



Оригинальная статья / Research article

Актуальные аспекты контроля качества и стандартизации лекарственных препаратов элеутерококка колючего

В. А. Куркин✉, Т. К. Рязанова

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (СамГМУ), 443099, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89

✉ Контактное лицо: Куркин Владимир Александрович. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

ORCID: В. А. Куркин – <https://orcid.org/0000-0002-7513-9352>; Т. К. Рязанова – <https://orcid.org/0000-0002-4581-8610>.

Статья поступила: 10.12.2021 Статья принята в печать: 01.04.2022 Статья опубликована: 25.08.2022

Резюме

Введение. В настоящее время все большую популярность приобретают лекарственные средства растительного происхождения. В этом отношении определенный интерес представляют лекарственные растительные препараты на основе корневищ и корней элеутерококка колючего – *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim., синоним *Acanthopanax senticosus* (Rupr. & Maxim.) Harms, оказывающие адаптогенное, иммуномодулирующее действие, обусловленное преимущественно наличием фенилпропаноидов (элеутерозиды В, D, E, E1). Действующие ФС.2.5.0053.15 «Элеутерококка колючего корневища и корни» и ФС.3.4.0009.18 «Элеутерококка колючего корневищ и корней экстракт жидкий» ГФ РФ XIV издания, на наш взгляд, не позволяют в полной мере объективно и унифицированно оценить качество сырья и препаратов.

Цель. Обоснование новых подходов к контролю качества сырья и препаратов элеутерококка колючего, заключающихся в изменении условий пробоподготовки и анализа биологически активных соединений по сравнению с фармакопейными методиками.

Материалы и методы. Образцы лекарственного препарата «Элеутерококка экстракт жидкий» отечественного производителя 5 серий и экспериментальные препараты «Элеутерококка сироп». При проведении анализа методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) использовали стандартный образец сирингина, соответствующий требованиям ВФС 42-2088-92. Методы УФ-спектроскопии и ВЭЖХ применяли с целью определения количественного содержания биологически активных соединений (БАС).

Результаты и обсуждение. В результате проведенных исследований разработаны иные методические и методологические подходы к определению содержания суммы фенилпропаноидов в пересчете на элеутерозид В (сирингин) методом прямой УФ-спектрофотометрии с использованием стандартного образца сирингина или значения его удельного показателя поглощения. Подобраны новые условия ВЭЖХ-анализа элеутерозида В (сирингина) в препаратах элеутерококка колючего.

Заключение. В результате фитохимического исследования разработаны спектрофотометрическая методика определения суммы фенилпропаноидов в пересчете на сирингин и ВЭЖХ-методика определения элеутерозида В (сирингина) с использованием внешнего стандарта после предварительной очистки суммарных извлечений путем фильтрования через слой алюминия оксида.

Ключевые слова: элеутерококка колючего корни и корневища, *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim., лекарственное растительное сырье, элеутерозиды, фенилпропаноиды, УФ-спектроскопия, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Т. К. Рязанова занималась сбором и анализом литературных данных. В. А. Куркин разработал концепцию и методологию исследования. Т. К. Рязанова обработала результаты экспериментальных данных. В. А. Куркин руководил работой. Авторы участвовали в обсуждении результатов и подготовке рукописи.

Для цитирования: Куркин В. А., Рязанова Т. К. Актуальные аспекты контроля качества и стандартизации лекарственных препаратов элеутерококка колючего. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(3):152–161. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-3-152-161>

Current aspects of Quality Control and Standardization of *Eleutherococcus senticosus* Medicines

Vladimir A. Kurkin✉, Tatyana K. Ryazanova

Samara State Medical University, 89, Chapayevskaya str., Samara, 443099, Russia

✉ Corresponding author: Vladimir A. Kurkin. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

ORCID: Vladimir A. Kurkin – <https://orcid.org/0000-0002-7513-9352>; Tatyana K. Ryazanova – <https://orcid.org/0000-0002-4581-8610>.

Received: 10.12.2021 Revised: 01.04.2022 Published: 25.08.2022

Abstract

Introduction. Nowadays, herbal medicines are becoming more and more popular. In this regard, herbal medicinal preparations based on rhizomes and roots of *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim., syn. *Acanthopanax senticosus* (Rupr. & Maxim.) Harms, are of particular interest. Its have an adaptogenic, immunomodulatory effects mainly due to the presence of phenyl propane compounds: eleutherosides B, D, E, E1. The current pharmacopeial monographs FS.2.5.0053.15 "Eleutherococcus senticosus rhizomes and roots" and FS.3.4.0009.18 "Eleutherococcus senticosus rhizomes and roots liquid extract" in The State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV Edition, in our opinion, does not allow to fully objectively and uniformly assess the quality of raw materials and preparations.

Aim. The aim is substantiation of new approaches to quality control of raw materials and preparations of *Eleutherococcus senticosus*, consisting in changing the conditions of sample preparation and analysis of active biological compounds in comparison with pharmacopoeial methods.

Materials and methods. Samples of the medicinal preparation "Eleutherococcus extract liquid" of a domestic manufacturer (5 lots) and experimental preparation "Eleutherococcus syrup". When performing high performance liquid chromatography (HPLC) analysis, a reference sample of syringin was used that met the requirements of pharmacopoeial monograph VFS 42-2088-92. Methods of UV-spectroscopy and HPLC were used to determine the quantity of biologically active substances.

Results and discussion. As a result of the research, other methodological and methodological approaches have been developed to determine the content of the total of phenylpropanoids in terms of eleutheroside B (syringin) by direct UV-spectrophotometry using a standard sample of syringin or the value of its specific absorbance. New conditions for HPLC analysis of eleutheroside B (syringin) in preparations of *Eleutherococcus senticosus* have been selected.

Conclusion. As a result of the phytochemical study, a spectrophotometric method was developed for the determination of the total of phenylpropanoids in terms of syringin and an HPLC method for the determination of eleutheroside B (syringin) using an external standard after preliminary purification of the total extracts by filtration through a layer of aluminum oxide.

Keywords: *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim., roots and rhizomes, medicinal plant raw materials, eleutherosides, phenylpropanoids, UV-spectroscopy, high performance liquid chromatography

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Tatyana K. Ryazanova collected and analyzed the literature data. Vladimir A. Kurkin developed the concept and methodology of the study. Tatyana K. Ryazanova processed the results of the experimental data. Vladimir A. Kurkin supervised the work. All authors participated in the discussion of the results and the preparation of the article.

For citation: Kurkin V. A., Ryazanova T. K. Current aspects of quality control and standardization of *Eleutherococcus senticosus* medicines. *Drug development & registration*. 2022;11(3):152–161. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-3-152-161>

ВВЕДЕНИЕ

Элеутерококк колючий – *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim., синоним *Acanthopanax senticosus* (Rupr. & Maxim.) Harms, семейство Аралиевые (*Araliaceae*), известный как сибирский женьшень, Сиуцзя по-китайски, является одним из наиболее часто используемых адаптогенных растений [1–4]. Данное растение впервые введено в научную медицину советскими учеными в виде экстракта элеутерококка жидкого [5, 6]. В настоящее время элеутерококк колючий широко применяется во всем мире в качестве адаптогена с целью улучшения физических и умственных способностей для нормального физиологического функционирования человеческого организма в условиях стресса [1–3].

