https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1637
УДК 57.088.2

Check for updates

CC BY 4.0

Оригинальная статья / Research article

Разработка технологии сухого экстракта на основе биомассы каллусных культур *Scutellaria baicalensis*

А. А. Данилова✉, Н. С. Пивоварова, Е. В. Флисюк

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А

✉ **Контактное лицо:** Данилова Александра Артёмовна. **E-mail:** shmarova.aleksandra@pharminnotech.com

ORCID: А. А. Данилова – https://orcid.org/0000-0002-0191-7342; Н. С. Пивоварова – https://orcid.org/0000-0003-3020-8526; Е. В. Флисюк – https://orcid.org/0000-0001-8077-2462.

Статья поступила: 02.11.2023 **Статья принята в печать:** 15.11.2023 **Статья опубликована:** 24.11.2023

Резюме

Введение. Исследования последних лет показали, что природные биологически активные вещества растений эволюционно более близки организму человека, чем синтетические. Они легко включаются в обменные процессы и практически не имеют побочных эффектов, а многие из них являются предшественниками физиологически активных веществ. Примером ценного лекарственного растительного сырья (ЛРС) являются корни шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis*), в составе которых присутствуют видоспецифичные флавоноиды – байкалин и скутеллярин, обладающие потенциалом для создания противовирусных ЛС и систем функционального питания с антиоксидантными и адаптогенными свойствами. Для нивелирования существующих недостатков использования интактного растения в фармацевтической практике предложен природосберегающий и эргономичный подход к культивированию клеток шлемника байкальского в контролируемых условиях *in vitro*. Данная технология позволяет извлекать активные вещества *S. baicalensis* без нанесения ущерба окружающей среде и способствует сокращению времени наработки необходимого количества растительного материала с повышением эффективности производственных процессов.

Цель. Разработка технологии сухого экстракта на основе биомассы каллусных культур *S. baicalensis*.

Материалы и методы. Объект исследования – биомасса клеток *S. baicalensis*, полученная из каллусной культуры. *Функциональные характеристики* (сыпучесть, коэффициент Хауснера, индекс Карра, фракционный состав, а также пористость и гигроскопичность) *биомассы* шлемника байкальского и сухого экстракта на ее основе рассчитаны согласно методикам Фармакопеи ЕАЭС. Экстракция растительного материала осуществлялась методом мацерации при нагревании на водяной бане с обратным холодильником. Качественный и количественный анализ БАВ в составе сухого экстракта реализован методами спектрофотометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Показатели качества и функциональные характеристики готового продукта оценивались в соответствии с фармакопейными требованиями.

Результаты и обсуждение. Проведена оценка функциональных характеристик биомассы шлемника байкальского, и подтверждена возможность получения сухого экстракта на ее основе. Подобраны параметры процесса извлечения БАВ, установлено присутствие байкалина в экстракте биомассы, и проведена сравнительная оценка профиля агликона в экстракте на основе каллусной культуры и корней шлемника байкальского. Оценены свойства готового продукта на предмет соответствия нормативным требованиям, а также технологические характеристики.

Заключение. Показатели качества сухого экстракта биомассы шлемника байкальского удовлетворяют нормативным требованиям, а технологические характеристики являются пригодными для использования полученного продукта в качестве фитосубстанции для разработки ЛС комбинированного типа и биологически активных добавок.

Ключевые слова: шлемник байкальский, каллусные культуры, биомасса растительных клеток, сухой экстракт, байкалеин, функциональные характеристики

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

Вклад авторов. Н. С. Пивоварова, А. А. Данилова, Е. В. Флисюк – постановка задачи, обсуждение планов экспериментальных работ. А. А. Данилова – выполнение эксперимента, обработка полученных данных. А. А. Данилова, Н. С. Пивоварова, Е. В. Флисюк – обсуждение и представление результатов, написание текста статьи.

Финансирование. Результаты работы получены с использованием оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России.

Для цитирования: Данилова А. А., Пивоварова Н. С., Флисюк Е. В. Разработка технологии сухого экстракта на основе биомассы каллусных культур *Scutellaria baicalensis*. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4):173–180. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1637

The Development of Dry Extract Technology from Callus Culture Biomass of *Scutellaria baicalensis*

Alexandra A. Danilova✉, Nadezhda S. Pivovarova, Elena V. Flisyuk

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ **Corresponding author:** Alexandra A. Danilova. **E-mail:** shmarova.aleksandra@pharminnotech.com

© Данилова А. А., Пивоварова Н. С., Флисюк Е. В., 2023
© Danilova A. A., Pivovarova N. S., Flisyuk E. V., 2023

ORCID: Alexandra A. Danilova – https://orcid.org/0000-0002-0191-7342; Nadezhda S. Pivovarova– https://orcid.org/0000-0003-3020-8526;
Elena V. Flisyuk – https://orcid.org/0000-0001-8077-2462.

