

ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ТРАВЫ БУДРЫ ПЛЮЩЕВИДНОЙ И РАЗРАБОТКА НА ЕЁ ОСНОВЕ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ

Писарев Д.И., Новиков О.О., Шабельникова А.С., Автина Н.В.

ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, Россия (308015, г. Белгород, ул. Победы, 85), <http://www.bsu.edu.ru>

В статье изложены данные о химическом изучении травы будры плющевидной представителя семейства губоцветных как перспективного источника флавоноидов. При химическом изучении 70%-ного спиртового извлечения из травы будры плющевидной методами масс-спектрометрии и УФ-спектрофотометрии обнаружены лютеолин-7-глюкозид, апигенин, апигенин-7-глюкозид, кофейная кислота. Методом УФ-спектрофотометрии проведена стандартизация травы будры плющевидной по содержанию флавоноидов. Результаты обработаны статистически, процентное содержание флавоноидов, в пересчёте на лютеолин-7-глюкозид составило $1,83 \pm 0,05\%$. Ошибка единичного определения при доверительном интервале $P, 95\%$, составила $2,86\%$, что укладывается в норму, регламентируемую ГФ. Далее из травы будры плющевидной изготовлен экстракт густой в качестве полупродукта. Проведена его стандартизация. По данным, полученным в ходе опыта, было установлено, что процентное количество флавоноидов в пересчёте на лютеолин-7-глюкозид составляет $1,445 \pm 0,059\%$. Результаты обработаны статистически, ошибка единичного определения при доверительном интервале $P, 95\%$ составляет $4,08\%$, что укладывается в норму, регламентируемую ГФ. На основе экстракта густого травы будры плющевидной разработана лекарственная форма в виде гранул.

Ключевые слова: трава будры плющевидной, флавоноиды, экстракт густой травы будры плющевидной, гранулы.

STUDY OF CHEMICAL COMPOSITION HERBS GLECHOMA HEDERACEA ENABLE A FORMS

Pisarev, D.I., Novikov O.O., Shabelnikova A.S., Avtina N.V.

FGAOU VPO Belgorod State national research University, Belgorod, Russia (308015, Belgorod, street of Pobedy, 85) <http://www.bsu.edu.ru>

The article presents data on the chemical study of herbs Boudreau hederacea representative of the family Labiatae, as a promising source of flavonoids. The chemical study of 70% alcoholic extract of the herb Boudreau hederacea by mass spectrometry and UV spectrophotometry were found luteolin-7-glucoside, apigenin, apigenin-7-glycoside, coffee-ACETIC ACID. By UV spectrophotometry conducted standardized grass Boudreau hederacea on the content of flavonoids. The results are processed statistically, the percentage of flavonoids, in terms of luteolin-7-glucoside was $1,83 \pm 0,05\%$. Error of a single definition of confidence interval $P, 95\%$, up 2.86% , which fits into the regulated rate of GF. Next, from the grass Boudreau made hederacea extract thick as a semi. Pro-vedena its standardization. According to data obtained in the course of the experiment it was found that the percentage of flavonoids in terms of luteolin-7-glucoside was $1,445 \pm 0,059\%$. The results are processed statistically, the error of a single definition of confidence interval, $P, 95\%$ is 4.08% , which fits into the regulated rate of GF. On the basis of an extract of thick grass Boudreau hederacea developed dosage form in the form of granules.

Keywords: grass Glechoma hederacea, flavonoids, extract the thick grass Glechoma hederacea, the granules.

Введение. Природные флавоноидные соединения являются одними из наиболее доступных источников лечебных средств, поскольку они широко распространены среди цветковых растений и достаточно хорошо изучены в химическом и фармакологическом отношении. Проблема рационального поиска новых растительных источников этой группы биологически активных веществ (БАВ) приобретает особую актуальность [5]. В этой связи определённый интерес представляет будра плющевидная. В химическом отношении данное растение изучено недостаточно. Однако богатая сырьевая масса, разнообразие биологически активных

веществ и удачный опыт использования в народной медицине создали предпосылки для более глубокого и всестороннего её исследования.

