

УДК 615.451.16

ВЛИЯНИЕ СПОСОБА ЭКСТРАГИРОВАНИЯ И ТИПА ЭКСТРАГЕНТА НА ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА НАСТОЕК ИЗ ЦВЕТКОВ НОГОТКОВ

Е.П. Рогожникова^{1*}, С.Г. Марданлы¹, П.Г. Мизина²

Резюме. В работе рассмотрены возможности снижения концентрации этилового спирта при получении календулы настойки. Проведены исследования качества образцов в зависимости от концентрации использованного экстрагента. Установлено, что использование в качестве экстрагента этилового спирта концентрацией 40% и 20% при приготовлении настойки обеспечило лучшие количественные результаты по количественным показателям в сравнении с официальной настойкой календулы, изготовленной на 70% этиловом спирте. Однако использование в качестве экстрагента этилового спирта с концентрацией менее 40% не гарантирует получения настоек с определенной микробиологической чистотой. Данные исследования могут быть использованы в фармацевтической промышленности при получении настоек с меньшим содержанием этилового спирта.

Ключевые слова: календулы настойка, экстрагент, метод экстрагирования.

THE INFLUENCE OF THE EXTRACTION METHOD AND THE TYPE OF EXTRACTANT ON THE QUALITY OF INFUSIONS FROM MARIGOLD FLOWERS

E.P. Rogozhnikova^{1*}, S.G. Mardanly¹, P.G. Mizina²

Abstract. The paper discusses the possibility of reducing the concentration of ethanol in the preparation of calendula tincture. Sample quality research conducted depending on the concentration used extractant. It found that the use as the extractant ethanol concentration of 40% and 20% in the preparation of infusions showed better quantitative results in terms of quantity as compared with recognized calendula tincture made 70% ethanol, but use as ethyl alcohol extractant concentrations less than 40% doesn't guarantee the receipt of tinctures with a certain microbiological purity. These studies can be used in the pharmaceutical industry to obtain infusions with lower alcohol content.

Keywords: calendula tincture, extractant, extraction methods.

1 – ЗАО «ЭКОлаб», 142530, Россия, Московская область, г. Электрогорск, ул. Будённого, д. 1

2 – ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ «ВИЛАР»), 117216, Россия, г. Москва, ул. Грина, д. 7

1 – CJSC «EcoLab», 1, Budennogo str., Elektrogorsk, Moscow region, 117216, Russia

2 – National Institute of Herbal and Aromatic Plants, 7, Green str., Moscow, 117216, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: ekolab-rogozhnikova@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Жидкие формы лекарственных средств имеют ряд преимуществ перед твердыми формами, прежде всего это:

- время наступления терапевтического эффекта;
- отсутствие большого количества вспомогательных веществ и наполнителей, действие которых на организм человека неоднозначно;
- простота и удобство применения [1].

Присутствие этилового спирта обуславливает некоторые ограничения при приеме таких препаратов детьми, беременными и кормящими женщинами, пациентами с заболеваниями печени, алкогольной зависимостью, водителями транспорта и др.

Значительное снижение этилового спирта в настойке без потери содержащегося комплекса растворенных биологически активных веществ является актуальной проблемой для фармацевтической промышленности еще и в связи с требованиями по ограничению объема тары, комплектности и упаковки лекарственных препаратов для медицинского применения, предназначенных для приема внутрь (чем выше концентрация спирта в препарате, тем в меньший номинальный объем может быть расфасован препарат) [2].

В настоящее время сохраняется научный интерес к лекарственному растительному сырью цветки ноготков в связи с перспективой создания фитопрепаратов [3] как для лечения, так и для профилактики заболеваний, а также открытия новых фармакологических свойств. В настоящее время наблюдается новый виток активности исследований по изучению антимикробных свойств календулы лекарственной.

П.В. Афанасьевой с соавт. (2016 г.) проведены исследования, подтверждающие антимикробную активность как настойки из цветков ноготков, так и экстрактов на 40% и 70% этиловом спирте [4].

