растворимостью исследуемых соединений: 5% водный раствор уксусной кислоты (приготовление из 70% водного раствора уксусной кислоты) (серия 1), метиловый спирт (серия 2), этиловый спирт (серия

3), пиридин (серия 4), а также комбинированный растворитель состава X/70% уксусная кислота/вода (40/7/53), где X – этанол, метанол, пиридин [17].

Общей стадией являлась пробоподготовка сырья, включающая инсоляцию клубней картофеля клубненосного в течение 21 дня со средней освещенностью 1.2 кЛюкс/день для накопления ГА, срез кожуры толщиной 5 мм путем среза с клубней, высушивание до постоянной массы при 60 °С и измельчение до 5 мм с контролем ситовым анализом [23]. Навеска высушенной измельченной кожуры для экстракции ГА составляла 100.0, соотношение сырье/экстрагент составило 1/3. Объем растворителей рассчитывался с учетом коэффициента поглощения экстрагента (1.0 для пиридина, 1.95 – метанол, 1.4 – этанол, 5% водный раствор уксусной кислоты – 2.75), рассчитанные по методике ГФ РФ XV.

Экстракция проводилась методом мацерации в течение 90 мин при перемешивании при нормальных условиях (для всех экстрагентов, за исключением этилового спирта) и с нагреванием до 60 °С (для всех экстрагентов). Очистка полученного полупродукта от механических примесей растительного сырья осуществлялась методом вакуумной фильтрации в колбе Бунзена. Использовались следующие методы концентрирования ГА: отгон растворителя на ротационном испарителе при глубине вакуума 3 мм рт. ст. (пиридин, этиловый спирт), центрифугирование при 1660 g в течение 10 мин после охлаждения при комнатной температуре (этиловый спирт) или центрифугирование после доведения полупродукта до pH=9 раствором аммиака 25%-м водным (5%-я водная уксусная кислота, комбинированный растворитель). Перекристаллизация проводилась с использованием вспомогательной жидкости – этилацетата. Сухой экстракт получали путем высушивания до постоянной массы в сушильном шкафу. Возможные варианты экстракции приведены в виде схем на рисунках 1 и 2. Каждый вариант экстракции проводился с использованием трех навесок растительного сырья.

Отбор методики для потенциальной модификации осуществлялся по следующим критериям: выход суммы ГА из 100 г растительного сырья (основной показатель), степень экстракции сопутствующих веществ (фенолокислоты, хлорофилл, флавоноиды и т.д.) – косвенно путем расчета массовой доли ГА в экстракте, содержание агликона – соланидина в сухом экстракте, который является более токсичным по сравнению с гликозилированными производными [24], а также некоторых свойств растворителей: токсичность, экономическая и правовая (предметно-количественный учет) доступности, органолептические свойства (запах).

Критерием для отбора методики внутри серии являлось использование дополнительных технологических операций – охлаждение, нагревание, применение комбинированного растворителя (преимущество варианта методики – наименьшее число технологических операций).

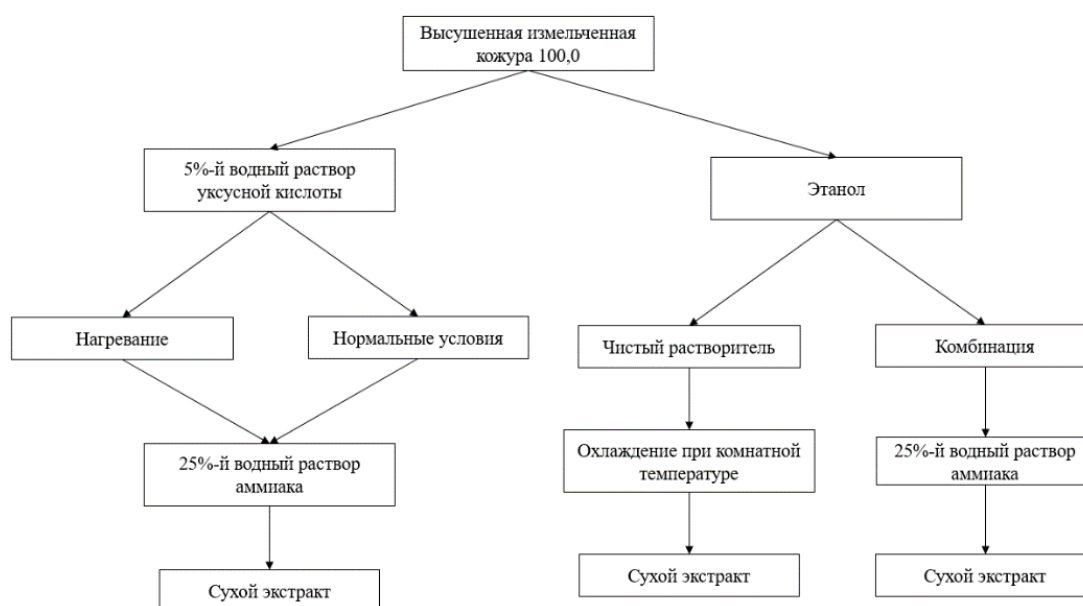


Рис. 1. Варианты методик экстракции ГА с применением 5%-го водного раствора уксусной кислоты и этанола (серия 1) и (серия 4)