Будра плющевидная – представитель семейства губоцветных, это многолетнее травянистое растение высотой до 60 см. Распространена по всей европейской части России (кроме Севера), на Кавказе, в Сибири (южная часть). Неприхотливое растение, обитает на влажных лугах, лесных опушках, полянах, по берегам рек и ручьёв в лесной и лесостепной зонах.

В народной медицине будра плющевидная используется в качестве отхаркивающего, мочегонного, желчегонного, противовоспалительного и болеутоляющего средства [2–4].

Целью настоящего исследования явилось обоснование возможности использования будры плющевидной в качестве перспективного источника флавоноидов и разработка на её основе лекарственной формы.

Для реализации поставленной цели в задачи настоящего исследования входило химическое изучение флавоноидов и получение лекарственной формы в виде гранул из суммарного полифенольного комплекса будры плющевидной.

Для установления химического состава сырья – траву будры плющевидной экстрагировали пятикратно спиртом этиловым 70%-ным. Полученное извлечение фильтровали и сгущали на испарителе ротационном ИР-1МЗ до густой консистенции. Сгущенную сумму разбавляли 4-кратным объёмом воды и оставляли на сутки в холодильнике. Выпавший после охлаждения смолистый осадок отфильтровывали. Фильтрат обрабатывали последовательно хлороформом и этилацетатом. Этилацетатное извлечение сушили натрием сульфатом безводным, сгущали на ротационном испарителе и подвергали фракционированию на колонке с полиамидным сорбентом. Фракцию предварительно смешивали с небольшим количеством сорбента, загружали в колонку и элюировали водными спиртами в соотношениях 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1 и чистым спиртом этиловым. Фракции собирали по 10–15 мл. Состав элюата контролировали с помощью тонкослойной хроматографии. Фракции, содержащие одинаковые компоненты, объединяли и сгущали под вакуумом на водяной бане. После объединения были выделены вещества X_{1-4} , которые на основании качественных реакций и изучения хроматограмм отнесены к флавоноидам и оксикоричным кислотам.

Установление строения выделенных веществ проводили на основании анализа УФ- и масс-спектров. УФ-спектры регистрировали на приборе СФ-56, фотометрировали как чистые компоненты, так и с добавлением шифт-реактивов, позволяющих выявить расположение гидроксильных групп и место гликозидирования. Детекцию масс-спектров проводили на приборе масс-спектрометр «Autoflex II» «MALDI TOF/TOF» фирмы Bruker Daltonics.

Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Данные УФ- и масс-спектров выделенных компонентов

Вещество	C ₂ H ₅ OH	CH ₃ COONa	CH ₃ COONa+ H ₃ BO ₃	C ₂ H ₅ ONa	AlCl ₃	AlCl ₃ +HCl	m/z	Идентифицировано
X _I	337, 268, 268 пл.	376, 274, 301	338, 268, 302 пл.	392, 275, 324	384, 348, 276, 301	381, 340, 299, 276	271	Апигенин
X _{II}	336, 268	-	338, 268	392, 275	384, 276	381, 276	271, 453	Апигенин- 7-гликозид
X _{III}	343, 257, 268 пл.	401, 394, 329, 300, 268	372, 259	401, 394, 329, 300, 268	390, 355, 294, 275	343, 294, 273	287, 449	Лютеолин- 7-гликозид
X _{IV}	325, 305, 235	310, 280	320, 235	360, 310, 240	360, 290	325, 235	219 (180+ 39)	Кислота кофейная

Таким образом, на данном этапе исследований химического состава будры плющевидной удалось выделить и идентифицировать флавоноиды апигенин, апигенин-7-гликозид, лютеолин-7-гликозид, кофейную кислоту.

Поскольку основным компонентом полифенольного комплекса травы будры плющевидной является лютеолин-7-гликозид, то стандартизацию сырья проводили в пересчёте на данный компонент.