В последние десятилетия во всем мире было проведено большое количество химических, фармакологических и клинических исследований корневищ и корней элеутерококка колючего [4, 5]. Значительный объем экспериментальных исследований как *in vitro*, так и *in vivo* продемонстрировали, что препараты элеутерококка колючего обладают антистрессовой, противоязвенной, противорадиационной, противоопухолевой, противовоспалительной и гепатопротекторной активностями и т. д. [1–5]. Типичные пути, стимулируемые биологически активными соединениями элеутерококка колючего, связаны с нейроактивными взаимодействиями лиганд-рецептор, сигнальным путем фосфатидилинозитол-3-киназа/протеин-

киназа B [4, 5]. В целом препараты элеутерококка колючего безопасны и не оказывают значительных побочных эффектов при использовании в рекомендуемых дозах. В Российской Федерации разрешены к применению жидкие экстракты элеутерококка разных производителей, корневища и корни элеутерококка входят в состав растительного сбора «Арфазетин»¹.

Сообщается о нескольких классах биологически активных соединений, включая фенилпропаноиды, лигнаны, кумарины, флавоноиды, тритерпеновые сапонины [4, 6–9]. При этом элеутерозид B (сирингин) и элеутерозиды D и E считаются наиболее активными компонентами. Обращает на себя внимание тот факт, что под элеутерозидами понимаются компоненты, выделяемым из корневищ и корней элеутерококка колючего, с разной химической структурой [4, 6–9]. Информация о структуре некоторых элеутерозидов представлена на рисунке 1.

Для стандартизации сырья и препаратов элеутерококка колючего применяются разные подходы.

В Европейской Фармакопее X издания стандартизация сырья элеутерококка колючего предусматривает качественный анализ сырья элеутерококка методом тонкослойной хроматографии в присут-

¹ Государственный реестр лекарственных средств. 2021. Доступно по: <http://www.grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>. Ссылка активна на 13.10.2021.

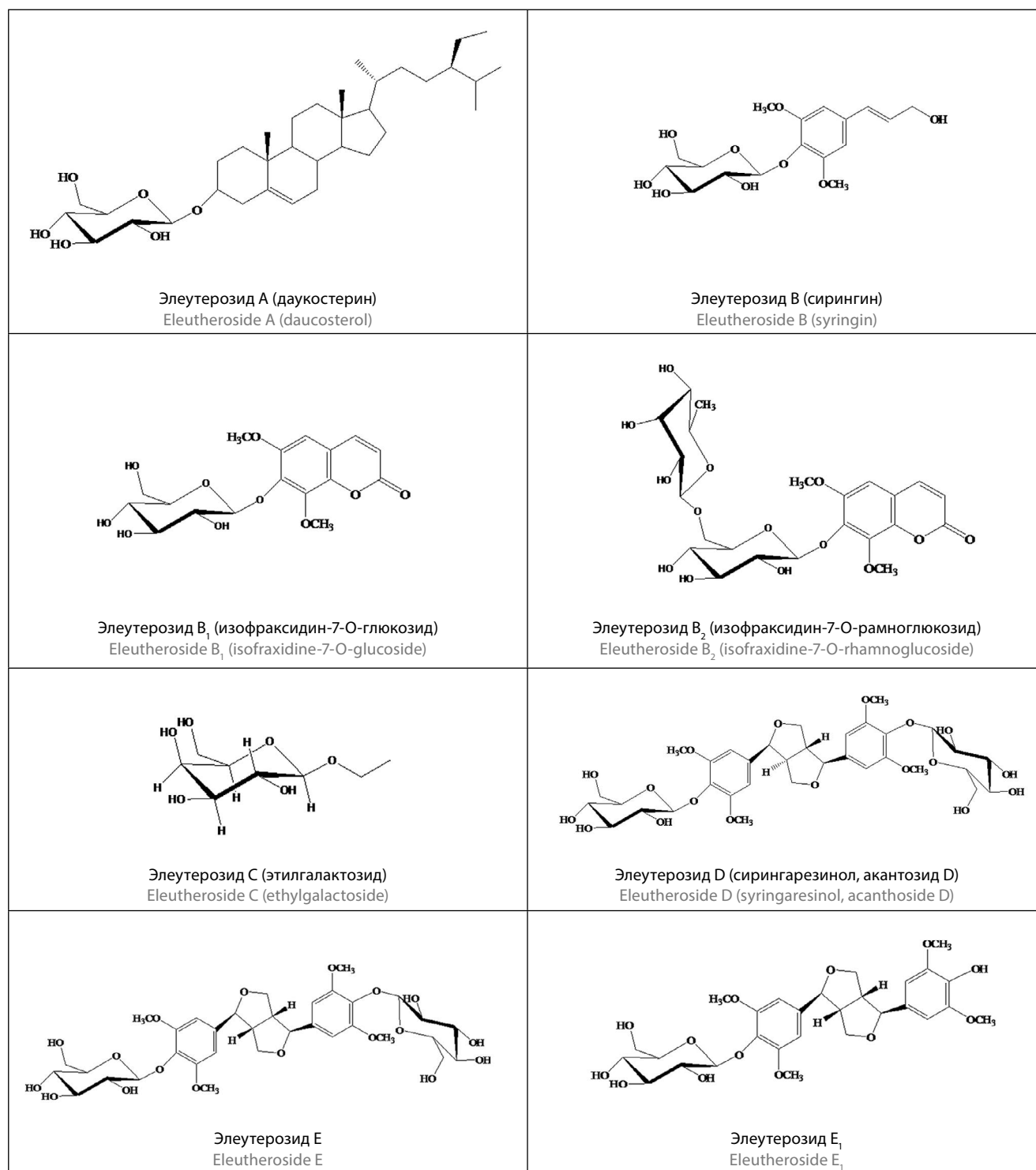


Рисунок 1. Структурные формулы некоторых элеутерозидов

Figure 1. Structural formulas of some eleutherosides

вии стандартных образцов эскулина (кумарин) и каталпола (иридоид) и количественное определение суммы элеутерозидов В и Е с использованием в качестве стандарта феруловой кислоты в градиентном режиме элюирования с детекцией при длине волны 220 нм [10]. Парадокс заключается в том, что в данном случае анализ корневищ элеутерококка колючего осу-

ществляется с использованием трех стандартных образцов, не содержащихся в данном сырье.