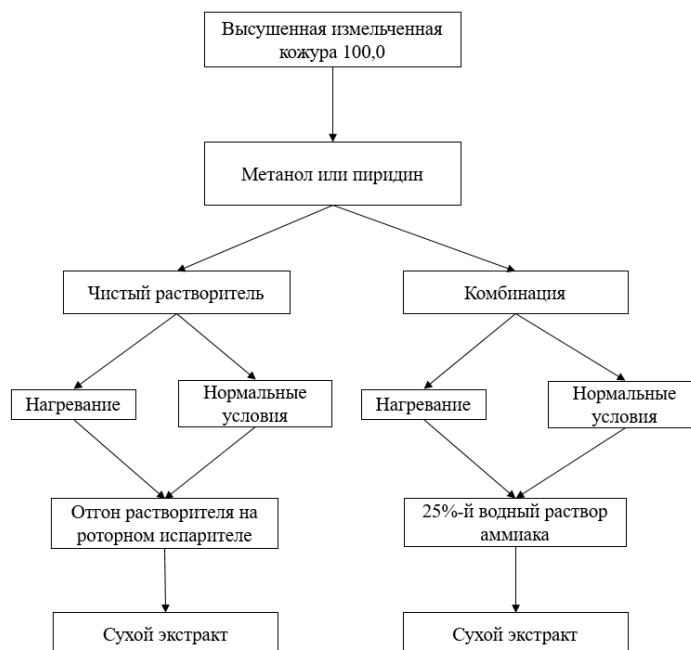


Рис. 2. Варианты методик экстракции ГА с применением пиридина или метанола (серия 2) и (серия 3)

Предварительные результаты показали, что методика с применением уксусной кислоты без нагревания с осаждением ГА аммиаком приводит к максимальному выходу целевых веществ и обладает наиболее приемлемыми характеристиками.

Модификация выбранной методики экстракции ГА. Были разработаны следующие варианты модификации (объем экстрагента в соотношении с растительным сырьем 3 : 1 с учетом коэффициента поглощения): настаивание при перемешивании в течение 30 или 90 мин при нормальных условиях или с применением УЗ; трехкратная экстракция (тремя объемами растворителя) по 10 или 30 мин при нормальных условиях или с применением УЗ. Осаждение целевых веществ во всех вариантах осуществлялось 25%-м раствором аммиака. Каждый вариант модификации методики экстракции проводился на трех навесках растительного сырья.

Оценка количественного содержания суммы ГА. Количественно выход ГА и соланидина оценивали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-детектированием. Разделение α -соланина, α -чаконина и соланидина проводили в градиентном режиме элюирования следующими растворителями: водный раствор 0.1%-й муравьиной кислоты – метанол. Состав подвижной фазы (муравьиная кислота, % : метанол, %) – 1–5 мин 65 : 35; 6–8 мин 30 : 70; 9 мин 10 : 90, 10 мин 1 : 99. Использовали внутренний стандарт – фексофенадин в концентрации 1 нг/мл.

Температура исследуемых образцов составляла 20 °С, температура хроматографической колонки – 35 °С – поддерживалась термостатом. Скорость потока подвижной фазы – 400 мкл/мин. Объем вкалываемой пробы составлял 20 мкл, вводился с помощью автосамплера при температуре 8 °С.

Продукты распада молекулярного иона фиксировали с помощью квадрупольного масс-детектора при воздействии электроспрея в положительном режиме ионизации.

Скорость потока оболочечного газа (sheath gas) составляла 50 Arb, вспомогательного газа (aux gas) – 10 Arb, продувочного газа (sweep gas) – 1 Arb, температура трубки для переноса ионов – 300 °С, температура испарителя – 350 °С. Для детектирования использовали следующие переходы масс: α -соланин – 868.4 m/z \rightarrow 98.1 m/z, 868.4 m/z \rightarrow 398.3 m/z (при энергии столкновения 60 В); α -чаконин – 853.4 m/z \rightarrow 398.3 m/z, 853.4 m/z \rightarrow 706.3 m/z (при энергии столкновения 60 В), соланидин – 398.3 m/z \rightarrow 98.1 m/z при энергии столкновения 43 В, 398.3 m/z \rightarrow 382.3 m/z при энергии столкновения 48 В. Переходы масс для фексофенадина: 502.3 m/z \rightarrow 171.0 m/z и 502.3 m/z \rightarrow 466.2 m/z при энергии столкновения 27 В. Для количественного определения использовались переходы масс: α -соланин – 868.4 m/z \rightarrow 398.3 m/z, α -чаконин – 853.4 m/z \rightarrow

706.3 m/z, соланидин – 398.3 m/z → 382.3 m/z, фексофенадин – 502.3 m/z → 466.2 m/z. Время одного анализа составляло 10 мин.

Разработанная аналитическая методика была валидирована по основным параметрам, рекомендованным ГФ РФ XV.

Статистическая обработка проводилась с применением офисного пакета «Microsoft Office XP» и программы GraphPad Prism 10.0. Характер распределения данных определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка, статистически значимыми принимали различия при значении $p < 0.05$. Содержания ГА оценивалось тестом Стьюдента (сравнение двух групп), для оценки межгрупповых различий применяли критерий Ньюмена-Кейлса (сравнение более двух групп). Для сравнения с контрольной группой использовали критерий Даннета (сравнение модификаций с методикой без изменений).

Результаты и их обсуждение

Для выбора оптимальной методики экстракции ГА проведена работа по стандартизации исходного растительного сырья – кожуры клубней картофеля клубненосного (*Solanum tuberosum* L.) – согласно требованиям ГФ РФ. Для этого выявлены макро- и микропризнаки сырья, подобрана методика качественного и количественного определения основной группы биологически активных веществ (ГА), определены числовые показатели, разработана и валидирована методика количественного анализа α -соланина, α -чаконина, соланидина.

Был проведен статистический анализ выхода ГА из 100 г сырья, а также процентного содержания веществ от массы экстракта, полученных с использованием разных методов внутри каждой серии (отдельно взятые растворители), также проанализирован выход агликона – соланидина.