Поэтому изучение возможности получения настойки календулы с низким содержанием спирта, вероятно, позволит расширить область назначения лекарственного препарата.

В связи с этим целью нашей работы явилось обоснование выбора оптимального экстрагента и рационального способа экстрагирования цветков ноготков для получения лекарственного препарата «Календулы настойка».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования служили образцы опытных серий **настоек** и **настоев** календулы, полученные из сырья, отвечающего требованиям ЛСР-003426/07-261007 производителя ОАО «Красногорск-лексредства» (Россия), «Цветки ноготков, цельные «ангро»». В качестве веществ-свидетелей использовались стандартный образец рутина (регистрационный номер Chemical Abstracts Service (CAS): 13239, серия A0355330, годен до 01.2020 г.), стандартный образец кофейной кислоты (регистрационный номер CAS: 331-39-5, серия 2, годен до 01.2018 г.) и стандартный образец хлорогеновой кислоты (регистрационный номер CAS: 327-97-9, серия A0334316, годен до 05.2017 г.).

Испытания настоек проводили в соответствии с требованиями нормативной документации ЗАО «ЭКОлаб» [5] и ГФ XIII, ОФС.1.4.1.0019.15 «Настойки» [6], по показателям: «Описание», «Сухой остаток», «Содержание этилового спирта», «Подлинность», «Сумма флавоноидов», «Микробиологическая чистота». Определяли содержание сухого остатка по методике ГФ XIII, ОФС 1.2.1.0010.15 «Потеря в массе при высушивании» [7], содержание спирта этилового – по методике ГФ XIII, ОФС 1.2.1.0016.15 «Определение этилового спирта в жидких фармацевтических препаратах», метод дистилляции [8], подлинность (метод ТСХ) и содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин – с помощью спектрофотометра PortLab 511 (Великобритания) по методике НД ЗАО «ЭКОлаб» [5], микробиологическую чистоту – по методике ГФ XIII, ОФС 1.2.4.0002.15 «Микробиологическая чистота», категория 2 [9].

Испытания настоев проводили в соответствии с требованиями нормативной документации ЗАО «ЭКОлаб» [5] по показателям: «Описание», «Сухой остаток» – по методике ГФ XIII, ОФС 1.2.1.0010.15 «Потеря в массе при высушивании» [7], «Подлинность», «Сумма флавоноидов».

Определение суммы флавоноидов

0,5 мл препарата помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 5 мл 2% раствора алюминия хлорида в этиловом спирте, 0,1 мл кислоты уксусной, объем раствора доводили этиловым спиртом 95% до метки и перемешивали. Через 40 мин измеряли оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 408+2 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 0,5 мл календулы настойки и 0,1 мл кислоты уксусной, доведенный этиловым спиртом 95% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл [5].

Параллельно в тех же условиях измеряли оптическую плотность раствора, содержащего 1 мл 0,05% раствора СО рутина, 5 мл раствора алюминия хлорида и 0,1 мл кислоты уксусной и доведенного этиловым спиртом 95% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

В качестве раствора сравнения для измерения оптической плотности раствора РСО рутина использовали раствор, состоящий из 1 мл 0,05% раствора СО рутина и 0,1 мл кислоты уксусной, доведенный этиловым спиртом 95% до метки в колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин (X, %) в процентах вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A \times a_0 \times 25 \times 1 \times 100 \times P}{A_0 \times 0,5 \times 100 \times 25 \times 100} = \frac{A \times a_0 \times P}{A_0 \times 50},$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора; A₀ – оптическая плотность раствора СО рутина; a₀ – масса навески СО рутина в граммах; P – содержание основного вещества в стандартном образце в %.

Содержание суммы флавоноидов в календула настойке в пересчете на рутин должно быть не менее 0,05%.