В Российской Федерации в действующей фармакопейной статье ФС.2.5.0053.15 «Элеутерококка колючего корневища и корни» качественный анализ основных групп биологически активных соединений включает методы тонкослойной хроматографии в при-

сутствии стандартного образца элеутерозида В, качественные реакции и ВЭЖХ [11]¹. Для оценки подлинности жидкого экстракта из корневищ и корней элеутерококка используют методы ВЭЖХ, УФ-спектрофотометрии и качественные реакции [11]². Количественное определение включает оценку содержания элеутерозида В (сирингина) методом ВЭЖХ в градиентном (сырье) или изократическом (жидкий экстракт) режиме элюирования с детекцией при длине волны 266 нм с использованием стандартного образца элеутерозида В и определение содержания суммы элеутерозидов методом УФ-спектрофотометрии [11].

Следует отметить, что методики определения суммы элеутерозидов в сырье и жидком экстракте имеют некоторые отличия. При анализе сырья полученное извлечение упаривают до сухого остатка и растворяют в воде, удаляют липофильные вещества путем многократной обработки водного раствора четыреххлористым углеродом, а целевые соединения экстрагируют смесью хлороформ – спирт 96 % в соотношении 5:1 с последующим измерением оптической плотности разведения полученного раствора при длине волны 278 нм и расчетом содержания суммы элеутерозидов в пересчете на элеутерозид В. Отличием методики определения суммы элеутерозидов в жидком экстракте от анализа их содержания в сырье является дополнительная очистка хлороформно-спиртового извлечения через слой алюминия оксида [11].

В то же время, как видно из рисунка 1, элеутерозиды представляют собой различные классы биологически активных соединений, поэтому возникает вопрос о целесообразности и возможности определения их суммы, как требуется в соответствии с фармакопейными статьями на сырье и жидкий экстракт элеутерококка.

Таким образом, фармакопейные статьи – ФС.2.5.0053.15 «Элеутерококка колючего корневища и корни» и ФС.3.4.0009.18 «Элеутерококка колючего корневищ и корней экстракт жидкий» ГФ РФ XIV издания, на наш взгляд, не позволяет в полной мере объективно и унифицированно оценить качество сырья и препаратов.

Цель исследования заключалась в обосновании новых подходов к контролю качества сырья и препаратов элеутерококка колючего, заключающихся в изменении условий пробоподготовки и анализа биологически активных соединений по сравнению с принятыми фармакопейными методиками.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обоснование и сравнение подходов к определению содержания биологически активных соединений элеутерококка колючего проводилось на при-

¹ ФС.2.5.0053.15 «Элеутерококка колючего корневища и корни».

² ФС.3.4.0009.18 «Элеутерококка колючего корневищ и корней экстракт жидкий».

мере лекарственных препаратов элеутерококка колючего. В качестве объектов исследования нами были выбраны 5 образцов лекарственного препарата «Элеутерококка экстракт жидкий» отечественного производителя 5 серий и экспериментальные препараты «Элеутерококка сироп». При проведении ВЭЖХ-анализа использовали стандартный образец сирингина, соответствующий требованиям ВФС 42-2088-92, и выделенные ранее профессором В. А. Куркиным образцы индивидуальных соединений (7-О-глюкозид изофраксидина, элеутерозид D, хлорогеновая кислота) в ходе изучения химического состава сырья данного растения [12].

Экспериментальные препараты «Элеутерококка сироп» получали из жидкого экстракта элеутерококка колючего. Определение содержания жидкого экстракта в сиропе проводилось с учетом рекомендуемой дозы зарегистрированного лекарственного препарата. В итоге было определено, что оптимальным является содержание жидкого экстракта в сиропе 5 % от общей массы. Экспериментальные препараты имели следующий составы:

Элеутерококка колючего корневищ и корней жидкий экстракт	5,0
Сахарозы (или сорбита)	64,0
Воды очищенной	до 100,0

Пробоподготовка жидкого экстракта для спектрофотометрического определения суммы фенилпропаноидов

Вариант без предварительной очистки: 1 мл жидкого экстракта помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили этанолом 70 % до метки и перемешивали. 5 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили этанолом 95 % до метки и перемешивали. Измеряли оптическую плотность полученного раствора при длине волны 266 нм.

Вариант с предварительной очисткой: 1 мл жидкого экстракта фильтровали через слой алюминия оксида («Для хроматографии», фракция 0,04–0,2 мм, нейтральный второй степени активности по Брокману) высотой около 5 мм в стеклянном фильтре диаметром 1,5–2 см в мерную колбу вместимостью 50 мл. 5 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили этанолом 95 % до метки и перемешивали. Измеряли оптическую плотность полученного раствора при длине волны 266 нм.

Для сравнения проводили определение суммы элеутерозидов в соответствии с фармакопейными статьями на сырье и жидкий экстракт элеутерококка колючего в условиях без очистки и с дополнительной очисткой через слой алюминия оксида.

Регистрацию электронных спектров проводили с помощью спектрофотометра Specord 40 (Analytik Jena AG, Германия) в диапазоне длин волн от 190 до 500 нм.

Пробоподготовка жидкого экстракта для ВЭЖХ-анализа

Вариант без предварительной очистки: аликвоту жидкого экстракта фильтровали через мембранный фильтр Millipore (0,45 мкм). 1 мкл полученного раствора вводили в хроматограф.

Вариант с очисткой: 10 мл жидкого экстракта фильтровали через слой алюминия оксида высотой около 7–8 мм в стеклянном фильтре диаметром 3–4 см в мерную колбу вместимостью 5 мл. Аликвоту полученного раствора фильтровали через мембранный фильтр Millipore (0,45 мкм). 1 мкл полученного раствора вводили в хроматограф.

Пробоподготовка экспериментального препарата «Элеутерококка сироп» для ВЭЖХ-анализа

Вариант без предварительной очистки: 5,0 г (точная навеска) сиропа взвешивали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили водой очищенной до метки.

Вариант с очисткой: к 5,0 г (точная навеска) сиропа добавляли 10-кратный объем этанола 95 %, оставляли на некоторое время для осаждения углевода и затем фильтровали через слой алюминия оксида высотой около 5 мм в стеклянном фильтре диаметром примерно 2,5–3 см. Сорбент дважды промывали этанолом 95 % порциями по 5 мл. Полученный раствор упаривали до сухого остатка, растворяли в 3 мл воды очищенной. Аликвоту полученного раствора фильтровали через мембранный фильтр Millipore (0,45 мкм). 4 мкл полученного раствора вводили в хроматограф.

Условия ВЭЖХ-анализа

ВЭЖХ-анализ проводили на микроколоночном хроматографе Милихром-6 (ЗАО «Научприбор», Россия) с УФ-спектрофотометрическим детектором в следующих условиях: обращенная фаза, изократический режим, колонка КАХ-6-80-4 (Сепарон С18), подвижная фаза – ацетонитрил:1 % раствор уксусной кислоты в воде в соотношении 15:85, скорость элюирования – 100 мкл/мин, объем элюента – 2000 мкл, объем пробы 1–5 мкл. В качестве аналитической длины волн была выбрана длина волны максимума поглощения сирингина – 266 нм, рекомендованная также в ФС.3.4.0009.18 «Элеутерококка колючего корневищ и корней экстракт жидкий». Обработку результатов анализа проводили с помощью аппаратно-программного комплекса UniChrom (версия 5.0.19.1162, ООО «Новые аналитические системы», Беларусь).