Выход суммы ГА при экстракции 5% водным раствором кислоты уксусной и осаждением 25% водным раствором аммиака без нагревания составил 44.30 ± 15.75 мг/100 г растительного сырья, содержание в сухом экстракте составило $25.89 \pm 4.74\%$. Полученные значения достоверно не отличались от аналогичной методики с использованием нагревания ($p > 0.05$) (рис. 3).

Наибольший выход ГА ($p < 0.05$) при экстракции с использованием пиридина наблюдался при нагревании с осаждением целевых веществ путем упаривания растворителя и составил 22.01 ± 11.03 мг/100 г растительного сырья. При этом процент целевых веществ при использовании аналогичной методики без нагревания не отличался ($p > 0.05$) (рис. 4).

При экстракции ГА метанолом наибольший выход целевых веществ наблюдался в случае применения чистого растворителя без нагревания (23.23 ± 8.67 мг/100 г сырья) и с нагреванием (16.01 ± 4.55 мг/100 г сырья) осаждением при упаривании растворителя ($p < 0.05$) и достоверно не отличался друг от друга ($p > 0.05$). Процент целевых веществ в приведенных вариантах не отличался ($p > 0.05$) (рис. 5).

В результате экстракции ГА из растительного сырья с использованием этанола было установлено, что достоверных различий выхода и процентного содержания в экстрактах при использовании разных методов осаждения не выявлено ($p > 0.05$). Однако наиболее предпочтительной является методика без нагревания – с осаждением α -соланина и α -чаконина 25% водным раствором аммиака, так как экстракция проходит без дополнительной технологической операции – нагревания. Масса извлекаемых из 100 г растительного сырья – 21.90 ± 1.13 мг (рис. 6).

При использовании всех растворителей и методик достоверных различий в выходе агликона – соланидина выявлено не было.

Впоследствии нами были отобраны методики с наибольшим выходом суммы ГА из 100 г растительного сырья (наиболее значимый параметр), максимальным процентным содержанием суммы ГА в экстракте, а также отличающиеся наименьшим количеством стадий.

В результате сравнения методик с использованием различных растворителей было установлено, что наибольший выход ГА наблюдался при использовании 5%-го водного раствора уксусной кислоты (на уровне тенденции, $p = 0.10$), при этом чистота экстракта (процент α -соланина и α -чаконина в полученном извлечении) была достоверно выше ($p < 0.05$) (рис. 7).

Таким образом, наиболее оптимальной для модификации являлась методика с применением 5% водного раствора уксусной кислоты с осаждением ГА 25% водным раствором аммиака без использования нагревания. Указанный растворитель также характеризуется низкой токсичностью, высокой селективностью экстракции ГА, оптимальными органолептическими свойствами, экономической и правовой доступностью.

При проведении статистического сравнительного анализа модификации выбранной методики использовался критерий Даннета, в качестве контрольной группы выступала методика без модификации (экстракция уксусной кислотой с осаждением ГА раствором аммиака без нагревания) (рис. 8).

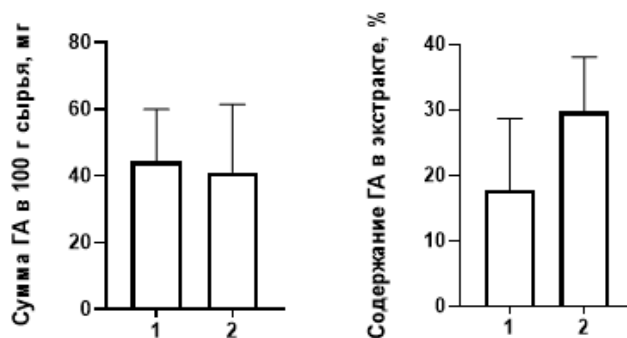


Рис. 3. Сравнение методик с применением 5% водного раствора уксусной кислоты (серия 1) и осаждением ГА 25% водным раствором аммиака; 1 – без нагревания, 2 – с нагреванием

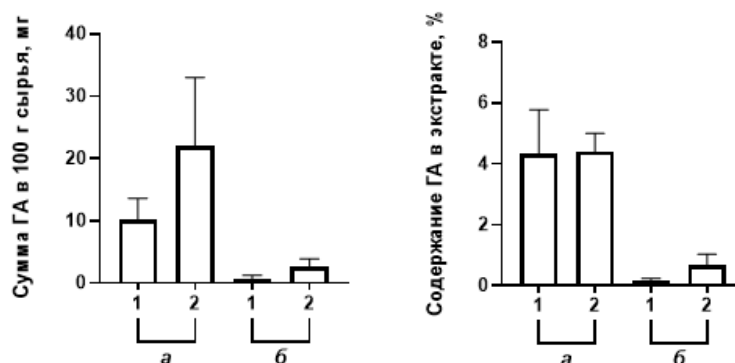


Рис. 4. Сравнение методик с применением пиридина (серия 2) и осаждением: а – на ротационном испарителе (чистый растворитель), б – 25% водным раствором аммиака (комбинированный растворитель); 1 – без нагревания, 2 – с нагреванием

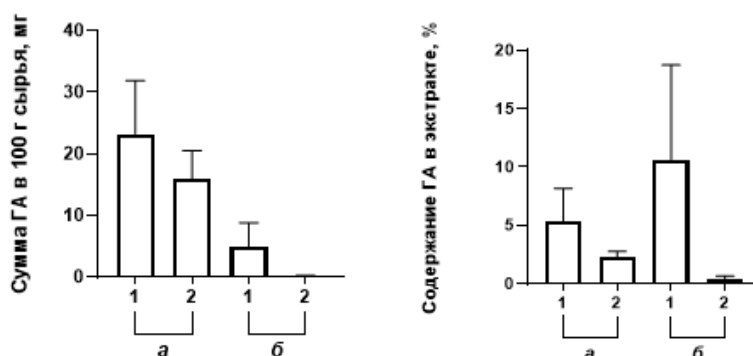


Рис. 5. Сравнение методик с применением метанола (серия 3) и осаждением: а – на ротационном испарителе (чистый растворитель), б – 25% водным раствором аммиака (комбинированный растворитель); 1 – без нагревания, 2 – с нагреванием