Received: 02.11.2023 **Revised:** 15.11.2023 **Published:** 24.11.2023

Abstract

Introduction. Plant biologically active substances (BAS) are valuable for drug development in view of their pharmacological effects and metabolic proximity to the human body. As an example of a useful herbal raw material, the roots of Scutellaria baicalensis, which contain species-specific flavonoids, baicalin and scutellarin, possess the potency of creating antiviral drugs and functional nutrition systems with antioxidant and adaptogenic properties. In order to levelling the existing limitations of using intact plant in pharmaceutical practice, we proposed a nature-saving and ergonomic approach of cultivation of *S. baicalensis* cells under *in vitro* conditions. This technology allows to extract active substances of *S. baicalensis* without causing damage to the environment and contributes to the reduction of the time required to produce the necessary amount of plant material with an increase in the efficiency of production processes.

Aim. The development of dry extract technology from *S. baicalensis* callus biomass.

Materials and methods. The object of the study – biomass of *S. baicalensis* cells obtained from callus culture. Functional characteristics (friability, Hausner's coefficient, Carr's index, fractional composition, as well as porosity and hygroscopicity) of *S. baicalensis* biomass and dry extract on its basis were determined according to the methods of the EAEU Pharmacopoeia. Extraction of plant material was carried out by maceration method with heating in a water bath with reflux condenser. Qualitative and quantitative analysis of BAS in the dry extract was carried out by spectrophotometry and high-performance liquid chromatography. Quality indicators and functional characteristics of the finished product were evaluated in accordance with pharmacopeial requirements.

Results and discussion. The functional characteristics of the *S. baicalensis* biomass were evaluated and the possibility of obtaining a dry extract on its basis was confirmed. We selected parameters of BAS extraction process, established the presence of baicalin in the biomass extract and carried out a comparative evaluation of aglycone profile in the extract based on callus culture and roots of intact plant. The properties of the finished product were evaluated for compliance with regulatory requirements, as well as technological characteristics.

Conclusion. The quality indicators of the dry extract of the *S. baicalensis* biomass satisfy the normative conditions. The technological characteristics of dry extract are suitable for the utilisation as a phytosubstance for the development of medicines of combined type and dietary supplements.

Keywords: Baikal skullcap, callus cultures, plant cell biomass, dry extract, baicalein, functional characteristics

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. Nadezhda S. Pivovarova, Alexandra A. Danilova, Elena V. Flisyuk – problem statement, discussion of experimental plans. Alexandra A. Danilova – execution of the experiment, processing of the obtained data. Alexandra A. Danilova, Nadezhda S. Pivovarova, Elena V. Flisyuk – discussion and presentation of results, writing the text of the article.

Funding. The results of the work were obtained using the equipment of the Center for Collective Use "Analytical Center of Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University" within the framework of agreement No. 075-15-2021-685 dated July 26, 2021 with the financial support of the Ministry of Education and Science of Russia.

For citation: Danilova A. A., Pivovarova N. S., Flisyuk E. V. The development of dry extract technology from callus culture biomass of *Scutellaria baicalensis*. *Drug development & registration*. 2023;12(4):173–180. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1637

ВВЕДЕНИЕ

Биологически активные вещества (БАВ) растительного происхождения, или вторичные метаболиты, представляют существенный интерес для разработки лекарственных средств (ЛС) [1–3]. Причина повышенного внимания к фитосубстанциям заключается в разнообразии фармакологических эффектов и метаболитной близости к организму человека, что в конечном итоге определяет перспективность и востребованность растительных молекул [1, 3–5].

В контексте направленности населения на фитомедицину и принципы здорового образа жизни весьма ценным лекарственным растением является шлемник байкальский (*Scutellaria baicalensis*). В состав корней растения входят такие видоспецифичные флавоноиды, как байкалин и скутеллярин, особенно ценные в контексте создания противовирусных ЛС, адаптогенных пищевых добавок и систем функционального питания с антиоксидантными свойствами [6, 7]. С точки зрения промышленной технологии использование традиционных способов заготовки шлемника опосредует широкий круг проблем. Сокращение биоразнообразия, возможность выращивания *S. baicalensis* в строго определенных климатических зонах [8], обработка гербицидными и инсектицидными токсичными средствами, а также экономически невыгодное расширение производственных площадей ставят под сомнение использование данного вида лекарственного растительного сырья (ЛРС) в промышленной практике.

Для нивелирования существующих недостатков в настоящее время предложено использование междисциплинарных подходов, сочетающих в себе

принципы природосбережения и эффективной организации производственных процессов. Одним из альтернативных методов получения БАВ шлемника байкальского становится клеточная биотехнология, предполагающая выращивание биомассы растительных клеток *in vitro*. Благодаря обеспечению контролируемых условий растительные клетки в виде каллусной культуры приобретают кумулятивные функции и продуцируют большее количество вторичных метаболитов. То есть клеточная биомасса может быть использована в качестве альтернативного растительного сырья для получения ЛС, в том числе фитосубстанций в виде сухих экстрактов [9]. Такой подход, с одной стороны, позволяет извлекать активные вещества *S. baicalensis* без нанесения ущерба окружающей среде, а с другой – способствует сокращению времени наработки необходимого количества растительного материала и повышает эффективность производственных процессов.

