

УДК 615.32: 547.9+543.544

КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА «СОЛОДКИ СИРОП»

Егоров М.В., Куркин В.А.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия (443099, Самара, ул. Чапаевская, 89), e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

В настоящей работе обсуждаются актуальные аспекты химической стандартизации лекарственного препарата «Солодки сироп» на основе корней солодки голой (*Glycyrrhiza glabra* L.) и солодки уральской (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.). Предложены новые подходы к химической стандартизации лекарственного препарата «Солодки сироп», заключающиеся в определении методом спектрофотометрии и тонкослойной хроматографии (ТСХ) содержания сапонинов (глицирризиновая кислота) и флавоноидов (ликуразид). Разработаны методики качественного и количественного анализа лекарственного препарата «Солодки сироп» с использованием стандартных образцов глицирама (моноаммониевая соль глицирризиновой кислоты) и ликуразида (основной флавоноид данного растения). Определено, что содержание глицирризиновой кислоты и суммы флавоноидов в образцах лекарственного препарата «Солодки сироп» варьирует от 0,71 % до 1,33 % и от 0,18 % до 1,21 % соответственно. На основе результатов физико-химических и спектральных исследований сапонинов и флавоноидов, содержащихся в корнях солодки голой и солодки уральской, обоснована целесообразность создания импортозамещающих растительных препаратов на основе корней солодки.

Ключевые слова: лекарственные растения, сырье, солодка голая, *Glycyrrhiza glabra* L., корни, препараты, сироп, сапонины, глицирризиновая кислота, глицирам, флавоноиды, ликуразид, стандартизация, тонкослойная хроматография, спектрофотометрия.

QUALITATIVE AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF PHARMACEUTICAL «GLYCYRRHIZAE SYRUP»

Kurkin V.A., Egorov M.V.

Samara State Medical University, Samara, e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

The actual aspects of the chemical standardization of the phytopharmaceutical «Glycyrrhizae syrup» on the basis of the roots of *Glycyrrhiza glabra* L. and *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. were discussed in this paper. New approaches for the chemical standardization of the phytopharmaceutical «Glycyrrhizae syrup» were elaborated. It means the determination of saponins (glycyrrhizinic acid) and flavonoids (licuraside) by the using such methods as thin layer chromatography (TLC) and spectrophotometry. The methods of the qualitative and quantitative analysis of the phytopharmaceutical «Glycyrrhizae syrup» by using such phytochemicals as glycyram (monoammonium salt of glycyrrhizinic acid) and licuraside (predominant flavonoid of this plant) were proposed. It was determined that the contents of glycyrrhizic acid and the total flavonoids in the samples of the phytopharmaceutical «Glycyrrhizae syrup» are varied from 0.71 % to 1.33 % and from 0.18 % and 0.21 % respectively. Its important that on base of physical-chemical and spectral investigations of saponins and flavonoids, which contained the roots of *Glycyrrhiza glabra* L. and *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., the reasonability of the creation of the domestic phytopharmaceuticals was proved.

Keywords: medicinal plants, herbal materials, *Glycyrrhiza glabra* L., radices, phytopharmaceuticals, syrup, saponins, glycyrrhizinic acid, glycyram, flavonoids, licuraside, standardization, thin layer chromatography, spectrophotometry.

В настоящее время особую актуальность приобретают исследования в плане совершенствования методов стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС) и фитопрепаратов [6, 9]. В этом отношении особый интерес представляют солодка голая (*Glycyrrhiza glabra* L.) и солодка уральская (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.), на основе корней которых выпускается целый ряд препаратов (экстракты густой и сухой, солодки сироп, элекасол, глицирам, ликвиритон и др.), применяемых в качестве противовоспалительных,

антигистаминных, иммуномодулирующих, отхаркивающих, желчегонных, противоязвенных средств [1, 6-8, 10, 11]. На фоне широкого применения вышеперечисленных лекарственных препаратов по-прежнему не решены в полной мере проблемы их стандартизации. В настоящее время стандартизация корней солодки и препаратов на основе данного сырья осуществляется по содержанию глицирризиновой кислоты [2, 3], однако используемые методы не лишены ряда недостатков. Внедрение тонкослойной хроматографии (ТСХ), высокоэффективной жидкостной хроматографии, ЯМР-спектроскопии и других методов в область фармации открыло новые возможности для совершенствования стандартизации ЛРС и фитопрепаратов, а также обоснования ресурсосберегающих технологий получения лекарственных средств корней солодки, в том числе на основе сапонинов и флавоноидов [6, 8, 9].