Валидационную оценку разработанной методики проводили по показателям: специфичность, линейность, правильность (открываемость), прецизионность. Специфичность методики определялась по соответствию времен удерживания стандартного об-

разца элеутерозида В (сирингина) и пиков, соответствующих стандарту на ВЭЖХ-хроматограммах испытуемых растворов, а также по разрешению между наиболее близкими пиками и фактору асимметрии пика сирингина.

Определение линейности проводили на пяти уровнях концентраций растворов сирингина (с концентрациями в диапазоне от 0,064 до 1,275 мг/мл). На основании полученных данных строили график в координатах «концентрация, мг/мл – высота пика» и рассчитывали уравнение линейной регрессии ($Y = aX + b$), значение коэффициента детерминации (r^2), стандартное отклонение с использованием программного обеспечения Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation, США).

Правильность методики тестировали путем введения в аликвоту препарата элеутерококка колючего навески стандартного образца сирингина в количестве от 80 % до 120 % от исходного содержания.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение спектральных характеристик в ультрафиолетовой и видимой области исходного жидкого экстракта и после очистки путем фильтрования через слой алюминия оксида в сравнении с УФ-спектрами нескольких преобладающих индивидуальных соединений корневищ и корней элеутерококка колючего (фенилпропаноид сирингин и кумарин изофраксидин-7-О-глюкозид) показало, что максимум поглощения исходного жидкого экстракта занимает промежуточное положение между максимумами поглощения сирингина и изофраксидин-7-О-глюкозида. Длина волны максимума поглощения исходного жидкого экстракта составляет 278 ± 2 нм, имеется плечо при 320 ± 2 нм, в то время как максимум поглощения спиртового раствора стандартного образца сирингина приходится на 266 ± 2 нм, изофраксидин-7-О-глюкозида – 294 ± 2 нм и плечо при 336 ± 2 нм (рисунок 2). Промежуточное значение максимума поглощения и выраженное плечо в УФ-спектре исходного экстракта может указывать на вклад обоих доминирующих соединений в кривую поглощения суммарного извлечения.

Изучение спектра поглощения элеутерозида D показало максимум при 272 ± 2 нм, что подтверждает возможный вклад вещества в суммарную кривую поглощения экстракта (рисунок 3). В связи с этим потенциально применимым является определение суммы фенилпропаноидов методом прямой спектрофотометрии.

После фильтрования через слой алюминия оксида значение максимума поглощения экстракта смещается в сторону максимума поглощения сирингина (с 278 ± 2 нм до 274 ± 2 нм), увеличивается соотношение длины волны максимума поглощения и длины волны плеча, наблюдаемых в спектре исходного раствора ($A_{278}/A_{320} = 1,46 \pm 0,20$ в исходном экстракте и $2,31 \pm 0,25$ в экстракте после очистки).

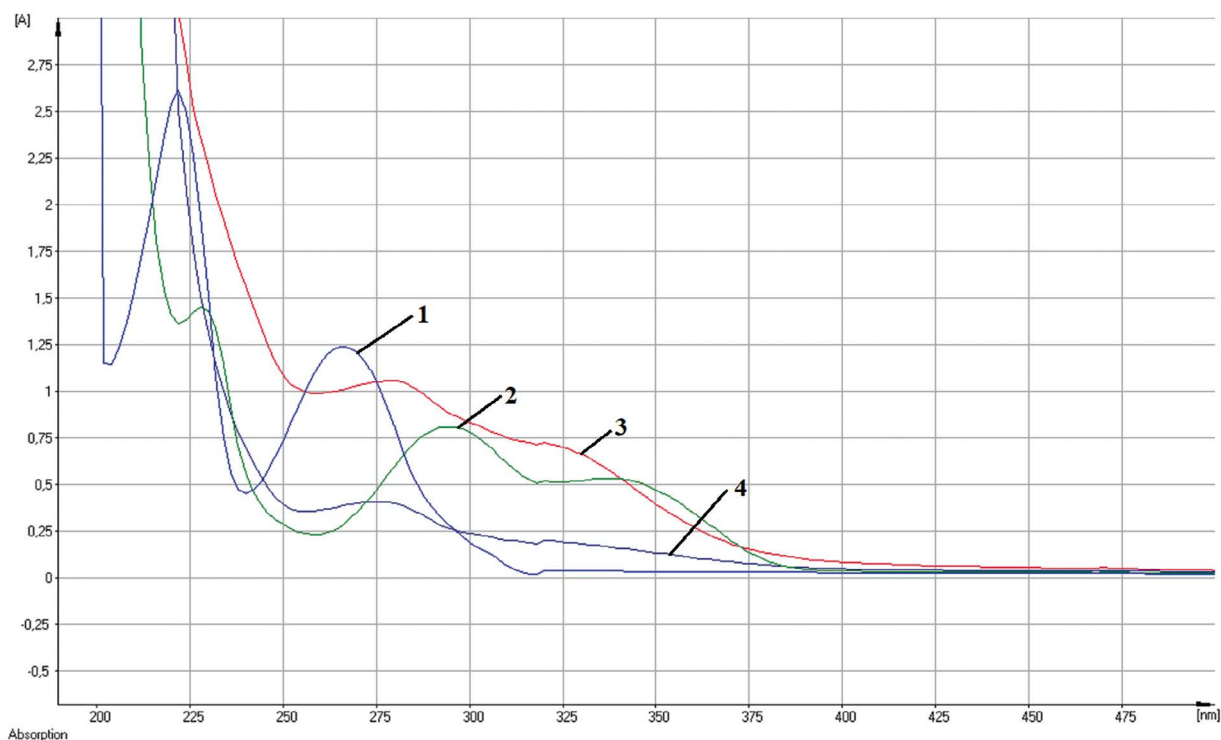


Рисунок 2. Электронные спектры поглощения жидкого экстракта и индивидуальных соединений элеутерококка колючего:

1 – раствор стандартного образца синрингина; 2 – раствор 7-О-глюкозида изофраксидина; 3 – исходный жидкий экстракт корней и корневищ элеутерококка колючего; 4 – экстракт корней и корневищ элеутерококка колючего после очистки путем фильтрования через слой алюминия оксида

Figure 2. Electronic absorption spectra of a liquid extract and individual compounds of *Eleutherococcus senticosus*:

1 – syringin standard sample solution; 2 – isofraxidine 7-O-glucoside solution; 3 – the liquid extract of the roots and rhizomes of *Eleutherococcus senticosus*; 4 – the liquid extract of the roots and rhizomes of *Eleutherococcus senticosus* after purification by filtration through a layer of aluminum oxide

