

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ ЖИДКОГО ЭКСТРАКТА КОРНЕЙ ШИПОВНИКА ROSACANINA (L.)

Кобыльченко Н.В., Блинова Т. И., Вдовенко-Мартынова Н.Н.

ГОУ ВПО Пятигорская государственная фармацевтическая академия Росздрава, г. Пятигорск, Россия, (357532, г. Пятигорск, пр.Калинина,11), e-mail: chibisovSM@hotmail.com

Целью исследования явилась разработка жидкого экстракта корней шиповника *Rosacanina* (L.) семейства *Rosaceae*. Рассчитаны технологические показатели сырья: коэффициенты поглощения, образования внутреннего сока, увеличения объема при растворении экстрактивных веществ. В качестве экстрагента следует использовать спирт этиловый 40 %, сырьё со степенью измельчения 2 мм, соотношение сырья и экстрагента – 1:2. Определены нормы качества разработанного экстракта. Установлено содержание спирта – 67,83 %, сухого остатка – 6,57 %, дубильных веществ – 4,91±0,02 %.

В результате фитохимического анализа нами установлено присутствие в исследуемом сырье органических кислот, пектиновых веществ, водорастворимых полисахаридов, тритерпеновых сапонинов, дубильных веществ, аминокислот, определен макро- и микроэлементный состав.

Результаты проведенных исследований показывают, что эффективность экстракции фактическая близка к теоретически вычисленной. Экспериментальные данные позволяют обосновать возможность получения жидкого экстракта корней шиповника *Rosacanina* (L.) в промышленном производстве по разработанной технологии.

Предварительными фармакологическими исследованиями установлена его антибактериальное, антиоксидантное действие, и согласно комбинированной табуляции классов токсичности Hodge и Sterner разработанный экстракт жидкий отнесен к группе малотоксичных веществ, что показывает его перспективность в качестве лекарственного средства.

Ключевые слова: корни шиповника, жидкий экстракт, технологические показатели.

LIQUID EXTRACT OF ROSA CANINA (L.) ROOTS INVESTIGATION

Kobylchenko N. V., Blinova T.I., Vdovenko-Martynova N.N.

GOU VPO Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy of Medical University, Pyatigorsk, Russia (357 532, Pyatigorsk, pr.Kalinina, 11), e-mail: chibisovSM@hotmail.com

The aim of the investigation is to develop liquid extract of *Rosa Canina* (L.) of *Rosaceae* Family roots. Some technological figures of raw material were calculated, among them are: absorption indices, internal juice development, and volume extension when extracted substances were dissolved. As an extragent it ought to use ethyl alcohol 40%, raw material with the index of pounding 2 mm, correlation of raw material and extragent is 1:2. We determined some norms of developed extract quality. We found out the alcohol content – 67.83 %, dry residue – 6.57 %, tanning agents – 4.91±0.02 %.

As a result of the phytochemical analysis we establish presence at investigated raw materials of organic acids, pectinaceous substances, water-soluble polisaharide, triterpenovsaponin, tannins, amino acids, of microelement structure is defined.

Results of the spent researches show that efficiency of extraction, the actual is close to theoretically calculated. Experimental data allow to prove possibility of reception of a liquid extract of roots of dogrose *Rosa canina* (L.) in industrial production on the developed technology.

By preliminary pharmacological researches it is established its antibacterial, antioxidant action and according to the combined tabulation of classes of toxicity Hodge and Sterner the developed extract liquid is carried to group less toxic substances that shows its perspectivity as a medical product.

Key words: Rose roots, liquid extract, technological data.

Использование жидких стандартизованных экстрактов повышает качество и намного ускоряет технологию водных извлечений. Целью исследования явилась разработка жидкого экстракта корней шиповника *Rosacanina* (L.). Шиповник *Rosacanina* (L.) семейства *Rosaceae* достаточно распространен на территории Северного Кавказа. Сырьё многие сотни лет

применяется в научной и народной медицине. Плоды шиповника являются фармакопейным сырьём, которое используется в качестве витаминного средства. Перспективным и важным направлением развития фармации является всестороннее изучение и рациональное использование всего растения. Подземная часть (корни) в официальной медицине не используется, хотя содержит ряд ценных биологически активных веществ и широко используется в народной медицине.