Цель данной работы – исследование по разработке методик качественного и количественного анализа лекарственного препарата «Солодки сироп».

Материал и методы исследования

В качестве объектов исследования служили промышленные образцы лекарственного препарата «Солодки сироп» (ОАО «Татхимфармпрепараты»), а также образцы данного препарата, полученные в лабораторных условиях из корней солодки голой (*Glycyrrhiza glabra* L.) и солодки уральской (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.). В качестве стандартных образцов использованы глицирризиновая кислота, глицирам и ликуразид.

В работе использованы тонкослойная хроматография (пластинки «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ») в системе растворителей хлороформ – этиловый спирт – вода (26:16:3). Детекцию веществ на хроматограммах осуществляли просмотром пластинок в видимом и ультрафиолетовом свете (длина волны 254 нм и 366 нм). Регистрацию УФ-спектров исследуемых растворов проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena).

Результаты исследования и их обсуждение

Для достижения поставленной цели нами были изучены условия хроматографического разделения сапонинов и флавоноидов лекарственного препарата «Солодки сироп», позволяющие обнаруживать доминирующие биологически активные соединения (БАС) – глицирризиновую кислоту и ликуразид. Для достоверного определения веществ нами предложено использовать государственные стандартные образцы – глицирам (моноаммониевая соль глицирризиновой кислоты) (сапонин) и ликуразид (флавоноид). Использование данных стандартов позволяет исключить ошибки при идентификации диагностических веществ и, следовательно, обеспечивать валидацию методик качественного анализа сырья и препаратов солодки. Использование в качестве ГСО глицирама объясняется

тем, что глицирризиновая кислота – вещество нестабильное [5], что препятствует использованию данного соединения в качестве государственного стандартного образца.

Установлено, что на хроматограмме сиропа солодки (рис. 1) ликуразид обнаруживается в виде доминирующего желтого или желтовато-оранжевого пятна с величиной R_f около 0,5, а глицирризиновая кислота – в виде фиолетового флуоресцирующего пятна (254 нм) с величиной R_f около 0,3 (на уровне ГСО глицирама). При этом обнаруживаются также пятна других БАС (рис. 1).

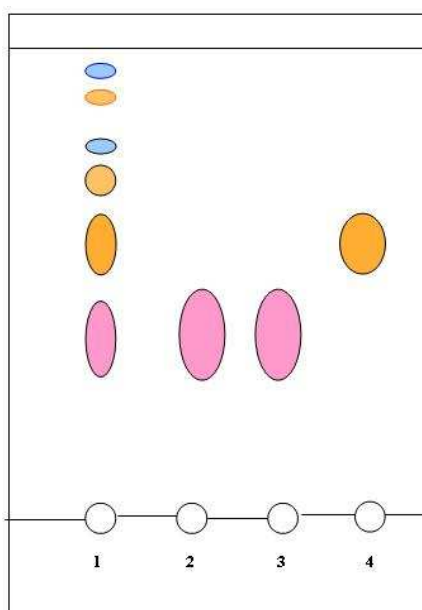


Рис. 1. Хроматографический профиль веществ препарата «Солодки сироп».
Обозначения: 1.Лекарственный препарат «Солодки сироп», 2.Глицирам, 3.Глицирризиновая кислота, 4.Ликурозид

Для целей количественного анализа предложено, как и в случае корней и экстракта солодки [3, 4, 8], использование двух показателей – содержания глицирризиновой кислоты (в пересчете на глицирам) и содержания суммы флавоноидов (в пересчете на ликуразид). При количественном определении содержания глицирризиновой кислоты в электронном спектре испытуемого раствора содержится один интенсивный максимум поглощения при длине волны 258 ± 2 нм (рис. 2), коррелирующий с таковым глицирризиновой кислоты и глицирама [4, 5]. Для определения суммы флавоноидов, как и в случае корней и экстракта солодки, предложены подходы к стандартизации, заключающиеся в использовании дифференциальной спектрофотометрии при аналитической длине волны 420 нм [8]. При этом в УФ-спектре раствора сиропа солодки в присутствии $AlCl_3$ в условиях дифференциальной спектрофотометрии (рис. 3), как и в случае ГСО ликуразида, наблюдается интенсивный максимум поглощения при длине волны 420 нм (рис. 4).