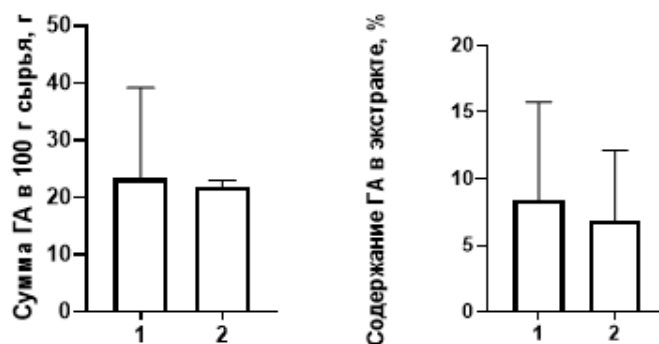


Рис. 6. Сравнение методик с применением этанола (серия 4); 1 – с нагреванием, осаждение при охлаждении (чистый растворитель), 2 – осаждение 25% водным раствором аммиака (комбинированный растворитель)

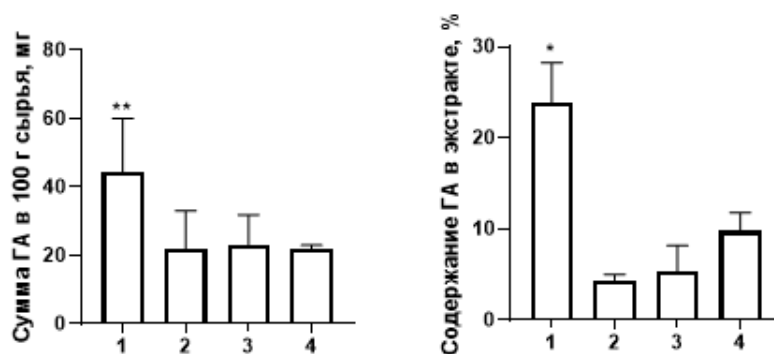


Рис. 7. Сравнение методик с применением разных растворителей; 1 – 5% водный раствор уксусной кислоты, осаждение ГА 25% раствором аммиака без нагревания, 2 – пиридин, концентрирование ГА на ротационном испарителе, с нагреванием, 3 – метанол, концентрирование ГА на ротационном испарителе, без нагревания; 4 – комбинированный растворитель с этанолом, осаждение ГА 25% раствором аммиака, без нагревания. * – достоверные различия с другими методиками ($p < 0.05$), ** – различия по сравнению с другими методиками на уровне тенденции ($0.05 < p < 0.1$)

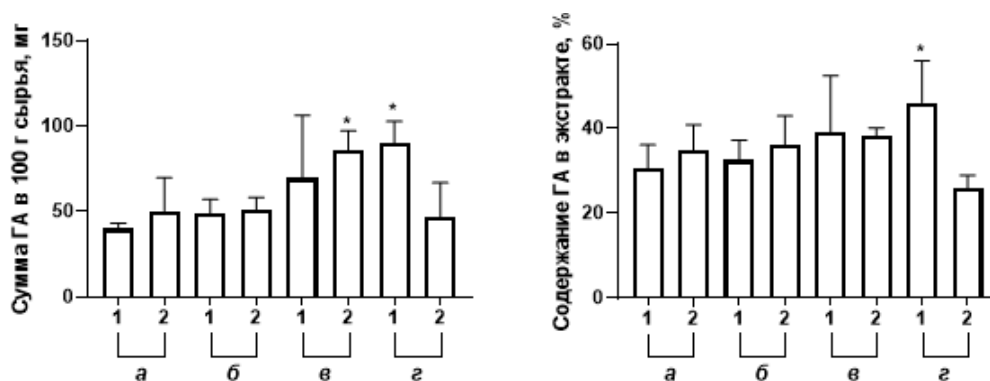


Рис. 8. Сравнение модификаций выбранной методики: а – однократная экстракция 90 мин, б – однократная экстракция 30 мин, в – трехкратная экстракция (30 мин по 3 раза), г – трехкратная экстракция (10 мин по 3 раза); 1 – без ультразвука, 2 – с ультразвуком; * – достоверные различия с другими методиками ($p < 0.05$)

Было установлено, что выход ГА при трехкратной экстракции в течение 30 мин (с применением ультразвука) и 10 мин трехкратно (без использования ультразвука) были достоверно выше ($p < 0.05$), чем у контрольной группы и составил соответственно 80.67 ± 17.53 и 82.64 ± 18.58 мг/100 г растительного сырья. При этом содержание α -соланина и α -чаконина в экстрактах, полученных другими методиками, статически не отличалось от методики без модификации. При этом процентное содержание целевых веществ было наибольшим при использовании трехкратной мацерации в течение 10 мин без использования УЗ и составило $43.27 \pm 5.18\%$. Содержание соланидина достоверно не отличалось от контроля ни в одной из групп. Исходя из перечисленных фактов, наиболее оптимальной является трехкратная экстракция по 10 мин при нормальных условиях.

ГА – вторичные метаболиты растений семейства Пасленовые (*f. Solanaceae*). Одними из представителей этой группы биологически активных веществ являются α -соланин и α -чаконин, обладающие потенциальной фармакологической активностью. Описанные соединения содержатся во всех частях картофеля клубненосного (*Solanum tuberosum L.*), однако для экстракции наиболее рационально использовать кожуру, исходя из принципов бережливого производства (например, безотходное крахмальное производство).