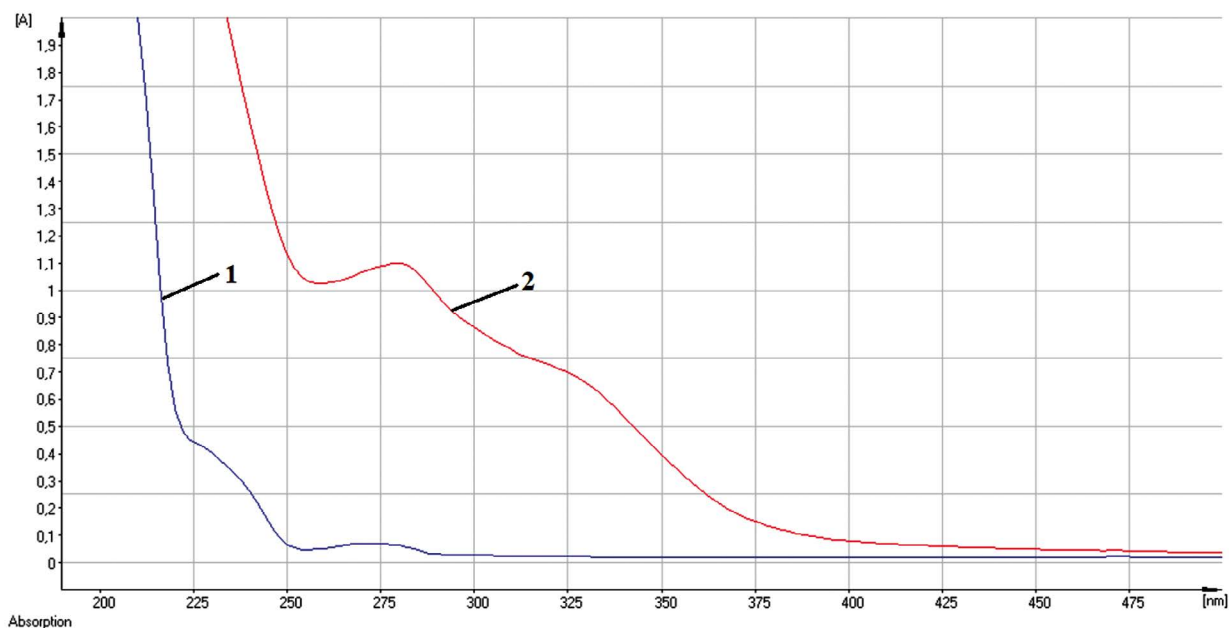


Рисунок 3. Электронные спектры поглощения жидкого экстракта и элеутерозида D:

1 – раствор элеутерозида D; 2 – разведение жидкого экстракта корней и корневищ элеутерококка колючего

Figure 3. Electronic absorption spectra of the liquid extract and eleutheroside D:

1 – solution of eleutheroside D; 2 – dilution of a liquid extract of the *Eleutherococcus senticosus* roots and rhizomes

Спектры поглощения хлороформно-спиртового извлечения, полученного в соответствии с методикой определения суммы элеутерозидов в разделе «Количественное определение» в ФС.3.4.0009.18 «Элеутерококка колючего корневищ и корней экстракт жидкий» ГФ РФ XIV издания, имеет максимум поглощения при длине волны 284 ± 2 нм, что отличается от указанного в фармакопейной методике значения 278 нм (рисунок 4). Это различие может быть обусловлено влиянием различных факторов, например вариабельностью химического состава исследуемого лекарственного растительного сырья в зависимости от условий произрастания и др.

Полученное с использованием фармакопейной методики содержание суммы элеутерозидов в жидком экстракте элеутерококка колючего в пересчете на сирингин составило $0,31 \pm 0,05$ %.

В предлагаемых нами условиях не предусмотрено проведение стадии жидкость-жидкостной экстракции с использованием смеси хлороформа и 96%-го этанола в соотношении 5:1 для извлечения целевых соединений, как это указывается в фармакопейной статье. На наш взгляд, вызывает сомнение, что данная смесь может исчерпывающе извлекать сирингин и более полярные фенилпропаноиды (элеутерозиды D и E) на основании известных физико-химических свойств сирингина (умеренная растворимость в 95%-м этаноле).

Расчет содержания проводится при длине волны 266 нм (максимум поглощения сирингина) с использованием значения удельного показателя поглощения стандартного образца – 430 (ВФС 42-2088-92).

Выбор длины волны обусловлен тем, что это значение является относительно постоянным (при предусмотренных условиях анализа), в то время как максимумы поглощения экстрактов элеутерококка колючего могут варьировать в зависимости от разных факторов, влияющих на соотношение компонентов в суммарном извлечении. Кроме того, максимум поглощения стандартного образца сирингина при 266 нм довольно узкий, в то время как УФ-спектры экстракта до и после фильтрования через слой алюминия оксида имеют в этой спектральной области пологий участок полосы поглощения, что также делает оправданным переход на аналитическую длину волны 266 нм.

Принципиально возможно определение суммы элеутерозидов в жидком экстракте элеутерококка колючего в пересчете на элеутерозид D, имеющего более близкий максимум поглощения (272 нм), однако на текущий момент нет зарегистрированных стандартных образцов этого соединения и применение стандартного образца сирингина можно считать более обоснованным ввиду доступности сырьевого источника для его выделения – коры сирени обыкновенной [6].

Более подробно пробоподготовка описана в разделе «Материалы и методы». Содержание суммы фенилпропаноидов составило $0,56 \pm 0,03$ % и $0,21 \pm 0,01$ % соответственно для исходного экстракта и экстракта, профильтрованного через слой алюминия оксида. Соответствующие средние значения содержания суммы фенилпропаноидов в экспериментальных 5 % сахарозных и сорбитных сиропах элеутерококка колючего составили $0,030 \pm 0,002$ %