Нами были проведены фармакогностические исследования сырья. Корни *Rosacanina* (L.) для исследований заготавливались осенью в пределах естественного ареала. Установлены показатели подлинности, доброкачественности и нормы качества сырья. Для установления показателей подлинности сырья проводился макроскопический и микроскопический анализ по методикам, изложенным в ГФ XI издания [2]. Были определены внешние и установлены микро-диагностические признаки сырья [4]. Для определения товароведческих показателей сырья использовали фармакопейные методики [2]. Наибольшее содержание экстрактивных веществ установлено при экстрагировании 40 % спиртом этиловым. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Товароведческие показатели корней *Rosacanina* L.

Числовые показатели	Содержание, %	Установленная норма, %
Влажность	9,63±0,12	Не более 10 %
Зола общая	2,86±0,019	Не более 3 %
Зола, нерастворимая в 10% растворе HCL	0,95 ± 0,82	Не более 1 %
Примеси органические	Не более 1 %	Не более 1 %
Примеси минеральные	Не более 1 %	Не более 1 %
Экстрактивные вещества (экстрагент – 40 % спирт этиловый)	25,62±1,435	Не менее 25 %

В результате фитохимического анализа нами установлено присутствие в исследуемом сырье органических кислот, пектиновых веществ, водорастворимых полисахаридов, тритерпеновых сапонинов, дубильных веществ, аминокислот, определен макро- и микроэлементный состав.

Для получения качественного препарата из лекарственного растительного сырья и прогнозирования эффективности равновесных способов экстрагирования необходимо располагать сведениями о товароведческих и технологических показателях данного растительного сырья, о характере экстрагента и об условиях экстрагирования. Технологические показатели сырья включают информацию о коэффициентах поглощения (K_n) и образования внутреннего сока (K), о коэффициенте увеличения объема при растворении экстрактивных веществ (Z) и содержании экстрактивных веществ (X). Для

определения K_n , K и Z использовали методику, разработанную Пшуковым Ю. Г. [1]. За окончательный результат показателя принимали среднее арифметическое трех параллельных определений.

Результаты оценки качества сырья по товароведческим и технологическим показателям были определены следующие: G – масса сырья – 49,98 г; B – влажность сырья – 9,63 %; X – содержание экстрактивных веществ в сырье – 25,97 %; f – масса экстрагента, взятого для экстракции – 158,0 г; V – объем экстрагента, взятого для экстракции – 173 см³; p – плотность экстрагента – 0,9736 г/см³; p_p – плотность растворителя – 0,948 г/см³; p_n – плотность извлечения – 0,9585 г/см³; p_1 – концентрация спирта в экстрагенте – 20,0 % по объему; p – концентрация спирта в экстрагенте – 33,33 % по массе; P_p – концентрация спирта в растворителе – 32,37 % по массе; a – объем слитого извлечения – 53,21 см³; d – масса слитого извлечения – 51,0 г; c – масса извлечения, взятого на анализ – 16,5145 г; V_1 – объем извлечения, взятого на анализ – 17,23 см³; b – привес бюкса – 1,1435 г; K_n – коэффициент поглощения сырья, – 2,39 см³/г; K – коэффициент образования внутреннего сока – 2,69 см³/г; Z – коэффициент увеличения объема – 0,89 см³/г.

Рассчитанные технологические показатели сырья: коэффициенты поглощения, образования внутреннего сока, увеличения объема при растворении экстрактивных веществ являются основой для теоретических расчетов эффективности экстракции и нормирования качества экстракта жидкого корней *Rosacania* (L.).