Описанная в литературе активность индивидуальных соединений может быть дополнена фармакологическими свойствами сопутствующих веществ, содержащихся в экстракте. Поэтому для дальнейшего изучения многокомпонентной системы, содержащей суммы ГА, важно разработать методику экстракции, которая бы отличалась стандартностью, эффективностью и экологичностью. Наиболее важным критерием подбора методики стал выход суммы ГА, как основного фармакологического агента, который оценивался селективным, высокочувствительным и валидированным методом – ВЭЖХ-МС/МС.

При разработке методики экстракции учитывалось агрегатное состояние продукта. Необходимо было получить сухой экстракт из кожуры клубней картофеля клубненосного, который бы обладал повышенной устойчивостью к микробной контаминации и большей точностью при дозировании по сравнению с густыми экстрактами [25].

Первым этапом работы стал отбор экстрагентов в соответствии с физико-химическими свойствами изучаемых соединений (растворимость, стабильность, кислотно-основные свойства) – пиридин, этиловый спирт, метиловый спирт, уксусная кислота.

Для 5% водного раствора уксусной кислоты характерна низкая токсичность: ее содержание как остаточного органического растворителя не нормируется ГФ РФ XV (класс токсичности 3), приготовление экстрагента проводится из 70% уксусной кислоты, которая является экономически доступным реагентом, не входящим в контролируемые списки, обладает характерным запахом.

LD_{50} при пероральном введении для метилового спирта на крысах составляет 5628 мг/кг веса животного согласно паспорту безопасности производителя растворителя, в соответствии с ГФ XV данный экстрагент относится ко второму классу токсичности, также метанол входит в список ядовитых и сильнодействующих веществ [26], в связи с чем его оборот ограничен, обладает слабым характерным запахом.

Для этанола LD_{50} при пероральном введении на крысах 10470 мг/кг веса животного в соответствии с паспортом безопасности производителя. Этиловый спирт так же, как и уксусная кислота, относится к третьему классу токсичности ГФ XV, применение данного растворителя ограничено по причине нахождения в списке ядовитых и сильнодействующих веществ, он находится на предметно-количественном учете [27], имеет слабый характерный запах.

Пиридин обладает наибольшей токсичностью среди всех представленных растворителей. LD_{50} для него на крысах составляет 891 мг/кг при пероральном введении веса животного, указанный экстрагент относится ко 2-му классу токсичности ГФ РФ XV. Тем не менее пиридин является экономически доступным, не входит в контролируемые списки. Обладает резким, раздражающим запахом.

Дополнительно для повышения растворимости α -соланина и α -чаконина (образование четвертичной аммонийной соли алкалоидов) каждый реактив был подкислен 70%-й уксусной кислотой. Для каждого растворителя разработали методики извлечения суммы ГА, а также способы концентрирования (выпаривание на ротационном испарителе, применение аммиачного раствора (для осаждения оснований алкалоидов). Применение 96%-го этанола сопровождалось увеличением температуры, так как исследуемые соединения растворимы в нем только при нагревании. При работе выяснилось, что концентрирование α -соланина и α -чаконина на роторно-вакуумном испарителе невозможно в случае использования этилового спирта и 5%-го водного раствора уксусной кислоты, а также подкисленных вариантов растворителей, так как не удавалось

достигнуть необходимых физико-химических свойств получаемого экстракта (стабильность, консистенция, количество остаточных растворителей).

Для достижения необходимых органолептических и технологических характеристик получаемого экстракта был разработан метод перекристаллизации экстракта с применением вспомогательной жидкости – этилацетата, который является экономически доступным, высоколетучим и обладает низкой токсичностью.

Также был использован альтернативный метод получения продукта, содержащего сумму ГА – отжим сока из свежей (не высушенной) кожуры клубней и его дальнейшее высушивание до постоянной массы при 60 °С в сушильном шкафу. Несмотря на большую массу выпаренного сока (около 15.0 г из навески растительного сырья, соответствующей 100.0 г высушенного), процентное содержание α -соланина и α -чаконина было крайне низким ($0.17 \pm 0.063\%$ от массы высушенного сока).

Окончательный выбор был основан на массе суммы ГА, извлекаемой растворителем из 100 г растительного сырья, чистоте экстракта (процент α -соланина и α -чаконина в полученном сухом экстракте) и содержании более токсичного агликона – соланидина.

Было установлено, что экстракция 5%-м водным раствором уксусной кислоты и осаждение ГА аммиаком приводили к максимальному выходу целевых веществ, а также наибольшей чистоте экстракта. Данный растворитель, кроме того, обладал наименьшей токсичностью, среди других, оптимальными органолептическими свойствами, высокой доступностью.

Основной задачей модификации выбранной методики было увеличение выхода целевых соединений без потери селективности экстракции и возможным увеличением экспрессности. Для этого были изменены кратность экстрагирования, общее время экстракции, а также использована дополнительная операция – ультразвуковое воздействие, как наиболее доступного и часто используемого метода, потенциально приводящему к повышению степени извлечения веществ из растительного сырья. Применение микроволнового излучения было нерационально по причине увеличения процессов гидролиза гликозидной связи [28].

Наиболее рациональной оказалась трехкратная экстракция по 10 минут без использования ультразвука. Данная методика отличалась высокой экспрессностью – общее время на извлечение составляло 30 мин, доступностью реагентов, которые обладают низкой токсичностью, отсутствием необходимости использования дополнительных технологических операций, а также максимальным выходом ГА без потери селективности.