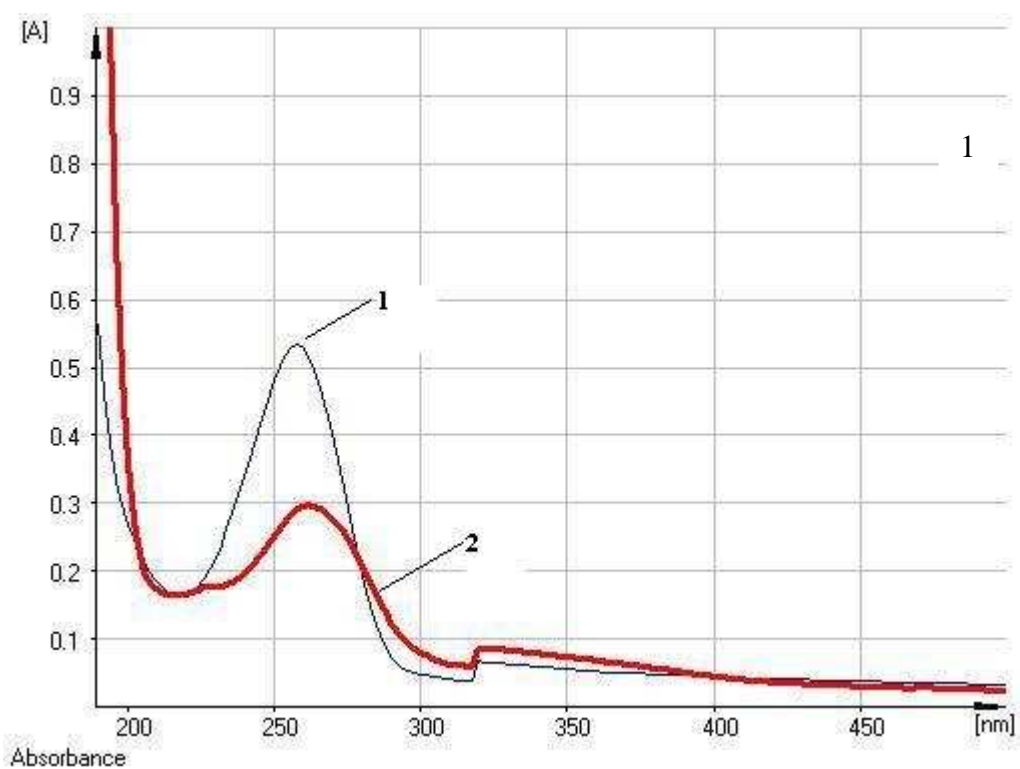


Рис. 2. УФ-спектры раствора ГСО глицирама (1) и испытуемого раствора лекарственного препарата «Солодки сироп» (2)