Цель. Разработка технологии сухого экстракта на основе биомассы каллусных культур *Scutellaria baicalensis*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Объектом исследования являлась биомасса каллусных культур *Scutellaria baicalensis*, предоставленная лабораторией культур растительных клеток кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

Методы и оборудование

Для получения сухой биомассы шлемника байкальского клетки каллусной культуры в стационарной фазе роста переносили с поверхности питательной среды на нейлоновый фильтр 0,2 мкм Bottle Top (Corning, США), проводили вакуумную фильтрацию с последующей сушкой в сушильном шкафу ШС-80-01 (ОАО «Смоленское СКТБ СПУ», Россия) при температуре 60 °С в течение 24 часов.

Определение фракционного состава порошка биомассы осуществляли с помощью набора сит (CISA Cedaceria Industrial S.L., Испания) согласно методике статьи 2.1.10.8. «Оценка распределения частиц по размеру методом аналитического просеивания»[1]. Для расчета коэффициента Хауснера, числа Карра и внутренней пористости измеряли насыпную плотность порошка до уплотнения (D_a) и после уплотнения (D_c) с помощью тестера насыпной плотности ERWEKA SVM 221 (ERWEKA GmbH, Германия) по методике статьи 2.1.10.3. «Насыпная плотность и плотность после уплотнения»[2].

Коэффициент Хауснера (IH) представляет собой косвенную характеристику сыпучести порошкообразного материала, размера и формы частиц и вычисляется в соответствии с формулой (1):

$$IH = \frac{D_c}{D_a}. \quad (1)$$

Индекс Карра (IC) характеризует сжимаемость частиц порошка, рассчитывается по формуле (2):

$$IC = 100 \cdot \frac{D_c - D_a}{D_c}. \quad (2)$$

Для определения внутренней пористости (пространства между частицами порошка) использовали расчет по формуле (3):

$$I_e = \frac{D_c - D_a}{D_c \cdot D_a}. \quad (3)$$

Сыпучесть биомассы *S. baicalensis* и экстрактов на ее основе определяли на тестере сыпучести порошков ERWEKA GTD-63150 (ERWEKA GmbH, Германия) по методике Фармакопеи ЕАЭС[3].

Экстракцию материала проводили по следующей методике: 3 г измельченной биомассы (размер частиц 1–1,5 мм) помещали в круглодонную колбу со шлифом и заливали соответствующим количеством 70%-го спирта этилового. Проводили настаивание в течение 24 часов. Экстракцию осуществляли кипячением на водяной бане с обратным холодильником в течение заданного времени. Для оценки эффективности экстракции рассматривали варианты гидромодулей 1:10, 1:15, 1:30, 1:50 и 1:100 и длительности процесса в течение 30, 45, 60 и 90 минут. Полученные извлечения охлаждали при комнатной температуре и проводили вакуумное фильтрование. Отгон спирта осуществляли в вакуумно-роторном испарителе Hei-VAP Advantage (Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Германия). Концентрированное извлечение центрифугировали MPW-380 (MPW Med. Instruments, Польша), осадок отбрасывали, супернатант собирали и трехкратно промывали гексаном (АО «ВЕКТОН», Россия) для удаления неполярных соединений. После очищенный экстракт выпаривали на водяной бане до сухого остатка при температуре 50 °С, а затем помещали в лиофильную сушилку FreeZone 2,5L (Labconco, США) на 24 часа.

[1] Статья 2.1.10.8. Оценка распределения частиц по размеру методом аналитического просеивания. Фармакопея ЕАЭС. Том 2. С. 152–157. Доступно по: https://eec.eaeunion.org/upload/medialibrary/9de/2-chast-1-toma-Farmakopei-Soyuza-_s-vozmozhnostyu-poiska_.pdf. Ссылка активна на 07.11.2023.

[2] Статья 2.1.10.3. Насыпная плотность и плотность после уплотнения. Фармакопея ЕАЭС. Том 2. С. 133–136. Доступно по: https://eec.eaeunion.org/upload/medialibrary/9de/2-chast-1-toma-Farmakopei-Soyuza-_s-vozmozhnostyu-poiska_.pdf. Ссылка активна на 07.11.2023.

[3] Статья 2.1.10.1. Фармакопея ЕАЭС. Том 2. Сыпучесть. С. 127–132. Доступно по: https://eec.eaeunion.org/upload/medialibrary/9de/2-chast-1-toma-Farmakopei-Soyuza-_s-vozmozhnostyu-poiska_.pdf. Ссылка активна на 07.11.2023.

Аналитическое исследование экстрактов биомассы *S. baicalensis* проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на жидкостном хроматографе Prominence поколения LC-20 (Shimadzu Corporation, Япония) с колонкой Supelcosil C18 (250 × 4,6, 5 мкм), оснащенном диодно-матричным детектором SPD-M20A, в градиентном режиме (условия приведены в таблице 1). Подвижная фаза А представлена 0,1 % об. трифторуксусной кислотой (Chemical Line, Россия) в сверхчистой деионизированной воде; подвижная фаза В – 0,1 % об. ТФУ в ацетонитриле (HPLC for UV / Gradient Grade, J.T. Baker, США), скорость подвижной фазы – 1 мл/мин. В качестве контроля использован экстракт на основе корней *S. baicalensis*, полученный по аналогичной методике.