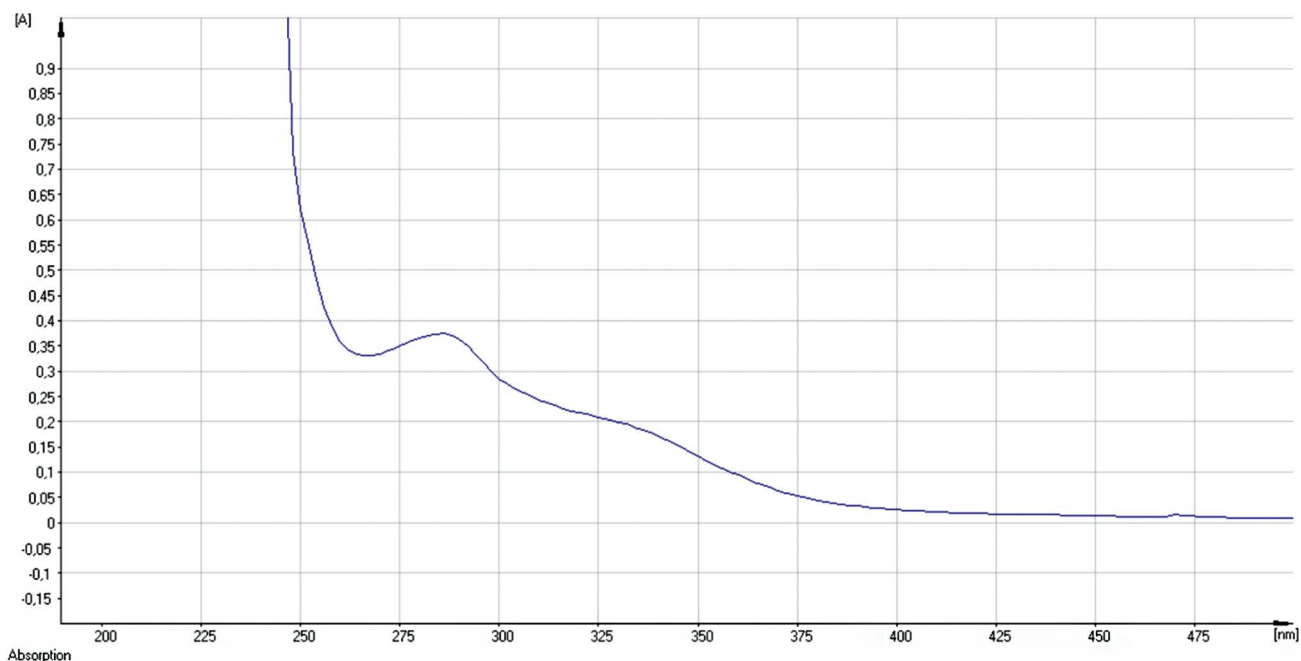


Рисунок 4. Электронный спектр поглощения хлороформно-спиртового извлечения из жидкого экстракта корней и корневищ элеутерококка колючего

Figure 4. Electronic absorption spectrum of chloroform-alcohol extract from a liquid extract of the *Eleutherococcus senticosus* roots and rhizomes

(0,010 ± 0,001 % после очистки через слой алюминия оксида).

Более высокие значения, полученные для образцов без очистки через слой алюминия оксида, по-видимому, свидетельствуют о возможном вкладе других соединений, как видно из приведенных выше УФ-спектров исходного экстракта и индивидуальных компонентов. Возможность проведения очистки через слой алюминия оксида подтверждается также тем фактом, что степени извлечения сиригинина и элеутерозида D при фильтровании растворов этих веществ через слой алюминия оксида составляли 98 ± 2 % и 97 ± 2 % соответственно. При этом в отношении кумаринов (элеутерозид В₁) и полифенолов (флавоноидов) известно, что они полностью сорбируются на оксиде алюминия, поэтому не вносят вклад в оптическую плотность после очистки [6], а элеутерозид А (даукостерин) и элеутерозид С (этилгалактозид) не поглощают в области после 220 нм [13,14].

Метрологические характеристики прямой спектрофотометрической методики определения суммы фенилпропаноидов в пересчете на сиригинин (с очисткой через слой алюминия оксида) свидетельствуют о том, что относительная ошибка среднего результата количественного определения в жидком экстракте корней и корневищ элеутерококка колючего с доверительной вероятностью 95 % составляет ±6,24 % (таблица 1).

Таблица 1. Метрологические характеристики методики количественного определения суммы фенилпропаноидов в жидком экстракте элеутерококка колючего

Table 1. Metrological characteristics of the method for the quantitative determination of the amount of phenylpropanoids in a liquid extract of *Eleutherococcus senticosus*

<i>f</i>	\bar{X}	<i>S</i>	<i>P</i> , %	<i>t</i> (<i>P</i> , <i>f</i>)	ΔX	<i>E</i> , %
8	0,21	0,016667	95	2,31	±0,01	±6,24

На наш взгляд, в совокупности эти данные показывают на принципиальную возможность определения содержания суммы фенилпропаноидов в пересчете на сиригинин методом прямой УФ-спектрофотометрии с использованием стандартного образца сиригинина или значения его удельного показателя поглощения.

В дальнейшем нами модифицирована методика определения содержания только сиригинина (элеутерозида В) – доминирующего, а также в значительной части обуславливающего фармакологическую активность и характерного для сырья и препаратов элеутерококка колючего соединения. В фармакопейных статьях на сырье и жидкий экстракт элеутерококка колючего отмечены некоторые различия в ВЭЖХ-методиках определениях сиригинина. Для сырья применяется градиентный, для жидкого экстракта – изократический режим элюирования.

В соответствии с принципом унификации методик анализа в ряду «сырье – фармацевтическая суб-

станция – препарат» необходимо единообразие контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов на его основе. Известно, что при градиентном режиме корректировка условий является более критичной, может привести к некорректной идентификации пиков, их наложению или сдвигам, при которых интересующие вещества могут выйти после указанного времени регистрации хроматограммы. В связи с этим, если разделение интересующих веществ возможно в условиях изократического режима, то для унифицированного анализа биологически активных соединений представляется возможным оставить эти условия. Кроме того, известен опыт успешного анализа содержания сиригинина в коре сирени обыкновенной методом ВЭЖХ в изократическом режиме элюирования [15].

Нами рассмотрена возможность количественного определения содержания сиригинина в условиях, используемых для коры и экспериментальных препаратов сирени обыкновенной и описанных в разделе «Материалы и методы».

Оценка пригодности системы, проводимая в соответствии с ОФС.1.2.1.2.0001.15 «Хроматография» показала, что хроматографическая система может быть использована для количественного определения сиригинина в препаратах элеутерококка колючего [11].

В текущих условиях проведения анализа среднее время удерживания пика сиригинина в жидком экстракте и экспериментальном препарате «Элеутерококка сироп» составляло 2,841 ± 0,085 мин, что соответствует времени удерживания пика сиригинина на хроматограмме стандартного образца (рисунок 5). При добавлении раствора сиригинина в извлечение на хроматограмме обнаруживается увеличение интенсивности пика сиригинина по сравнению с интенсивностью соответствующего пика в испытуемых растворах.

Из рисунка 5 видно, что после фильтрования через слой алюминия оксида происходит очистка пика сиригинина от сопутствующего компонента, в связи с этим нами для методики был выбран этап предварительной очистки жидкого экстракта путем фильтрования через слой алюминия оксида. Зависимость высоты и площади хроматографического пика от концентрации сиригинина описывалась линейной регрессией в диапазоне концентраций от 0,064 до 1,275 мг/мл, однако коэффициент корреляции для зависимости высоты пика от концентрации салидрозида составил 0,9995, для зависимости площади пика от концентрации – 0,9878. В связи с этим расчет содержания розавина в исследуемых образцах проводили с использованием высоты пика.

При расчете с использованием зависимости высоты пика от концентрации стандартного образца сиригинина его содержание в исходном жидком экстракте составило 0,091 ± 0,002 %, после очистки через слой алюминия оксида – 0,079 ± 0,003 %.