Подлинность. Метод ТСХ [5]

На линию старта хроматографической пластинки «Сорбфил» наносили 20 мкл препарата, 10 мкл 0,05% раствора СО рутина (ФС 42-2508-87, ГФУ ФСО), 10 мкл 0,05% раствора СО кофейной (Евр. Ф. CAS: 331-39-5, ГФУ ФСО) и хлорогеновой (Евр. Ф. CAS: 327-97-9, ГФУ ФСО) кислот (срок годности растворов стандартных образцов – 1 сутки). Пластинку высушивали на воздухе, помещали в камеру со смесью растворителей безводная муравьиная кислота – вода – этилацетат (10:10:80) и хроматографировали восходящим способом. Затем пластинку опрыскивали последовательно 1% раствором дифенилборной кислоты β-этиламинового эфи-

ра (срок годности раствора 1 месяц) и 5% раствором полиэтиленгликоля-400 (срок годности раствора 1 месяц), нагревали пластинку до 100 °С и просматривали в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме испытуемого препарата в УФ-свете при 365 нм обнаруживаются:

- зона адсорбции с R_f около 0,35, соответствующая зоне РСО рутина с флуоресценцией желтовато-коричневого цвета;
- зона адсорбции с R_f около 0,92, соответствующая зоне СО кофейной кислоты с флуоресценцией светло-голубого цвета;
- зона адсорбции с R_f около 0,53, соответствующая зоне СО хлорогеновой кислоты с флуоресценцией светло-фиолетового цвета.

Допускается обнаружение дополнительных зон с R_f от 0,25 до 0,65 с флуоресценцией различного цвета.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Образцы настоек получали методом мацерации (МК), дробной мацерации (ДМК) и перколяции (ПК). В лаборатории было изготовлено по 5 образцов настоек с использованием этилового спирта 70%, 40% и 20% в соотношении сырья и готовой настойки 1:10.

Для сравнительной характеристики разных образцов определяли следующие показатели: «Описание», «Сухой остаток», «Содержание этилового спирта», «Подлинность», «Сумма флавоноидов», «Микробиологическая чистота» [5, 9].

Результаты испытаний приведены в таблице 1.

В таблице 1 приведены экспериментальные данные, где показатель «Сухой остаток» для дробной мацерации имеет значения от 3,24 до 4,48%, а при использовании методов мацерации и перколяции были получены значения от 2,11 до 2,60%.

Все полученные образцы настоек прозрачные, желтовато-коричневого цвета. При снижении концентрации этилового спирта незначительно увеличивается интенсивность цвета.

В образцах, полученных методом дробной мацерации, при снижении концентрации спирта наблюдается увеличение показателя «Сухой остаток», однако содержание целевых веществ (показатель «Сумма флавоноидов») незначительно падает, но превышает аналогичный показатель в настойках, полученных двумя другими методами. При использовании метода мацерации и перколяции наблюдается незначительное снижение содержания целевых веществ (показатель «Сумма флавоноидов»), но при этом его значение со-

храняется на уровне выше нормы, в то время как показатель «Сухой остаток» практически остается неизменным. Следовательно, рациональным является метод дробной мацерации.

По показателю «Подлинность» все образцы прошли испытание, присутствуют зоны адсорбции желтовато-коричневого цвета, светло-голубого цвета, светло-фиолетового цвета на уровне зон свидетелей (рутин, кофейная и хлорогеновая кислоты).

Изготовление настоек с использованием в качестве экстрагента 20% этилового спирта методами мацерации и перколяции не гарантирует соответствие требованиям «Микробиологическая чистота». Достижение соответствия требованиям категории 2 по показателю «Микробиологическая чистота» возможно при использовании дополнительной фильтрации через фильтры с удерживающей способностью не более 0,5 мкм.

Для сравнительного изучения экстрагируемого комплекса биологически активных веществ этиловым спиртом низкой концентрации и водой очищенной из этого же сырья были изготовлены **настои**. Настои были изготовлены в соответствии с инструкцией [2]. Полученные результаты приведены в таблице 2.