Выводы

Разработана эффективная, экспрессная, технологически простая и экологичная методика жидкостной экстракции суммы ГА из кожуры клубней *Solanum tuberosum*. Оптимальные параметры экстракции включали использование 5% водного раствора уксусной кислоты при 3-кратной мацерации по 10 мин и осаждение ГА 25% водным раствором аммиака. Методика позволит получить сухой экстракт с высоким содержанием целевых веществ, а также способна послужить основой для разработки общей фармакопейной статьи на данный вид растительного сырья.

Финансирование

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Zou T. et al. Alpha-solanine anti-tumor effects in non-small cell lung cancer through regulating the energy metabolism pathway // Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery. 2022. Vol. 17, no. 4. Pp. 396–409. <https://doi.org/10.2174/1574892817666220113144635>.

2. Sbhatu D.B. et al. Preliminary antimicrobial profile of *Solanum incanum* L.: A common medicinal plant // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/3647065>.
3. Femi-Adepoju A., Adepoju A., Fadiji A.E. Antimicrobial Potential and Biochemical Profile of Methanolic Extracts of Common *Solanum* Species in Nigeria // A Review Study on the Biomedical Potentials of Seaweeds Species. Pharmacog Rev. 2023. Vol. 17, no. 34. Pp. 320–331. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4644903>.
4. Потребление картофеля, овощей и продовольственных бахчевых культур на душу населения: Федеральная служба государственной статистики [Электронный ресурс]. URL: https://rosstat.gov.ru/bgd/regl/b14_14p/IssWWW.exe/Stg/d01/04-24.htm.
5. Острикова Т.О. и др. Гликоалкалоиды растений семейства пасленовые (f. Solanaceae) как потенциальные лекарственные средства // Химико-фармацевтический журнал. 2022. Т. 56, №7. С. 25–34. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2022-56-7-25-34>.
6. Knuthsen P. et al. Glycoalkaloids in potatoes: Content of glycoalkaloids in potatoes for consumption // Journal of Food Composition and Analysis. 2009. Vol. 22, no. 6. Pp. 577–581. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.10.003>.
7. Nguyen T.T. et al. Converting potato peel waste into bioactive extracts: reduction of pesticides by traditional and novel pretreatment technologies // Sustainable Food Technology. 2024. Vol. 2. 386. <https://doi.org/10.1039/d3fb00173c>.
8. Chowański S. et al. Solanaceae glycoalkaloids: α -solanine and α -chaconine modify the cardioinhibitory activity of verapamil // Pharmaceutical Biology. 2022. Vol. 60, no. 1. Pp. 1317–1330. <https://doi.org/10.1080/13880209.2022.2094966>.
9. Черных И.В. и др. Возможности применения некрахмальных полисахаридов растительного происхождения в клинической практике // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2018. Т. 26, №2. С. 305–316. <https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ2018262305-316>.
10. Черных И.В. и др. Влияние гидролизата полисахаридного комплекса цветков пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare*) на активность ABCBL-белка in vivo // Наука молодых. 2019. Т. 7, №3. С. 349–357. <https://doi.org/10.23888/HMJ201973349-357>.
11. Rainio M.J. et al. Glyphosate-based herbicide has soil-mediated effects on potato glycoalkaloids and oxidative status of a potato pest // Chemosphere. 2020. Vol. 258. 127254. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127254>.
12. Nikolic N.Č., Stankovic M.Z., Markovic D.Z. Liquid-liquid systems for acid hydrolysis of glycoalkaloids from *Solanum tuberosum* L. tuber sprouts and solanidine extraction // Med. Sci. Monit. 2005. Vol. 11. P. 7.
13. Valcarcel J. et al. Effect of genotype and environment on the glycoalkaloid content of rare, heritage, and commercial potato varieties // Journal of food science. 2014. Vol. 79, no. 5. Pp. T1039–T1048. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12443>.
14. Maurya A. et al. Simple and reliable methods for the determination of three steroidal glycosides in the eight species of *Solanum* by reversed-phase HPLC coupled with diode array detection // Phyto-chemical Analysis. 2013. Vol. 24, no. 1. Pp. 87–92. <https://doi.org/10.1002/pca.2387>.
15. Roosen-Runge C., Schneider E. On the determination of the solanum alkaloids solanine and chaconine // Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung. 1977. Vol. 164. Pp. 96–97. <https://doi.org/10.1007/BF01354310>.
16. Quandahor P. et al. Phytohormone cross-talk synthesizes glycoalkaloids in potato (*Solanum tuberosum* L.) in response to aphid (*Myzus persicae* Sulzer) infestation under drought stress // Insects. 2020. Vol. 11, no. 11. P. 724. <https://doi.org/10.3390/insects11110724>.
17. Hossain M.B. et al. Recovery of steroidal alkaloids from potato peels using pressurized liquid extraction // Molecules. 2015. Vol. 20, no. 5. Pp. 8560–8573. <https://doi.org/10.3390/molecules20058560>.
18. Martínez-García I. et al. Development of a Green, Quick, and Efficient Method Based on Ultra-sound-Assisted Extraction Followed by HPLC-DAD for the Analysis of Bioactive Glycoalkaloids in Potato Peel Waste // Foods. 2024. Vol. 13, no. 5. P. 651. <https://doi.org/10.3390/foods13050651>.
19. Wan L. et al. Selective extraction and determination of steroidal glycoalkaloids in potato tissues by electromembrane extraction combined with LC-MS/MS // Food Chemistry. 2022. Vol. 367. 130724. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130724>.
20. Мамедова Р.Ф., Бабаев М.Ш. Изучение оптимальных вариантов экстракции дубильных веществ тимьяна ползучего во флоре Азербайджана // Сельское хозяйство. 2020. №1. С. 15–24. <https://doi.org/10.7256/2453-8809.2020.1.33061>.
21. Friedman M., Roitman J.N., Kozukue N. Glycoalkaloid and calystegine contents of eight potato cultivars // Journal of agricultural and food chemistry. 2003. Vol. 51, no. 10. Pp. 2964–2973. <https://doi.org/10.1021/jf021146f>.
22. Friedman M. Potato glycoalkaloids and metabolites: roles in the plant and in the diet // Journal of agricultural and food chemistry. 2006. Vol. 54, no. 23. Pp. 8655–8681. <https://doi.org/10.1021/jf061471t>.
23. Государственная фармакопея Российской Федерации. 15-е изд. [Электронный ресурс]. URL: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie_15/?PAGEN_1=5&ysclid=lvuzmfysfu945629343.
24. Zeiger E. α -Chaconine [20562-03-2] and α -solanine [20562-02-1] review of toxicological literature // National Institute of Environmental Health Sciences. Research Triangle Park, NC, USA, 1998.
25. Краснюк И.И. Фармацевтическая технология. Промышленное производство лекарственных средств. В 2 томах. М., 2020. Т. 1. 352 с.
26. Постановление Правительства РФ от 29 декабря 2007 г. №964 «Об утверждении списков сильнодействующих и ядовитых веществ для целей статьи 234 и других статей Уголовного кодекса Российской Федерации, а также