Таблица 1. Условия проведения высокоэффективной жидкостной хроматографии в градиентном режиме

Table 1. Conditions of highperformance liquid chromatography in gradient mode

Состав подвижной фазы, %B Mobile phase composition, %B	5	5	100	100	5	5
Время, мин Time, min	0	5	45,75	50	60	65

Для спектрофотометрического анализа отбирали аликвоты экстракта в количестве 500 мкл, центрифугировали в течение 5 минут при скорости 13000 об/мин. Собирали супернатант, готовили спиртовое разведение (соотношение 1:250) и снимали спектры при аналитической длине волны 275 нм на спектрофотометре СФ-2000 (ЗАО «ОКБ Спектр», Россия). Количественное определение флавоноидов в пересчете на скутелларин и байкалин проводили по методике [8].

Сухой экстракт шлемника байкальского биомассы проверялся на соответствие показателям качества по методикам, описанными в статьях 2.5.1.37. «Экстракты»[1], 2.1.8.16. «Потеря в массе при высушивании»[2]. Оценку содержания макро- и микроэлементов, в том числе тяжелых металлов, а также остаточных органических растворителей проводили в рамках договора Центра коллективного пользования СПХФУ посредством атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой и газовой хроматографии соответственно. Методики разработаны Центром контроля качества лекарственных средств СПХФУ.

[1] Статья 2.5.1.37. Экстракты. Фармакопея ЕАЭС. Том 2. С. 411–413. Доступно по: https://eec.eaeunion.org/upload/medialibrary/9de/2-chast-1-toma-Farmakopei-Soyuza-_s-vozmozhnostyu-poiska_.pdf. Ссылка активна на 07.11.2023.

[2] Статья 2.1.8.16. Потеря в массе при высушивании экстрактов. Фармакопея ЕАЭС. Том 1. С. 411–413. Доступно по: https://eec.eaeunion.org/upload/medialibrary/9de/2-chast-1-toma-Farmakopei-Soyuza-_s-vozmozhnostyu-poiska_.pdf. Ссылка активна на 07.11.2023.

Статистическую обработку результатов экспериментов осуществляли с помощью программного обеспечения R-Studio (R Foundation for Statistical Computing, Австрия) в соответствии с требованиями Фармакопеи ЕАЭС[3].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Биомасса шлемника байкальского представляет порошок с крупнодисперсными частицами среднего размера, обладающий хорошими свойствами сыпучести (таблица 2). Рассчитанные значения сыпучести, коэффициентов Хауснера и индекса Карра подтверждают возможность использования биомассы в качестве пористого растительного материала с достаточной для экстракции площадью поверхности частиц.

Таблица 2. Характеристики порошкообразного материала биомассы шлемника байкальского

Table 2. Characteristics of *S. baicalensis* biomass powdered material

Показатель Parameter	Единица измерения Unit of measurement	Значение Value	
Фракционный состав Particle size fraction		Размер отверстий сита, мм Sieve openings size, mm	Массовая доля порошка, % Powder mass fraction, %
		< 0,25	4,67
		0,25	9,82
		0,5	4,52
		0,8	0,64
		1	15,23
		1,5	60,14
Насыпная плотность до уплотнения (D_a) Bulk density (D_a)	г/см^3 g/cm^3	0,612 ± 0,001	
Насыпная плотность после уплотнения (D_c) Tapped density (D_c)	г/см^3 g/cm^3	0,669 ± 0,001	
Сыпучесть (t^{II}) Flowability (t^{II})	г/с g/sec	4,12 ± 0,32	
Индекс Карра (IC) Carr Index (IC)	–	9,31	
Коэффициент Хауснера (IH) Hausner ratio (IH)	–	1,09	
Пористость Porosity	–	0,14	
Потеря в массе при высушивании Loss on drying	%	0,99 ± 0,01	
Гигроскопичность Hygroscopicity	%	3,15 ± 0,08	

[3] Статья 2.3.13.0. Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытании. Фармакопея ЕАЭС. Том 2. С. 213–235. Доступно по: https://eec.eaeunion.org/upload/medialibrary/9de/2-chast-1-toma-Farmakopei-Soyuza-_s-vozmozhnostyu-poiska_.pdf. Ссылка активна на 07.11.2023.

При разработке технологии сухого экстракта биомассы шлемника использован метод интенсификации классического варианта мацерации – кипячение на водяной бане с обратным холодильником. Выбор в качестве экстрагента спирта этилового 70%-го связан с высокой извлекающей способностью в отношении флавоноидов [10]. Изучение кинетики экстракции для каждого варианта соотношения сырья и экстрагента осуществляли посредством отбора проб в установленные временные контрольные точки и снятия спектров водно-спиртовых извлечений (рисунок 1). Самые низкие значения оптической плотности характерны для варианта гидромодуля 1:10 (0,3045 ± 0,0813). Это может быть связано с небольшой скоростью диффузии экстрагента через микропористую структуру биомассы недифференцированных клеток. Наибольшая оптическая плотность (0,6653 ± 0,0047) отмечена для образца с гидромодулем 1:50, который выбран для дальнейшей разработки технологии.

Эффективным временем экстракции для всех образцов является контрольная точка – 60 минут. Исходя из полученных значений, для извлечения БАВ полифенольной природы 70%-м этанолом предлагается использовать следующий набор параметров: гидромодуль 1:50 и длительность процесса 1 час.