Результаты показали, что в настоях показатель «Сухой остаток» выше, чем в настойках, следовательно, в настоях присутствуют вещества, растворимые в воде и нерастворимые в этиловом спирте; показатель «Сумма флавоноидов» значительно ниже, чем в настойках (с использованием этилового спирта 70%, 40% концентрации): так, среднее значение суммы флавоноидов в настое 0,003%, а в настойках – от 0,048 до 0,111%. Показатель «Подлинность» подтвердил наличие в составе настоев веществ-свидетелей (рутин, хлорогеновая и кофейная кислоты).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сравнение показателей качественного и количественного содержания БАВ в настойках, изготовленных на этиловом спирте 40% и 70% и настоях, позволяет сделать предположение об идентичности состава БАВ в полученных извлечениях.

Метод дробной мацерации при приготовлении календулы настойки показал лучшие результаты по показателю «Сухой остаток» по сравнению с настойками, полученными методом перколяции и мацерации.

Использование в качестве экстрагента этилового спирта с концентрацией менее 40% не гарантирует получение настоек, соответствующих требованиям ГФ XIII, ОФС.1.2.4.0002.15 «Микробиологическая чистота», категория 2.

Таблица 1.

Показатели качества экспериментальных образцов календулы настойки

Номер образца	Описание (прозрачная жидкость желтовато-коричневого цвета со специфическим запахом)	Сухой остаток (не менее 2,1%)	Содержание этилового спирта, %	Подлинность	Сумма флавоноидов (не менее 0,05%)	Микробиологическая чистота (категория 2)
01/70 МК*	прозрачная жидкость желтовато-коричневого цвета со специфическим запахом	2,47	67	Соотв.	0,069	Соотв.
02/70 М К		2,31	66	Соотв.	0,065	Соотв.
03/70 М К		2,44	67	Соотв.	0,063	Соотв.
04/70 М К		2,31	67	Соотв.	0,066	Соотв.
05/70 М К		2,22	65	Соотв.	0,061	Соотв.
01/40 МК	прозрачная жидкость желтовато-коричневого цвета со специфическим запахом	2,11	36	Соотв.	0,051	Соотв.
02/40 М К		2,31	37	Соотв.	0,049	Соотв.
03/40 М К		2,26	37	Соотв.	0,052	Соотв.
04/40 М К		2,27	38	Соотв.	0,052	Соотв.
05/40 М К		2,29	37	Соотв.	0,050	Соотв.
01/20 М К	прозрачная жидкость желтовато-коричневого цвета со специфическим запахом	2,22	18	Соотв.	0,050	Не соотв.
02/20 М К		2,24	18	Соотв.	0,051	Не соотв.
03/20 М К		2,11	17	Соотв.	0,049	Не соотв.
04/20 М К		2,23	17	Соотв.	0,048	Не соотв.
05/20 М К		2,22	17	Соотв.	0,049	Не соотв.
01/65 ДМК**	прозрачная жидкость желтовато-коричневого цвета со специфическим запахом	3,52	65	Соотв.	0,111	Соотв.
02/65 ДМК		3,24	67	Соотв.	0,104	Соотв.
03/65 ДМК		3,32	65	Соотв.	0,109	Соотв.
04/65 ДМК		3,28	65	Соотв.	0,099	Соотв.
05/65 ДМК		3,47	65	Соотв.	0,112	Соотв.
01/35 ДМК	прозрачная жидкость желтовато-коричневого цвета со специфическим запахом	4,48	38	Соотв.	0,093	Соотв.
02/35 ДМК		4,46	36	Соотв.	0,089	Соотв.
03/35 ДМК		4,44	38	Соотв.	0,098	Соотв.
04/35 ДМК		4,41	37	Соотв.	0,097	Соотв.
05/35 ДМК		4,47	36	Соотв.	0,094	Соотв.
01/70 ПК***	прозрачная жидкость желтовато-коричневого цвета со специфическим запахом	2,49	68	Соотв.	0,070	Соотв.
02/70 П К		2,44	67	Соотв.	0,066	Соотв.
03/70 П К		2,45	67	Соотв.	0,071	Соотв.
04/70 П К		2,51	66	Соотв.	0,073	Соотв.
05/70 П К		2,53	67	Соотв.	0,068	Соотв.
01/40 П К	прозрачная жидкость желтовато-коричневого цвета со специфическим запахом	2,41	37	Соотв.	0,067	Соотв.
02/40 П К		2,47	37	Соотв.	0,065	Соотв.
03/40 П К		2,51	38	Соотв.	0,066	Соотв.
04/40 П К		2,55	37	Соотв.	0,063	Соотв.
05/40 П К		2,39	37	Соотв.	0,059	Соотв.
01/20 П К	прозрачная жидкость желтовато-коричневого цвета со специфическим запахом	2,51	18	Соотв.	0,060	Не соотв.
02/20 П К		2,60	18	Соотв.	0,061	Не соотв.
03/20 П К		2,59	17	Соотв.	0,057	Не соотв.
04/20 П К		2,57	18	Соотв.	0,051	Не соотв.
05/20 П К		2,54	18	Соотв.	0,053	Не соотв.