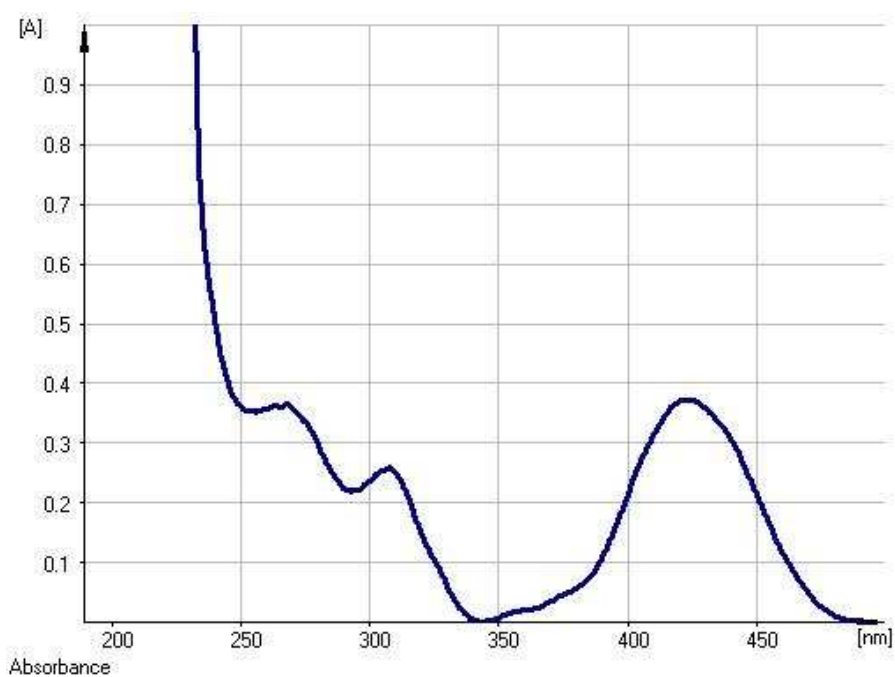


Рис. 3. УФ-спектр испытуемого раствора лекарственного препарата «Солодки сироп» (дифференциальный вариант)

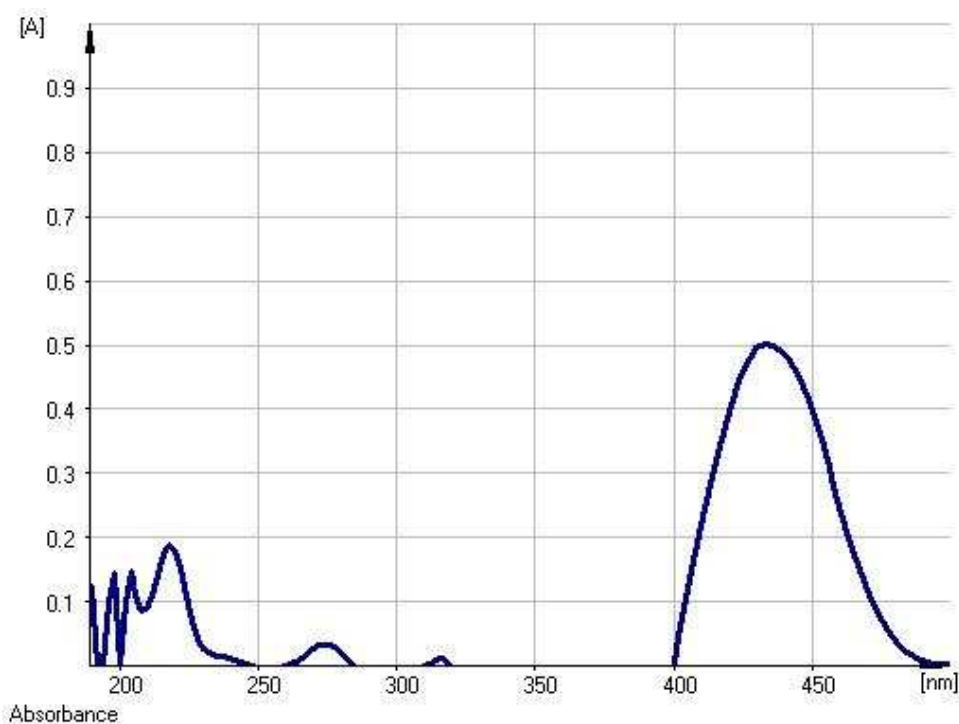


Рис. 4. УФ-спектр раствора ГСО ликуразида (дифференциальный вариант)

1. Методика качественного анализа лекарственного препарата «Солодки сироп».

К 5,0 мл препарата «прибавляют 1 каплю ледяной уксусной кислоты и перемешивают. Затем прибавляют 5 мл ацетона и перемешивают. Ацетоновый (верхний) слой отделяют, упаривают в выпарительной чашке, растворяют в 1 мл 95 % спирта этилового и используют для анализа (испытуемый раствор). На линию старта пластинки «Сорбфил-ПТСХ-УФ-А-УФ» микропипеткой наносят 0,02 мл испытуемого раствора и затем рядом – 0,02 мл (20 мкг) 0,1 % раствора ГСО глицирама и 0,02 мл (20 мкг) 0,1% раствора ГСО ликуразида. Далее анализ осуществляют в соответствии с методикой, описанной в литературе [3, 4].