крупного размера сильнодействующих веществ для целей статьи 234 Уголовного кодекса Российской Федерации» (с изменениями и дополнениями).

27. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 22 апреля 2014 г. №183н «Об утверждении перечня лекарственных средств для медицинского применения, подлежащих предметно-количественному учету».
28. Sheikh M.A., Saini C.S., Sharma H.K. Synergistic effect of microwave heating and hydrothermal treatment on cyanogenic glycosides and bioactive compounds of plum (*Prunus domestica* L.) kernels: An analytical approach // *Current Research in Food Science*. 2022. Vol. 5. Pp. 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.12.007>.

Поступила в редакцию 7 июня 2024 г.

После переработки 5 июля 2024 г.

Принята к публикации 27 августа 2024 г.

Ostrikova T.O.*, Bogomolov N.G., Shchul'kin A.V., Myl'nikov P.Yu., Chernykh I.V. DEVELOPMENT OF A TECHNIQUE FOR LIQUID EXTRACTION OF THE AMOUNT OF GLYCOALKALOIDS FROM THE PEEL OF TUBEROUS POTATO TUBERS (*SOLANUM TUBEROSUM*, F. *SOLANACEAE*)

Ryazan State Medical University named after Academician I.P. Pavlov, Vysokovoltnaya st., 9, Ryazan, 390026, Russia, tostrikova0@gmail.com

Glycoalkaloids (HA) of plants of the Solanaceae family (in particular tuberous potatoes) such as α -solanine and α -chaconin have a wide range of pharmacological effects: antimicrobial, antifungal, antitumor, etc., as demonstrated by the use of individual substances and on various extracts. The use of substances of these substances in practice as medicines has little prospect due to the high cost and foreign production. In this regard, the aim of the work was to develop an economical method for extracting the amount of HA from the standardized peel of tuberous potato tubers to obtain a dry extract with a maximum content of target substances. For this purpose, extractants were selected in accordance with the solubility of α -solanine and α -chaconin: acetic acid, methanol, ethanol, pyridine; extraction technique was selected (single maceration for 90 minutes) and deposition methods were tested: solvent distillation under vacuum, precipitation with ammonia or cooling after heating. The criteria for choosing a solvent were the yield of the amount of HA (HPLC-MS/MS), the content of concomitant substances and more toxic solanidine, economic and legal accessibility, toxicity, and the amount of solanidine. The optimal method was liquid extraction with aqueous acetic acid and precipitation with ammonia solution. The chosen technique has been modified by changing the time, the frequency of extraction, and the use of ultrasound. As a result, it was found that the content of the sum of α -solanine and α -chaconin per 100 g of dried vegetable raw materials was the highest when using triple maceration for 10 minutes. Thus, the technique of liquid extraction of the sum of HA was developed.

Keywords: glycoalkaloids, α -solanine, α -chaconin, liquid extraction, standardization, extractants, modification, Potato (*Solanum tuberosum* L.), tuber peel, maceration, HPLC-MS/MS.

For citing: Ostrikova T.O., Bogomolov N.G., Shchul'kin A.V., Myl'nikov P.Yu., Chernykh I.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2025, no. 1, pp. 254–265. (in Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250115267>.

References

1. Zou T. et al. *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery*, 2022, vol. 17, no. 4, pp. 396–409. <https://doi.org/10.2174/1574892817666220113144635>.
2. Sbhatu D.B. et al. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/3647065>.
3. Femi-Adepoju A., Adepoju A., Fadiji A.E. *A Review Study on the Biomedical Potentials of Seaweeds Species. Pharmacog Rev.*, 2023, vol. 17, no. 34, pp. 320–331. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4644903>.
4. *Potrebleniye kartofelya, ovoshchey i prodovol'stvennykh bakhchevykh kul'tur na dushu naseleniya: Federal'naya sluzhba gosudarstvennoy statistiki* [Consumption of potatoes, vegetables and food melons per capita: Federal State Statistics Service]. URL: https://rosstat.gov.ru/bgd/regl/b14_14p/IssWWW.exe/Stg/d01/04-24.htm. (in Russ.).
5. Ostrikova T.O. i dr. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*, 2022, vol. 56, no. 7, pp. 25–34. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2022-56-7-25-34>. (in Russ.).
6. Knuthsen P. et al. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2009, vol. 22, no. 6, pp. 577–581. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.10.003>.
7. Nguyen T.T. et al. *Sustainable Food Technology*, 2024, vol. 2, 386. <https://doi.org/10.1039/d3fb00173c>.
8. Chowański S. et al. *Pharmaceutical Biology*, 2022, vol. 60, no. 1, pp. 1317–1330. <https://doi.org/10.1080/13880209.2022.2094966>.