Для подтверждения пригодности подобранных параметров проведен фитохимический скрининг экстракта биомассы методом аналитической ВЭЖХ на предмет качественного обнаружения БАВ. Известно, что флавон байкалин и его агликон – байкалеин преобладают по количественному содержанию в интактном растении [6, 8]. Согласно данным хроматограмм, высота пиков указанных соединений значительно больше прочих, что косвенно подтверждает мажорность байкалина и его агликона в экстрактах корней *S. baicalensis* и каллусной биомассы (рисунок 2, таблица 3). Высота пика байкалеина (312,5 мкВ) в экстракте биомассы значительно превышает высоту пика этого соединения (75 мкВ) в экстракте корней интактного растения. Предположительно, для биомассы клеток *S. baicalensis* характерно большее количество агликона в сравнении с подземными органами растения. Согласно данным [11], байкалеин лучше абсорбируется клетками кишечника при пероральном приеме, чем байкалин. Поэтому разработка технологии фитосубстанции, обогащенной данным агликоном, представляется перспективной для создания эффективных ЛС.

Таблица 3. Обнаруженные БАВ экстракта биомассы шлемника байкальского [8–10, 12, 13]

Table 3. Detected BAS in the *S. baicalensis* biomass extract [8–10, 12, 13]

Детектируемое вещество Detected substance	**Стандарты** Standards	**Экстракт биомассы *S. baicalensis*** Extract of *S. baicalensis* biomass
	Время удержания (t_r), с Retention time (t_r), s	
Скутеллярин Scutellarin	18,85	18,21
Лютеолин Luteolin	19,81	19,45
Салицилловая кислота Salicylic acid	20,04	20,06
Кверцетин Quercetin	21,60	21,32
Байкалин Baicalin	22,72	22,54
Кемпферол Kaempferol	23,48	23,43
Апигенин Apigenin	24,56	24,67
Байкалеин Baicalein	27,30	27,14

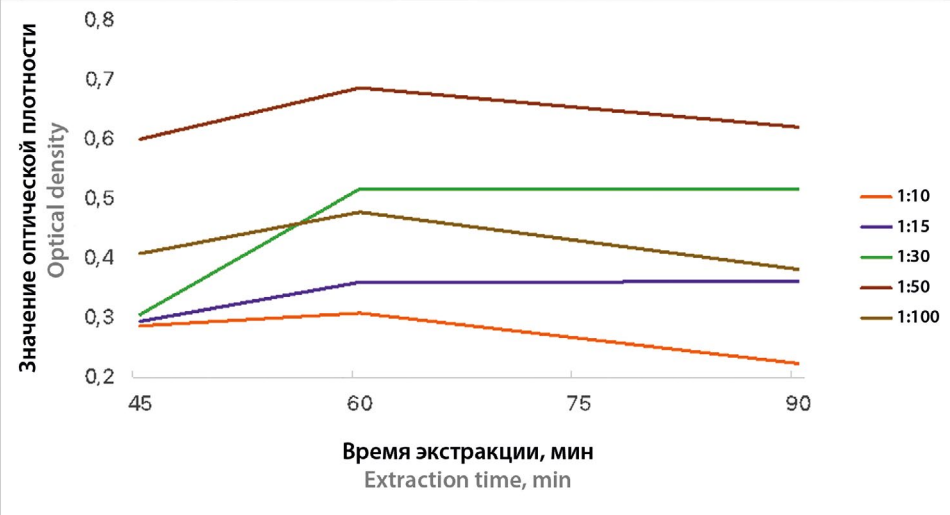

Рисунок 1. Изучение кинетики экстракции биомассы шлемника байкальского 70%-м спиртом этиловым

Figure 1. Study of extraction kinetics of S. baicalensis biomass with 70 % ethyl alcohol