Для этого навеску воздушно-сухого сырья массой 1,0 г помещали в колбу со шлифом вместимостью 150 мл, заливали 20 мл спирта этилового 70%-ного, присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 минут. После охлаждения фильтровали в мерную колбу объёмом 100 мл. Экстракцию вышеуказанным способом повторяли ещё 4 раза, собирая фильтрат в ту же мерную колбу. 5 мл полученного извлечения помещали в мерную колбу ёмкостью 25 мл, прибавляли 5 мл 10%-ного спиртового раствора алюминия хлорида и доводили спиром этиловым 96%-ным до метки. Спустя 40 минут измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре СФ-56 при длине волны 400 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 5 мл извлечения, 4-х капель кислоты

хлористоводородной 0,1 н и доведённый спиртом этиловым 96%-ным до метки в колбе вместимостью 25 мл. Опыт повторяли семикратно, полученные результаты обрабатывали статистически.

Расчет количественного содержания проводили по формуле 1:

$$X = \frac{A_x \times W \times W_2}{E_{\%}^{1cm} \times m \times V_a} \quad (1)$$

где: X – содержание флавоноидов, в пересчёте на лютеолин;

A – оптическая плотность исследуемого раствора;

m – масса навески сырья, г;

W – общий объем извлечения;

W₁ – общий объём после разведения;

V_a – объём аликвоты;

$E_{1cm}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения, лютеолина-7-глюкозида, равный 145,0±2,3.

Результаты количественного определения флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид в траве будры плющевидной представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты количественного определения флавоноидов в траве будры плющевидной

X (%)	$\bar{X} - X_i$	$(\bar{X} - X_i)^2$	Метрологические характеристики
1,89	-0,06	0,0036	$\bar{X} = 1,83\%$ $\sum (\bar{X} - X)^2 = 0,0191$ $S_x = \sqrt{\frac{\sum (\bar{X} - X_i)^2}{n(n-1)}} = 0,021325$ $\Delta X = S_x \cdot t_x = 0,05225$ $\epsilon = 2,86\%$
1,78	0,05	0,0025	
1,75	0,08	0,0064	
1,88	-0,05	0,0025	
1,86	-0,03	0,0009	
1,79	0,04	0,0016	
1,87	-0,04	0,0016	
$\bar{X} = 1,83$		$\sum (\bar{X} - X)^2 = 0,019$	

По данным, полученным в ходе опыта, процентное содержание флавоноидов, в пересчёте на лютеолин-7-глюкозид, составило 1,83±0,05%. Ошибка единичного определения при доверительном интервале P, 95%, составила 2,86%, что укладывается в норму, регламентируемую ГФ.

Далее нами разработана лекарственная форма – гранулы на основе полифенольного комплекса будры плющевидной.

На первом этапе исследований был получен полупродукт – экстракт густой из травы будры плющевидной.

Густой экстракт получали методом циркуляционной экстракции.

Для получения густого экстракта воздушно-сухое сырьё травы будры плющевидной загружали в экстрактор, соединяли с колбой – испарителем – сборником и холодильником, заливали спиртом этиловым 70%-ным и экстрагировали до истощения растительного материала.

Далее из полученной вытяжки отгоняли растворитель под вакуумом с помощью ротационного испарителя ИР-1 до получения густого экстракта.

Полученный продукт представлял собой коричневую массу со слабым специфическим ароматным запахом. Растворим в воде, медленно в спирте этиловом, нерастворим в эфире, хлороформе.

Технологическая схема производства экстракта густого будры плющевидной представлена на рисунке 1.