Примечание: *образцы календулы настойки, полученные методом мацерации (МК).

**образцы календулы настойки, полученные методом дробной мацерации (ДМК).

***образцы календулы настойки, полученные методом перколяции (ПК).

Таблица 2.

Показатели качества настоев из цветков ноготков

Растительное сырье	Номер образца	Описание	Сухой остаток, %	Подлинность	Сумма флавоноидов, %
Цветки ноготков	01 К	прозрачная жидкость желтовато-коричневого цвета со специфическим запахом	1,34	Соотв.	0,0017
	02 К		1,30	Соотв.	0,0016
	03 К		1,31	Соотв.	0,0015
	04 К		1,24	Соотв.	0,0014
	05 К		1,36	Соотв.	0,0015
Среднее значение			1,31		0,0015
Значение, приведенное к соотношению 1 массовая часть сырья : 10 объемных частей настойки (1:10)*			2,62		0,003

Примечание: *Так как при получении настоев в соответствии с инструкцией соотношение сырье : полученный настой составляет 1:20, а в настойках используется соотношение 1:10, то полученные количественные значения пересчитаны на соотношение 1:10.

При снижении концентрации экстрагента наблюдается тенденция незначительного увеличения показателя «Сухой остаток» для метода дробной мацерации при переходе от 70% этилового спирта к 20% этиловому спирту, показатель «Сумма флавоноидов» снижается, но остается выше минимального порога.

По результатам проведенных исследований количественных и качественных показателей полученных образцов календулы настойки можно сделать вывод, что снижение концентрации этилового спирта в экстрагенте до 40% не влияет отрицательно на экстракцию целевых веществ. Оптимальным методом получения настойки из цветков ноготков является метод дробной мацерации.

- ОФС 1.4.1.0019.15. Настойки // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 2.
- ОФС 1.2.1.0016.15. Определение этилового спирта в жидких фармацевтических препаратах // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 1.
- ОФС 1.2.1.0010.15. Потеря в массе при высушивании // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 1.
- ОФС 1.2.4.0002.15. Микробиологическая чистота // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 1.

ЛИТЕРАТУРА

- Технология лекарственных форм. Т. 1. / Под ред. Л.А. Кондратьевой. – М. 1991. С. 157–174.
- Правила формирования перечня лекарственных препаратов для медицинского применения, в отношении которых устанавливаются требования к объему тары, упаковке и комплектности, перечня лекарственных препаратов для ветеринарного применения, в отношении которых устанавливаются требования к объему тары и определения таких требований (постановление правительства Российской Федерации от 23 июля 2016 г. № 716).
- ЛП-003154-250815. Ноготков цветки. Инструкция по применению. Государственный реестр лекарственных средств. URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx> (дата обращения 15.10.2017).
- П.В. Афанасьева, А.В. Куркина, В.А. Куркин, А.В. Лямин А.В. Жестков. Определение антимикробной активности извлечений цветков календулы лекарственной // Фармация и фармакология. 2016. Т. 4. № 2(15). С. 60–70.
- PN001887/01-040310, изм. 1-3 «Календулы настойка» // Нормативная документация ЗАО «ЭКОлаб».