С целью определения оптимальных размеров частиц сырья корней шиповника был проведён фракционный состав, с дальнейшим исследованием в каждой из фракций содержания дубильных веществ фармакопейной перманганатометрической методикой [2]. С целью извлечения суммы основных биологически активных соединений были использованы экстрагенты, обладающие различной растворяющей способностью, что обеспечило получение комплексов с различным содержанием дубильных веществ. Установлено, что для получения экстракта жидкого корней *Rosacania* (L.) следует использовать в качестве экстрагента спирт этиловый 40 % , сырьё со степенью измельчения 2 мм, соотношение сырья и экстрагента – 1:2. Для получения экстракта жидкого использовали способ реперколяции с завершённым циклом в модификации по Н.А. Чулкову, где число ступеней соответствует числу диффузоров в батарее. Нами рассчитаны условия, обеспечивающие высокую эффективность экстракции. Расчёт фактической эффективности экстракции проводили по формуле:

$$S_{\phi} = \frac{100 \cdot \varepsilon \cdot c}{Q \cdot x} = \frac{80 \cdot 156 \cdot 4,93}{100 \cdot 10,77} = 89,13\%$$

, где

Q – масса сырья, введенного в производство (г);

x – содержание дубильных веществ в сырье – корнях шиповника собачьего (%);

ε – общий объем извлечения (см^3);

c – содержание дубильных веществ в жидком экстракте из корней шиповника (%).

Количественно оценивали фактическую эффективность экстрагирования (S_{ϕ}), сравнивая ее с теоретической (S) относительно эффективности экстрагирования « S_0 ». Условия экстрагирования, при которых $S_0 \geq 0,9$ могут считаться оправданными, а при более низких значениях « S_0 » нуждаются в улучшении.

$$S_0 = \frac{S_{\phi}}{S} = \frac{89,13}{93,82} = 0,95$$

Результаты проведенных исследований показывают, что эффективность экстракции фактическая близка к теоретически вычисленной. Экспериментальные данные позволяют обосновать возможность получения жидкого экстракта корней шиповника *Rosacantha* (L.) в промышленном производстве по разработанной технологии.

Нами определены нормы качества полученного экстракта. Экстракт представляет собой жидкость темного цвета, своеобразного запаха и терпкого вкуса. Жидкие экстракты согласно нормативной документации оценивают по содержанию действующих веществ, тяжёлых металлов, сухого остатка, спирта или плотности [2]. В соответствии с этим полученный экстракт жидкий был подвергнут всем перечисленным испытаниям. Установлено содержание спирта – 67,83 %, сухого остатка – 6,57 %. Используя химические и физико-химические методы (БХ, ТСХ, ВЭЖХ) разработаны способы качественного и количественного определения биологически активных веществ, содержащихся в фитопрепарате. Для установления подлинности полученного экстракта использован ряд цветных реакций на основные биологически активные вещества, наличие которых определили в сырье. Так как в доминирующем количестве содержатся: дубильные вещества, органические кислоты и тритерпеновые сапонины, провели испытания на указанные биологически активные вещества. Готовили водный раствор экстракта (1:10). Присутствие дубильных веществ доказывали по реакциям с железоммонийными квасцами (черно-синее окрашивание), раствором ацетата свинца 10 %, с желатином и бромной водой; сапонины – по реакции пенообразования в щелочной и кислой среде, реакции Сальковского, Лафона, спиртовым раствором холестерина 1 %. Для подтверждения наличия органических кислот проводили хроматографический анализ на бумаге восходящим методом в системе н – бутанол – кислота муравьиная – вода (250:25:297). В качестве свидетелей использовали 1 спиртовые растворы щавелевой, янтарной, винной, лимонной, яблочной кислот. Проявляли хроматограммы 0,1 % раствором бромфенолового синего в 96 % спирте этиловом (рН 6,7). При проявлении органические кислоты окрашиваются в ярко-желтый цвет на голубовато-синем фоне. Идентификацию органических кислот проводили по величинам R_f , сопоставляя с R_f аутентичными образцами.