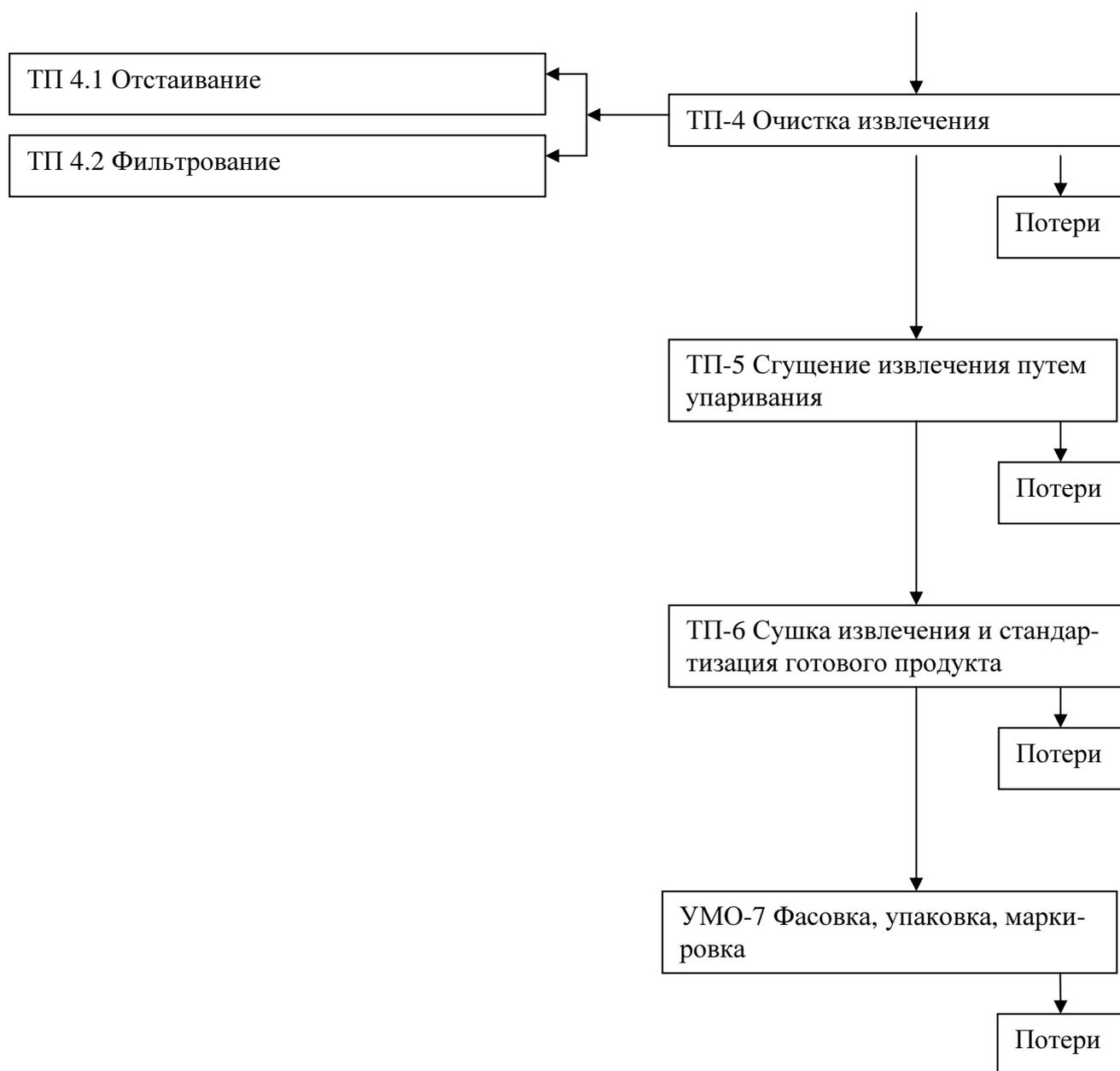


Рис. 1. Технологическая схема производства экстракта густого травы будры плющевидной.

Потерю в массе при высушивании полученного экстракта определяли методом высушивания по методике ГФ XI [1], которая составила 19,56%.

Поскольку основным компонентом в траве будры плющевидной является лютеолин-7-глюкозид, поэтому стандартизацию густого экстракта проводили в пересчёте на данный компонент.