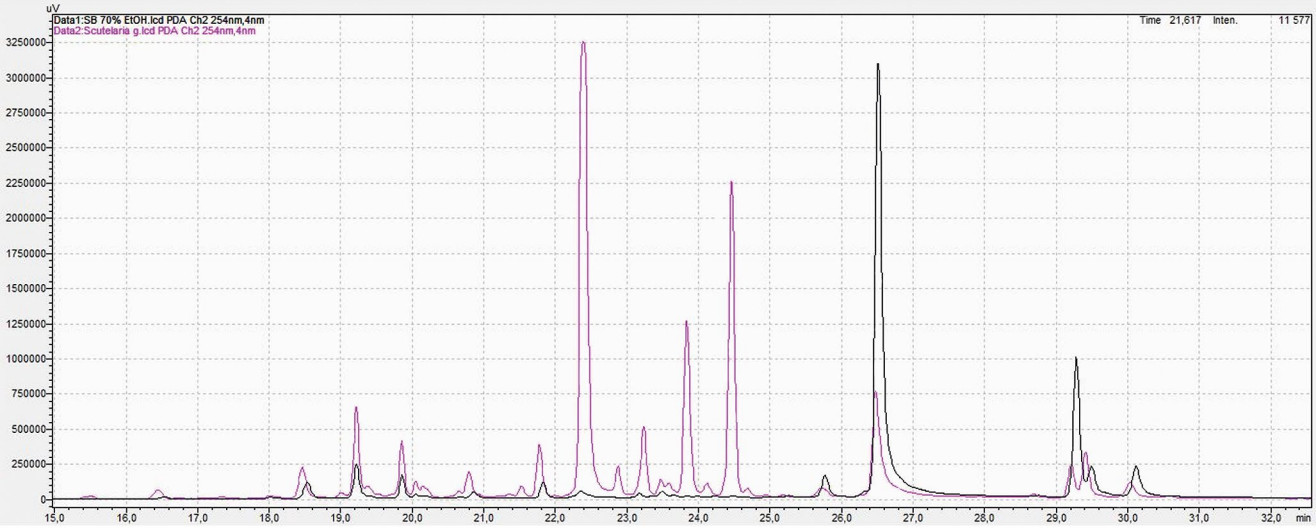

Рисунок 2. Результаты аналитической ВЭЖХ для извлечений на основе биомассы (черная линия) и корней *S. baicalensis* (розовая линия)

Figure 2. Analytical HPLC results for extracts based on the biomass (black line) and roots of *S. baicalensis* (pink line)

Сухой экстракт биомассы *S. baicalensis* представляет собой мелкодисперсный порошок от светло-коричневого до темно-коричневого цвета с характерным запахом, обладающий свойствами гигроскопичности.

Содержание флавоноидов в сухом экстракте биомассы составило (2,77 ± 0,334) % в пересчете на скутеллярин, (4,56 ± 0,348) % в пересчете на байкалин (метрологические характеристики – таблицы 4, 5). Относительная ошибка определения не превышает 5 %, то есть находится в диапазоне случайной ошибки методики.

Таблица 4. Метрологические характеристики методики определения суммы флавоноидов сухого экстракта биомассы *S. baicalensis* в пересчете на скутеллярин

Table 4. Metrological characteristics of the determination of the flavonoid sum calculated with reference to scutellarin in the dry extract of *S. baicalensis* biomass

Образец Sample	***X*, %**	***S*²**	S_x	**±Δ*x*, %**	***E*, %**
Сухой экстракт биомассы *S. baicalensis* Dry extract of *S. baicalensis* biomass	2,77	0,219	0,148	0,33	1,12

В качестве нормативных показателей качества установлено содержание флавоноидов в пересчете на скутеллярин не менее 2 %, в пересчете на байкалин – не менее 4 %.

Проведены испытания готового продукта на предмет соответствия фармакопейным требованиям для сухих экстрактов (таблица 6).

Таблица 5. Метрологические характеристики методики определения суммы флавоноидов сухого экстракта биомассы *S. baicalensis* в пересчете на байкалин

Table 5. Metrological characteristics of the determination of the flavonoid sum calculated with reference to baicalin in the dry extract of *S. baicalensis* biomass

Образец Sample	***X*, %**	***S*²**	S_x	**±Δ*x*, %**	***E*, %**
Сухой экстракт биомассы *S. baicalensis* Dry extract of *S. baicalensis* biomass	4,56	0,237	0,154	0,35	1,59

Дополнительно изучены функциональные характеристики полученной фитосубстанции для обоснования возможности ее использования в технологии твердых лекарственных форм. Сухой экстракт биомассы шлемника по технологическим свойствам является мелкодисперсным порошком с удовлетворительной сыпучестью (таблица 7). Основной недостаток фитосубстанции заключается в ее гигроскопичности (7,92 ± 0,08 %). Для нивелирования повышенной склонности к влагопоглощению можно предложить добавление аэросила, лактозы и прочих вспомогательных веществ.

Полученная фитосубстанция соответствует показателям качества и может быть рекомендована для использования в дальнейшей разработке технологии комбинированных ЛС, а также нутрицевтиков.

Таблица 6. **Показатели качества сухого экстракта биомассы *S. baicalensis***

Table 6. **Quality indicators of *S. baicalensis* biomass dry extract**

Показатель качества Quality indicator	**Метод контроля** Inspection method	**Норма** Normal value
1	**2**	**3**
Описание Description	Органолептический Organoleptic	Порошок от светло-коричневого до темно-коричневого цвета, с характерным запахом, гигроскопичный light brown – dark brown hygroscopic powder with typical odor
Потеря в массе при высушивании, % Loss on drying, %	Гравиметрический (Фармакопея ЕАЭС, стр. 296–297, ст. 2.1.8.16) Gravimetric (EAEU Pharmacopoeia, pp. 296–297, art. 2.1.8.16)	2,02 ± 0,17
Тяжелые металлы, % Heavy metals, %	Атомно-эмиссионная спектрометрия (Фармакопея ЕАЭС, стр. 67–68, ст. 2.1.2.22) Atomic emission spectrometry (EAEU Pharmacopoeia, pp. 67–68, art. 2.1.2.22)	Не обнаружены Not found
Остаточные органические растворители, ppm Residual organic solvents, ppm	Газовая хроматография (Фармакопея ЕАЭС, стр. 534–546, ст. 2.3.2.0.) Gas chromatography (EAEU Pharmacopoeia, pp. 534–546, art. 2.3.2.0.)	Не обнаружены Not found
Подлинность, % Identity, %	Абсорбционная спектрофотомерия в ультрафиолетовой и видимой областях (Фармакопея ЕАЭС, стр. 76–77, ст. 2.1.2.24) Absorption ultraviolet-visible spectrophotometry (EAEU Pharmacopoeia, pp. 76–77, art. 2.1.2.24)	2,77 ± 0,33 (в пересчете на скутеллярин) 4,56 ± 0,35 (в пересчете на байкалин) 2,77 ± 0,33 (equivalent to scutellarin) 4,56 ± 0,35 (equivalent to baicalin)