* Corresponding author.

9. Chernykh I.V. i dr. *Rossiyskiy mediko-biologicheskiy vestnik imeni akademika I.P. Pavlova*, 2018, vol. 26, no. 2, pp. 305–316. <https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ2018262305-316>. (in Russ.).
10. Chernykh I.V. i dr. *Nauka molodykh*, 2019, vol. 7, no. 3, pp. 349–357. <https://doi.org/10.23888/HMJ201973349-357>. (in Russ.).
11. Rainio M.J. et al. *Chemosphere*, 2020, vol. 258, 127254. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127254>.
12. Nikolic N.Č., Stankovic M.Z., Markovic D.Z. *Med. Sci. Monit.*, 2005, vol. 11, p. 7.
13. Valcarcel J. et al. *Journal of food science*, 2014, vol. 79, no. 5, pp. T1039–T1048. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12443>.
14. Maurya A. et al. *Phyto-chemical Analysis*, 2013, vol. 24, no. 1, pp. 87–92. <https://doi.org/10.1002/pca.2387>.
15. Roosen-Runge C., Schneider E. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 1977, vol. 164, pp. 96–97. <https://doi.org/10.1007/BF01354310>.
16. Quandahor P. et al. *Insects*, 2020, vol. 11, no. 11, p. 724. <https://doi.org/10.3390/insects11110724>.
17. Hossain M.B. et al. *Molecules*, 2015, vol. 20, no. 5, pp. 8560–8573. <https://doi.org/10.3390/molecules20058560>.
18. Martínez-García I. et al. *Foods*, 2024, vol. 13, no. 5, p. 651. <https://doi.org/10.3390/foods13050651>.
19. Wan L. et al. *Food Chemistry*, 2022, vol. 367, 130724. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130724>.
20. Mamedova R.F., Babayev M.Sh. *Sel'skoye khozyaystvo*, 2020, no. 1, pp. 15–24. <https://doi.org/10.7256/2453-8809.2020.1.33061>. (in Russ.).
21. Friedman M., Roitman J.N., Kozukue N. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2003, vol. 51, no. 10, pp. 2964–2973. <https://doi.org/10.1021/jf021146f>.
22. Friedman M. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2006, vol. 54, no. 23, pp. 8655–8681. <https://doi.org/10.1021/jf061471t>.
23. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. 15-ye izd.* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 15th edition]. URL: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie15/?PAGEN_1=5&ysclid=lvuzmfysfu945629343. (in Russ.).
24. Zeiger E. *National Institute of Environmental Health Sciences*. Research Triangle Park, NC, USA, 1998.
25. Krasnyuk I.I. *Farmatsevticheskaya tekhnologiya. Promyshlennoye proizvodstvo lekarstvennykh sredstv. V 2 tomakh.* [Pharmaceutical technology. Industrial production of medicines. In 2 volumes]. Moscow, 2020, vol. 1, 352 p. (in Russ.).
26. *Postanovleniye Pravitel'stva RF ot 29 dekabrya 2007 g, no. 964 "Ob utverzhdenii spiskov sil'nodeystvuyushchikh i yadovitykh veshchestv dlya tseyey stat'i 234 i drugikh statey Ugolovnogo kodeksa Rossiyskoy Federatsii, a takzhe krupnogo razmera sil'nodeystvuyushchikh veshchestv dlya tseyey stat'i 234 Ugolovnogo kodeksa Rossiyskoy Federatsii" (s izmeneniyami i dopolneniyami).* [Resolution of the Government of the Russian Federation of December 29, 2007, No. 964 "On approval of lists of potent and toxic substances for the purposes of Article 234 and other articles of the Criminal Code of the Russian Federation, as well as large quantities of potent substances for the purposes of Article 234 of the Criminal Code of the Russian Federation" (with amendments and additions)]. (in Russ.).
27. *Prikaz Ministerstva zdравookhraneniya Rossiyskoy Federatsii ot 22 aprelya 2014 g, no. 183n "Ob utverzhdenii perechnya lekarstvennykh sredstv dlya meditsinskogo primeneniya, podlezhashchikh predmetno-kolichestvennomu uchetu".* [Order of the Ministry of Health of the Russian Federation of April 22, 2014, No. 183n "On approval of the list of medicinal products for medical use subject to quantitative accounting"]. (in Russ.).
28. Sheikh M.A., Saini C.S., Sharma H.K. *Current Research in Food Science*, 2022, vol. 5, pp. 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.12.007>.

Received June 7, 2024

Revised July 5, 2024

Accepted August 27, 2024

Сведения об авторах

Острикова Татьяна Олеговна – ассистент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, tostrikova0@gmail.com

Богомолов Никита Геннадьевич – ассистент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, nikita.bogomolov50@gmail.com

Щулькин Алексей Владимирович – профессор кафедры фармакологии, alekseyshulkin@mail.ru

Мыльников Павел Юрьевич – ассистент кафедры фармакологии, pavelmylnikov@mail.ru

Черных Иван Владимирович – заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии, ivchernykh88@mail.ru

Information about authors

Ostrikova Tatyana Olegovna – assistant of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, tostrikova0@gmail.com

Bogomolov Nikita Gennadievich – assistant of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, nikita.bogomolov50@gmail.com

Shchulkin Aleksey Vladimirovich – professor of the Department of Pharmacology, alekseyshulkin@mail.ru

Mylnikov Pavel Yuryevich – assistant of the Department of Pharmacology, pavelmylnikov@mail.ru

Chernykh Ivan Vladimirovich – head of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, ivchernykh88@mail.ru