Для этого точную навеску экстракта в количестве 0,1 г растворяли в спирте этиловом 96%-ном в мерной колбе вместимостью 100 мл. 5 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 5 мл спиртового 10%-ного раствора алюминия хлорида и несколько капель соляной кислоты 0,1 М. Через 40 минут измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре СФ-56 при длине волны 400 нм в кювете с

толщиной слоя 10 мм (рис. 2). В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 5 мл извлечения, 4-х капель кислоты хлористоводородной 0,1 н и доведённый спиртом этиловым 96%-ным до метки в колбе вместимостью 25 мл. Опыт повторяли семикратно, полученные результаты обрабатывали статистически.

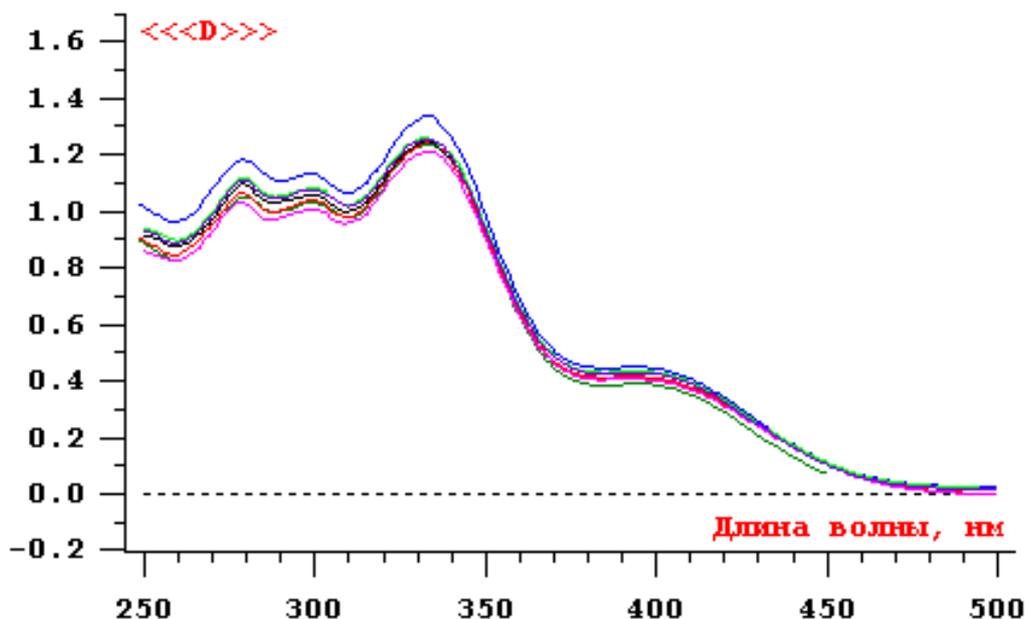


Рисунок 2. УФ-спектр количественного определения флавоноидов в траве будры плющевидной.

Расчет количественного определения проводили по формуле 1.

По данным, полученным в ходе опыта, было установлено, что процентное количество флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид составляет $1,445 \pm 0,059\%$.

Результаты статистической обработки представлены в таблице 3.

Ошибка единичного определения при доверительном интервале P, 95% составляет 4,08%, что укладывается в норму, регламентируемую ГФ.

Таблица 3 – Результаты количественного определения флавоноидов в экстракте густом травы будры плющевидной

$X(\%)$	$\bar{X} - X_i$	$(\bar{X} - X_i)^2$	Метрологические характеристики
1,341	0,104	0,0108	$\bar{X} = 1,445$ $\sum (\bar{X} - X)^2 = 0,024$ $S_x = \sqrt{\frac{\sum (\bar{X} - X_i)^2}{n(n-1)}} = 0,02408$ $\Delta X = S_x \cdot t_x = 0,059$ $\varepsilon = 4,08\%$
1,534	-0,089	0,0079	
1,424	0,021	0,00044	
1,401	0,044	0,0019	
1,478	-0,033	0,00108	
1,492	-0,047	0,0022	
1,451	0,006	0,000036	

$\bar{X} = 1,44$ 5		$\sum (\bar{X} - X)^2 = 0,024$	
-----------------------	--	--------------------------------	--

Для получения гранул нами использован метод влажного гранулирования с помощью сита с размером ячейки 1,0 мм.