Таблица 7. **Функциональные характеристики сухого экстракта биомассы *S. baicalensis***

Table 7. **Functional characteristics of *S. baicalensis* biomass dry extract**

Показатель Parameter	**Единица измерения** Unit of measurement	**Значение** Value	
		Размер отверстий сита, мм Sieve openings size, mm	**Массовая доля порошка, %** Powder mass fraction, %
Фракционный состав Particle size fraction		<0,25	2,02
		0,25	6,33
		0,5	6,96
		0,8	79,68
		1	5,01
Насыпная плотность до уплотнения (D_a) Bulk density (D_a)	г/см^3 g/cm^3	1,503 ± 0,31	
Насыпная плотность после уплотнения Tapped density (D_c)	г/см^3 g/cm^3	1,884 ± 0,31	
Сыпучесть (t^{II}) Flowability (t^{II})	г/с g/sec	2,87 ± 0,31	
Индекс Карра (IC) Carr Index (IC)		0,21	
Коэффициент Хаусснера (IH) Hausner ratio (IH)		1,26	
Пористость Porosity	–	0,13	
Гигроскопичность Hygroscopicity	%	7,92 ± 0,08	

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение функциональных характеристик биомассы шлемника байкальского позволяет сделать вывод о возможности и эффективности ее использования в качестве растительного сырья для получения сухого экстракта, обогащенного полифенольными соединениями. Разработанная технология сухого экстракта позволяет получить продукт, соответствующий требованиям качества нормативно-правовой документации. Благодаря фитохимическим исследованиям выявлено наличие в биомассе агликона байкалеина, который накапливается в большем количестве по сравнению с содержанием в подземных органах растения, и доказана перспективность использования экстракта на основе культуры растительных клеток. Проведена количественная оценка содержания флавоноидов, и установлены пределы количественного содержания БАВ в пересчете на скутеллярин (не менее 2 %) и байкалин (не менее 4 %). Определены функциональные характеристики сухого экстракта биомассы *S. baicalensis*, и обозначен вектор возможности дальнейшей разработки ЛС комбинированного типа и биологически активных добавок.

ЛИТЕРАТУРА

1. Agarwal G., Blanco Carcache P. J., Addo E. M., Kinghorn A. D. Current status and contemporary approaches to the discovery of antitumor agents from higher plants. *Biotechnology Advances*. 2020;38:107337.
2. Thomford N. E., Senthebane D. A., Rowe A., Munro D., Seele P., Maroyi A., Dzobo K. Natural products for drug discovery in the 21st century: innovations for novel drug discovery. *Inter-*

national Journal of Molecular Sciences. 2018;19(6):1578. DOI: 10.3390/ijms19061578.
3. Стругар Й., Орлова А. А., Понкратова А. О., Уэйли А. К., Повыдыш М. Н. Выделение индивидуальных соединений из травы сабельника болотного (*Comarum palustre* L.) и установление их структуры спектроскопическими методами. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4):177–184. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4-177-184.
4. Кондратьев М. Н., Скороходова А. Н., Ларикова Ю. С., Евдокимова Д. П. Аллелопатические свойства вторичных соединений лекарственных растений. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2018;21(2):12–22. DOI: 10.29296/25877313-2018-02-02.
5. Повыдыш М. Н., Лужанин В. Г., Ивкин Д. Ю., Белоусов М. В., Яковлев Г. П. Перспективы использования фитотерапевтических средств при нарушениях жирового и углеводного обменов. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2018;3:130–135.
6. Zhao T., Tang H., Xie L., Zheng Y., Ma Z., Sun Q., Li X. Scutellaria baicalensis Georgi. (Lamiaceae): a review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2019;71(9):1353–1369. DOI: 10.1111/jphp.13129.
7. Su H., Yao S., Zhao W., Li M., Liu J., Shang W., Xie H., Ke C., Gao M., Yu K., Liu H., Shen J., Tang W., Zhang L., Zuo J., Jiang H., Bai F., Wu Y., Ye Ya., Xu Y. Discovery of baicalin and baicalein as novel, natural product inhibitors of SARS-CoV-2 3CL protease *in vitro*. *BioRxiv*. 2020. 13.038687. DOI: 10.1101/2020.04.13.038687.
8. Маматханова М. А., Эргашева Ш. А., Ботиров Э. Х., Мулюкин М. А., Халилов Р. М., Маматханов А. У. Количественное определение суммы флавоноидов надземной части *Scutellaria comosa*. *Химия растительного сырья*. 2023.1:239–246. DOI: 10.14258/jcprm.20230111301.
9. Kruglova N. N., Seldimirova O. A., Zinatullina A. E. In vitro Callus as a Model System for the Study of Plant Stress-Resistance to Abiotic Factors (on the Example of Cereals). *Biology Bulletin Reviews*. 2018;8(6):518–526. DOI: 10.1134/S2079086418060063.
10. Kim H. Y., Kim J. H. Chemical Influence of *Scutellaria baicalensis*—Coptis chinensis Pair on the Extraction Efficiencies of Flavonoids and Alkaloids at Different Extraction Times and Temperatures. *Separations*. 2023;10(2):131. DOI: 10.3390/separations10020131.
11. Huang T., Liu Y., Zhang C. Pharmacokinetics and bioavailability enhancement of baicalin: A review. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 2019;44(2):159–168. DOI: 10.1007/s13318-018-0509-3.
12. Исайкина Н. В., Коломиец Н. Э., Абрамец Н. Ю., Марьин А. А. Исследование травы крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.), произрастающей в некоторых районах европейской части России и Сибири. *Химия растительного сырья*. 2022;3:127–138. DOI: 10.14258/jcprm.20220310873.
13. Оленников Д. Н., Кащенко Н. И., Чирикова Н. К. Состав и биологическая активность флавоноидов и гидроксициннаматов *Urtica cannabina* (Urticaceae). *Химия растительного сырья*. 2022;3:167–175. DOI: 10.14258/jcprm.20220311231.