Количественное определение дубильных веществ проводили фармакопейным перманганатометрическим методом [2], содержание в экстракте жидком корней шиповника собачьего *Rosacandina* L. составляет $4,91 \pm 0,02$ %. Относительная ошибка при доверительной вероятности не превышает $\pm 0,47$ %. В связи с тем, что перманганатометрический метод по ГФ XI позволяет определить не только содержание дубильных веществ, а сумму всех легко окисляемых соединений, переходящих в водное извлечение, нами для стандартизации жидкого экстракта из корней шиповника собачьего был использован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии как более точный и информативный метод качественного и количественного анализа. Для определения танина в экстракте использовали микроколоночный жидкостный хроматограф «Милихром А-02», снабжённый колонкой из нержавеющей стали размером 2x75 мм, заполненный адсорбентом Prontosil 120-5CAQ. Анализ проводили методом изократического элюирования при комнатной температуре. В качестве подвижной фазы использовали систему растворителей кислота муравьиная 2 % – ацетонитрил (60:40). При хроматографировании в предложенных условиях раствора РСО танина 0,1 % фиксировались два симметричных пика со временем удерживания 1,85 и 2,45 мин, коэффициент разделения пиков составил 2,1.

Метрологические характеристики количественного определения танина методом ВЭЖХ в исследуемом экстракте были следующие: $N=5$; $f=4$; $\bar{X}=0,744\%$; $S=0,0096$; $S_{\bar{x}}=0,0043$; $\Delta X=0,009558$; $\varepsilon=\pm 1,28$ %. На основе полученных данных были предложены условия хроматографического анализа и проверена пригодность разработанной методики по параметрам: точность, воспроизводимость, линейность. В результате исследований, в исследуемом экстракте содержание танина составило 0,744 %.

Предварительными фармакологическими исследованиями установлена его антибактериальное, антиоксидантное действие, и согласно комбинированной таблицы классов токсичности Hodge и Sterner разработанный экстракт жидкий отнесен к группе малотоксичных веществ, что показывает его перспективность в качестве лекарственного средства [3].

Список литературы

1. Государственная фармакопея СССР: Общие методы анализа. Лекарственное раст. сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1990. – 400 с.
2. Государственный реестр лекарственных средств, разрешенных к медицинскому применению. – М., 2008. – 1005 с.
3. *Вдовенко-Мартынова Н. Н.* Морфолого-анатомическое изучение корневищ с корнями *Rosacandina* L. / С. Н. Пушкарский, Н. Н. Вдовенко-Мартынова, В. Н. Кисилёва//

Университетская наука: теория, практика, инновации: сб. тр.73-й науч. конф. КГМУ и сессии Центрально-Черноземного научного центра РАМН. – Курск: ГОУ ВПО КГМУ Росздрава, 2008. – С 48-50.

4. Донцов, А. А. Шиповники Среднего и Южного Урала: монография / А. А. Донцов, А. В. Хлебников, Г. И. Олешко. – Пермь, 2010. – 92 с.; ил.
5. Инновации в лекарственном ресурсоведении / Турышев А. Ю., Яковлев А. Б., Олешко Г. И., Согрина А. Н. // Вестник РУДН. Секция медицина. – Москва, 2010 – № 4. – С. 475-478.
6. *Кобыльченко Н. ., Вдовенко-Мартынова Н. Н., Губанова Л. Б. и др.* Разработка норм качества экстракта жидкого из корней шиповника собачьего *Rosacandina*L. // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2010. – Вып. 65. – С. 328-329.
7. Овеснов С. А. Конспект флоры Пермской области / С. А. Овеснов. – Пермь: Изд-во Перм. ун-та, 1997. – 252 с.
8. *Пушков Ю. Г.* Инженерные методы расчета промышленных способов экстрагирования. Пятигорск, 1996. – 30 с.

Рецензенты:

Ившина И. Б., д.б.н., зав. кафедрой алканотрофных микроорганизмов ИЭГМ УрО РАН, профессор кафедры микробиологии и иммунологии ПГНИУ, г. Пермь.

Солонина А. В., д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой управления и экономики фармации факультета дополнительного профессионального образования ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия», г. Пермь.