Для получения данной лекарственной формы использовали наполнители и связывающие вещества.

В ходе эксперимента нами была разработана модельная смесь следующего состава, которая не включала в себя густой экстракт:

лактоза – 10,0 – использовалась нами в качестве наполнителя;

Na-КМЦ 3% массой 3,21 – в качестве связывающего вещества.

Лактозу необходимой массы измельчали в ступке и добавляли раствор полимера, смешивали до получения однородной пластичной массы, после чего полученную массу протирали через сито и полученный гранулят подсушивали при комнатной температуре. Высушенный гранулят повторно протирали через сито с размером ячейки 1,0 мм. Полученные гранулы просеивали через сито с размером ячейки 0,315 мм для отделения пыли.

При использовании данного состава выход гранул составляет 73,72%.

Вторая модельная смесь включала в себя густой экстракт и состояла из:

лактозы – 10,0;

Na-КМЦ 3% – 1,38;

экстракта густого будры плющевидной – 0,2;

спирта этилового 70% – 0,28.

В ступку помещали 0,2 густого экстракта и растворяли в спирте этиловом 70%-ном до образования густой пастообразной консистенции. После чего небольшими частями вводили измельченную лактозу и перемешивали пестиком до однородной массы, затем добавляли необходимое количество раствора Na-КМЦ 3%-ного и перемешивали до образования однородной пластичной массы, которую переносили на сито с размером ячеек 1,0 мм и протирали. Полученный гранулят оставляли при комнатной температуре до высыхания и повторно протирали через то же сито. После чего просеивали полученные гранулы через сито с размером ячеек 0,315 для отделения пыли.

В данном случае выход гранул составил 86,23%.

Таким образом, в ходе исследования установлен химический состав травы будры плющевидной, проведена её стандартизация по содержанию флавоноидов, а также разработана лекарственная форма на основе экстракта густого в виде гранул. Полученные

данные могут использоваться для дальнейших фармакологических испытаний и разработки нормативной документации на исследованный вид сырья.

Список литературы

1. Государственная фармакопея Союза Советских Социалистических Республик / редкол.: Ю.Г. Бобков и др. – XI изд. – М. : Медицина, 1987. – Вып. I: Общие методы анализа. – 334 с.
2. Дикорастущие полезные растения России: [справ.] / Ботан. ин-т им. В.Л. Комарова, РАН, С.-Петербург. гос. хим.-фармац. акад.; отв. ред.: А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. – СПб. : Изд-во СПХФА, 2001. – 662 с.
3. Растительные лекарственные средства / под ред. Н.П. Максютинной. – Киев : Здоров'я, 1985. – 278 с.
4. Энциклопедический словарь лекарственных растений и продуктов животного происхождения : учеб. пособие / под ред. Г.П. Яковлева, К.Ф. Блиновой. – СПб. : СпецЛит: Изд-во СПХФА, 2002. – 405 с.
5. Органическая химия : учебник для студентов высш. учеб. заведений по спец. «Фармация» : в 2 кн. / под ред. Н.А. Тюкавкиной. – М. : Дрофа, 2008. – Кн. 2: Спец. курс. – 591 с. (Высш. образование: соврем. учебник).

Рецензенты

Шормаков В.К., д.ф.н., профессор кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии Курского государственного медицинского университета, г. Курск.

Сипливая Л.Е., д.б.н., профессор, заведующая кафедрой фармацевтической, токсикологической и аналитической химии Курского государственного медицинского университета, г. Курск.