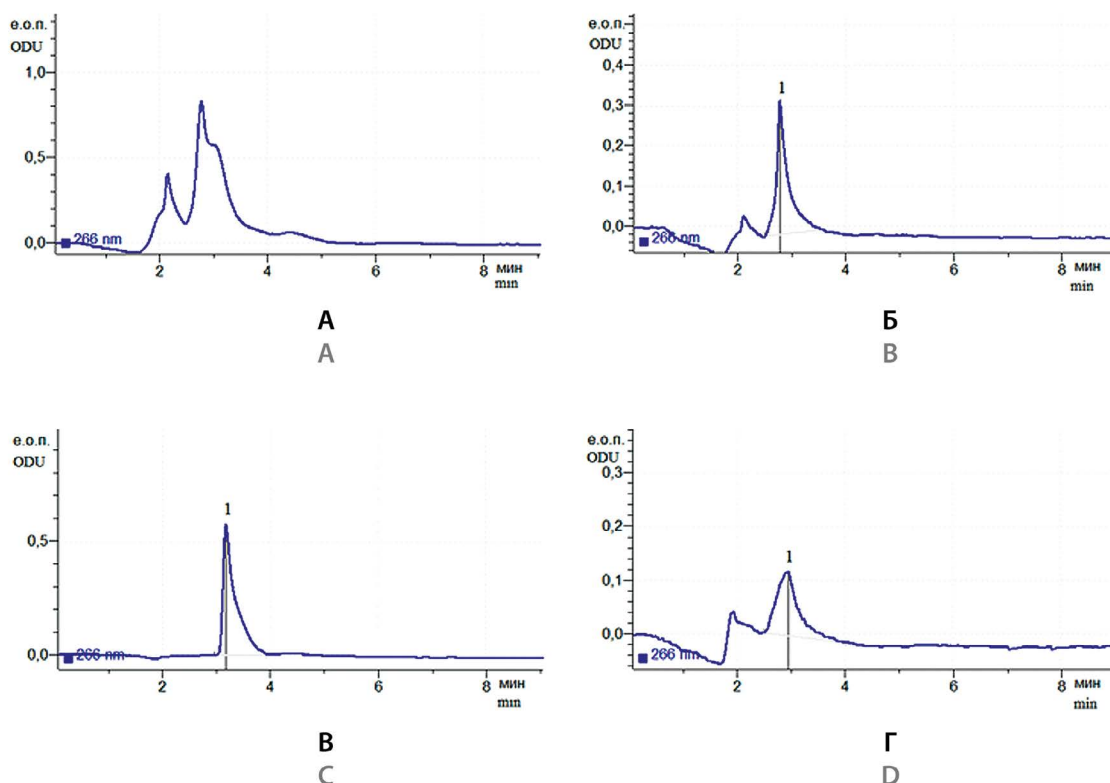


Рисунок 5. ВЭЖХ-хроматограммы жидкого экстракта (до и после очистки) корневищ и корней элеутерококка колючего, экспериментального препарата «Элеутерококка сироп» и раствора стандартного образца синрингина.

A – исходный экстракт корневищ и корней элеутерококка колючего; **B** – экстракт корневищ и корней элеутерококка колючего после фильтрования через слой алюминия оксида; **C** – стандартный образец синрингина; **D** – экспериментальный препарат «Элеутерококка сироп».

Обозначения: 1 – элеутерозид В (синрингин).

Figure 5. HPLC chromatograms of the liquid extract (before and after purification) of the *Eleutherococcus senticosus* rhizomes and roots, the experimental preparation "Eleutherococcus syrup" and a solution of a standard sample of syringin.

A – the extract of the *Eleutherococcus senticosus* rhizomes and roots; **B** – extract of *Eleutherococcus senticosus* rhizomes and roots after filtration through a layer of aluminum oxide; **C** – standard sample of syringin; **D** – experimental drug «Eleutherococcus syrup».

Designations: 1 – eleutheroside B (syringin).

Метрологические характеристики разработанной методики ВЭЖХ-анализа (с очисткой через слой алюминия оксида) свидетельствуют о том, что относительная ошибка среднего результата определения содержания синрингина в жидком экстракте корней и корневищ элеутерококка колючего с доверительной вероятностью 95 % составляет $\pm 2,87\%$ (таблица 2). При оценке внутрилабораторной прецизионности также показаны удовлетворительные результаты, так как относительная погрешность определения синрингина в первый и второй дни анализа находится в диапазоне от 0,90 до 1,09.

Таблица 2. Метрологические характеристики ВЭЖХ-методики количественного определения синрингина в жидком экстракте элеутерококка колючего

Table 2. Metrological characteristics of the method for the quantitative determination of syringin in a liquid extract of *Eleutherococcus senticosus*

<i>f</i>	X_{cp}	<i>S</i>	<i>P</i> , %	<i>t</i> (<i>P</i> , <i>f</i>)	ΔX	<i>E</i> , %
10	0,079	0,0033575	95	2,23	$\pm 0,003$	$\pm 2,87$

Правильность методики определяли методом добавок путем добавления раствора синрингина с известной концентрацией (80 %, 100 % и 120 %) к испытуемому раствору. При этом средний процент восстановления составил 97,8 %.

В проанализированных промышленных образцах «Элеутерококка экстракт жидкий» содержание синрингина варьировало от $0,065 \pm 0,003\%$ до $0,089 \pm 0,004\%$.

Аналогичная методика была применена для определения содержания синрингина в образцах экспериментального препарата «Элеутерококка сироп». Содержание синрингина в сиропе элеутерококка на основе сахарозы составило $0,0026 \pm 0,0003\%$, в сиропе на основе сорбита – $0,0029 \pm 0,0003\%$.

Метрологические характеристики ВЭЖХ-методики свидетельствуют о том, что относительная ошибка среднего результата определения содержания синрингина в сиропах элеутерококка колючего с доверительной вероятностью 95 % составляет $\pm 6,58\%$ (таблица 3).

Таблица 3. Метрологические характеристики ВЭЖХ-методики количественного определения сирингина в сиропах элеутерококка колючего

Table 3. Metrological characteristics of the method for the quantitative determination of syringin in syrups of *Eleutherococcus senticosus*

f	\bar{X}	S	P, %	t (P, f)	ΔX	E, %
10	0,0026	0,0001723	95	2,23	$\pm 0,0003$	$\pm 6,58$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате фитохимического исследования обоснована целесообразность использования подходов к контролю качества и стандартизации препаратов корневищ и корней элеутерококка колючего, учитывающих данные о химическом составе исследуемого лекарственного растительного сырья. В частности, для анализа препаратов элеутерококка колючего предложены методика определения суммы фенолпропаноидов (не элеутерозидов, под которыми понимаются вещества разной химической структуры), существенно отличающаяся пробоподготовкой, и модифицированная ВЭЖХ-методика определения элеутерозида В (сирингина).