REFERENCES

1. Agarwal G., Blanco Carcache P. J., Addo E. M., Kinghorn A. D. Current status and contemporary approaches to the discovery of antitumor agents from higher plants. *Biotechnology Advances*. 2020;38:107337.
2. Thomford N. E., Senthebane D. A., Rowe A., Munro D., Seele P., Maroyi A., Dzobo K. Natural products for drug discovery in the 21st century: innovations for novel drug discovery. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(6):1578. DOI: 10.3390/ijms19061578.
3. Strugar Y., Orlova A. A., Ponkratova A. A., Whaley A. K., Povydysh M. N. Isolation of Individual Compounds from the Aerial Part of *Comarum palustre* L. and Their Structure Elucidation Using Spectroscopic Methods. *Drug development & registration*. 2022;11(4):177–184. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4-177-184.
4. Kondratiev M. N., Skorokhodova A. N., Larikova Ju. S., Evdokimova D. P. The allelopathic properties of secondary connections of medicinal plants. *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2018;21(2):12–22. (In Russ.) DOI: 10.29296/25877313-2018-02-02.
5. Povydysh M. N., Luzhanin V. G., Ivkin D. Yu., Belousov M. V., Yakovlev G. P. Prospects of using phytotherapy at disorders of fat and carbohydrate metabolism. *Drug development & registration*. 2018;3:130–135. (In Russ.)
6. Zhao T., Tang H., Xie L., Zheng Y., Ma Z., Sun Q., Li X. Scutellaria baicalensis Georgi. (Lamiaceae): a review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2019;71(9):1353–1369. DOI: 10.1111/jphp.13129.
7. Su H., Yao S., Zhao W., Li M., Liu J., Shang W., Xie H., Ke C., Gao M., Yu K., Liu H., Shen J., Tang W., Zhang L., Zuo J., Jiang H., Bai F., Wu Y., Ye Ya., Xu Y. Discovery of baicalin and baicalein as novel, natural product inhibitors of SARS-CoV-2 3CL protease *in vitro*. *BioRxiv*. 2020. 13.038687. DOI: 10.1101/2020.04.13.038687.
8. Mamatkhanova M. A., Ergasheva S. A., Botirov E. K., Mulyukin M. A., Khalilov R. M., Mamatkhanov A. U. Quantitative determination of the sum of flavonoids of the aboveground part of *Scutellaria comosa*. *Chemistry of plant raw materials*. 2023;1:239–246. (In Russ.) DOI: 10.14258/jcprm.20230111301.
9. Kruglova N. N., Seldimirova O. A., Zinatullina A. E. In vitro Callus as a Model System for the Study of Plant Stress-Resistance to Abiotic Factors (on the Example of Cereals). *Biology Bulletin Reviews*. 2018;8(6):518–526. DOI: 10.1134/S2079086418060063.
10. Kim H. Y., Kim J. H. Chemical Influence of *Scutellaria baicalensis*—Coptis chinensis Pair on the Extraction Efficiencies of Flavonoids and Alkaloids at Different Extraction Times and Temperatures. *Separations*. 2023;10(2):131. DOI: 10.3390/separations10020131.
11. Huang T., Liu Y., Zhang C. Pharmacokinetics and bioavailability enhancement of baicalin: A review. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 2019;44(2):159–168. DOI: 10.1007/s13318-018-0509-3.
12. Isaikina N. V., Kolomiyets N. E., Abramets N. Y., Marin A. A. The study of nettle herb (*Urtica dioica L.*), growing in some areas of the European Russia and Siberia. *Chemistry of plant raw materials*. 2022;3:127–138. (In Russ.) DOI: 10.14258/jcprm.20220310873.
13. Olennikov D. N., Kashchenko N. I., Chirikova N. K. Composition and biological activity of flavonoids and hydroxycinnamates of *Urtica cannabina* (*Urticaceae*). *Chemistry of plant raw materials*. 2022;3:167–175. DOI: 10.14258/jcprm.20220311231.