2. Методика количественного определения глицирризиновой кислоты в лекарственном препарате «Солодки сироп». Около 5 г (точная навеска) препарата помещают в колбу коническую со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 25 мл раствора ацетонового 3 % кислоты трихлоруксусной, перемешивают, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане 20 мин, считая с момента закипания раствора в колбе. В колбу через холодильник прибавляют 30 мл раствора ацетонового 3 % кислоты трихлоруксусной, раствор охлаждают и фильтруют через бумажный фильтр. Колбу промывают раствором ацетоновым 3 % кислоты трихлоруксусной 2 раза по 10 мл, фильтруя через тот же фильтр. Далее анализ осуществляют в соответствии с методикой, описанной в литературе [3, 4].

Содержание глицирризиновой кислоты (в пересчете на глицирам) в образцах сиропа солодки варьирует от 0,71 % \pm 0,01 % до 1,33 % \pm 0,03 %. Ошибка единичного определения методики с доверительной вероятностью 95 % составляет \pm 4,97 %.

3. Методика количественного определения суммы флавоноидов в лекарственном препарате «Солодки сироп». Около 5 г (точная навеска) препарата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора водой очищенной до метки (раствор А). 2 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора 96% этиловым спиртом до метки (раствор сравнения). 2 мл раствора А вносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл 2 % спиртового раствора хлорида алюминия и доводят объем раствора до метки объем 96 % этиловым спиртом (испытуемый раствор). Далее анализ осуществляют в соответствии с методикой, описанной в литературе [8].

Содержание суммы флавоноидов в образцах лекарственного препарата «Солодки сироп» варьирует от 0,18 % \pm 0,001 % до 0,21 % \pm 0,002 %. Ошибка единичного определения методики с доверительной вероятностью 95 % составляет \pm 4,85 %.

Выводы

1. Разработаны новые подходы к стандартизации лекарственного препарата «Солодки сироп», основанные на использовании ТСХ, спектрофотометрии, а также государственных стандартных образцов глицирама и ликуразида.

2. Разработана методика качественного ТСХ-анализа лекарственного препарата «Солодки сироп», заключающаяся в определении глицирризиновой кислоты и ликуразида, имеющих диагностическое значение.

3. Разработаны методики количественного определения глицирризиновой кислоты и суммы флавоноидов в лекарственном препарате «Солодки сироп» с использованием спектрофотометрии при аналитической длине волны 258 нм и 420 нм соответственно.

Список литературы

1. Государственная фармакопея СССР. – X издание. – М.: Медицина, 1968. – 1079 с.
2. Государственный реестр лекарственных средств. – Т.1. Официальное издание. – М., 2008. – 1398 с.
3. Егоров М.В., Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Быков В.А. Валидация методик качественного анализа сырья и препаратов солодки // Фармация. – 2005. – Т. 53, № 1. – С. 9-12.
4. Егоров М.В., Куркин В.А. Совершенствование методов стандартизации корней солодки // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2011. – Т. 13, № 1(8). – С.1992-1995.

5. Запесочная Г.Г., Звонкова Е.Н., Куркин В.А., Казакова Е.В., Первых Л.Н., Шейченко В.И., Быков В.А. Некоторые свойства глицирризиновой кислоты // Химия природных соединений. – 1994. – № 6. – С. 772-780.
6. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). 2-е изд., перераб. и доп. – Самара: ООО «Офорт»; ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2007. – 1239 с.
7. Куркин В.А. Основы фитотерапии: Учебное пособие для студентов фармацевтических вузов. – Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2009. – 963 с.
8. Куркин В.А., Егоров М.В. Стандартизация корней солодки голой и лекарственного препарата «Солодки экстракт жидкий» // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 6(6). – С. 1232-1236.
9. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография. – Самара: ООО «Офорт»; ГБОУ ВПО СамГМУ Минздравсоцразвития России, 2012. – 290 с.
10. Муравьева Д.А., Самылина И.А., Яковлев Г.П. Фармакогнозия: учебник. – М.: Медицина, 2002. – 656 с.
11. Wagner H. Pharmazeutische Biologie. Drogen und ihre Inhaltsstoffe. Stuttgart-New York: Gustav Fischer Verlag, 1993, 522 s.

Рецензенты:

Первушкин С.В., д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой фармацевтической технологии, государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Самара;

Авдеева Е.В., д.фарм.н., профессор, зам. директора Института инновационного развития, государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Самара.