ЛИТЕРАТУРА

- Jia A., Zhang Yu., Gao H., Zhang Z., Zhang Ya., Wang Z., Zhang J., Deng B., Qiu Z., Fu Ch. A review of *Acanthopanax senticosus* (Rupr and Maxim.) Harms: From ethnopharmacological use to modern application. *The Journal of Ethnopharmacology*. 2021;268:113586. DOI: 10.1016/j.jep.2020.113586.
- Lau K.-M., Yue G. G.-L., Chan Y.-Y. et al. A review on the immunomodulatory activity of *Acanthopanax senticosus* and its active components. *Chinese Medicine*. 2019;14(1):25. DOI: 10.1186/s13020-019-0250-0.
- Muszyńska B., Łojewski M., Rojowski J., Opoka W., Sułkowska-Ziaja K. Natural products of relevance in the prevention and supportive treatment of depression. *Psychiatria Polska*. 2015;49(3):435–453. DOI:10.12740/PP/29367.
- Huang L., Zhao H., Huang B., Zheng C., Peng W., Qin L. *Acanthopanax senticosus*: review of botany, chemistry and pharmacology. *Pharmazie*. 2011;66(2):83–97. DOI:10.1002/chin.201125219.
- Дардымов И. В. Женьшень, элеутерококк (к механизму биологического действия). М.: Наука; 1976. 184 с.
- Куркин В. А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). Изд. 5-е, перераб. и доп. Самара: ООО «Полиграфическое объединение «Стандарт»; ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России; 2020. 1278 с.
- Оводов Ю. С., Фролова Г. М., Неведова М. Ю., Еляков Г. Б. Гликозиды *Eleutherococcus senticosus*. II. Строение элеутерозидов А, В, С и Д. *Химия природных соединений*. 1967;(1):63–64.
- Wang Y.-H., Meng Y., Zhai C. et al. The Chemical Characterization of *Eleutherococcus senticosus* and Ci-wu-jia Tea Using UHPLC-UV-QTOF/MS. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(3):475. DOI: 10.3390/ijms20030475.
- Guo S., Wei H., Li J. et al. Geographical Distribution and Environmental Correlates of Eleutherosides and Isofraxidin in *Eleutherococcus senticosus* from Natural Populations in Forests at Northeast China. *Forests*. 2019;10(10):872. DOI: 10.3390/f10100872.
- European Pharmacopoeia, 10th Ed. Strasbourg: Council of Europe; 2019. 4748 p.
- Министерство здравоохранения Российской Федерации. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания. Т. 4. М.; 2018. 1833 с.
- Куркин В. А., Евстратова Р. И., Запесочная Г. Г. Фенольные соединения корней *Eleutherococcus senticosus*. *Химия природных соединений*. 1991;(6):854–856.

- Lee J., Weon J. B., Yun B. R., Eom M. R., Ma C. J. Simultaneous determination three phytosterol compounds, campesterol, stigmasterol and daucosterol in *Artemisia apiacea* by high performance liquid chromatography-diode array ultraviolet/visible detector. *Pharmacognosy Magazine*. 2015;11(42):297–303. DOI:10.4103/0973-1296.153082
- Preedy V.R. *Dietary Sugars Chemistry, Analysis, Function and Effects*. Cambridge: Royal Society of Chemistry; 2012. 904 p.
- Куркин В. А., Рязанова Т. К., Серебрякова А. Д. Разработка подходов к стандартизации коры сирени обыкновенной. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2021;24(7):37–44. DOI: 10.29296/25877313-2021-07-06.

REFERENCES

- Jia A., Zhang Yu., Gao H., Zhang Z., Zhang Ya., Wang Z., Zhang J., Deng B., Qiu Z., Fu Ch. A review of *Acanthopanax senticosus* (Rupr and Maxim.) Harms: From ethnopharmacological use to modern application. *The Journal of Ethnopharmacology*. 2021;268:113586. DOI: 10.1016/j.jep.2020.113586.
- Lau K.-M., Yue G. G.-L., Chan Y.-Y. et al. A review on the immunomodulatory activity of *Acanthopanax senticosus* and its active components. *Chinese Medicine*. 2019;14(1):25. DOI: 10.1186/s13020-019-0250-0.
- Muszyńska B., Łojewski M., Rojowski J., Opoka W., Sułkowska-Ziaja K. Natural products of relevance in the prevention and supportive treatment of depression. *Psychiatria Polska*. 2015;49(3):435–453. DOI:10.12740/PP/29367.
- Huang L., Zhao H., Huang B., Zheng C., Peng W., Qin L. *Acanthopanax senticosus*: review of botany, chemistry and pharmacology. *Pharmazie*. 2011;66(2):83–97. DOI:10.1002/chin.201125219.
- Dardymov I. V. Ginseng, Eleutherococcus (to the mechanism of biological action). Moscow: Nauka; 1976. 184 p. (In Russ.)
- Kurkin V. A. Pharmacognosy: a textbook for students of pharmaceutical universities (faculties). 5th ed., rev. and add. Samara: ООО "Poligraficheskoe ob"edinenie "Standart"; FGBOU VO SamGMU Minzdrava Rossii; 2020. 1278 p. (In Russ.)
- Ovodov Yu. S., Frolova G. M., Nefedova M. Yu., Elyakov G. B. *Eleutherococcus senticosus* glycosides. II. The structure of eleutherosides A, B, C and D. *Chemistry of Natural Compounds*. 1967;(1):63–64. (In Russ.)
- Wang Y.-H., Meng Y., Zhai C. et al. The Chemical Characterization of *Eleutherococcus senticosus* and Ci-wu-jia Tea Using UHPLC-UV-QTOF/MS. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(3):475. DOI: 10.3390/ijms20030475.
- Guo S., Wei H., Li J. et al. Geographical Distribution and Environmental Correlates of Eleutherosides and Isofraxidin in *Eleutherococcus senticosus* from Natural Populations in Forests at Northeast China. *Forests*. 2019;10(10):872. DOI: 10.3390/f10100872.
- European Pharmacopoeia, 10th Ed. Strasbourg: Council of Europe; 2019. 4748 p.
- Ministry of Health of Russian Federation. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV Edition. Vol. 4. Moscow; 2018. 1833 p. (In Russ.)
- Kurkin V. A., Evstratova R. I., Zapsochnaya G. G. Phenolic compounds in the roots of *Eleutherococcus senticosus*. *Chemistry of Natural Compounds*. 1991;(6):854–856. (In Russ.)
- Lee J., Weon J. B., Yun B. R., Eom M. R., Ma C. J. Simultaneous determination three phytosterol compounds, campesterol, stigmasterol and daucosterol in *Artemisia apiacea* by high performance liquid chromatography-diode array ultraviolet/visible detector. *Pharmacognosy Magazine*. 2015;11(42):297–303. DOI:10.4103/0973-1296.153082
- Preedy V.R. *Dietary Sugars Chemistry, Analysis, Function and Effects*. Cambridge: Royal Society of Chemistry; 2012. 904 p.
- Kurkin V. A., Ryzanova T. K., Serebryakova A. D. Development of approaches to standardization of bark of *Syringa vulgaris* L. *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoj i farmatsevticheskoi khimii*. 2021;24(7):37–44. (In Russ.) DOI: 10.29296/25877313-2021-07-06.