

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММЫ ТРИТЕРПЕНОВЫХ САПОНИНОВ В КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕКАРСТВЕННОМ СРЕДСТВЕ НА ОСНОВЕ ПУСТЫРНИКА, СИНЮХИ ГОЛУБОЙ И БОЯРЫШНИКА МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

Ф. Хажжар

аспирант, Российский университет дружбы народов (Москва, Россия)
E-mail: phfadyhajj@gmail.com

О.Г. Потанина

д. фарм.н., профессор, Российский университет дружбы народов (Москва, Россия)

Цель работы. Определение суммы тритерпеновых сапонинов в комбинированном густом седативном лекарственном средстве на основе густых экстрактов фармакопейных видов лекарственного растительного сырья – травы пустырника (*Herba Leonuri*), плодов боярышника (*Crataegus spp*) и травы синюхи голубой (*Polemonium caeruleum L.*).

Материал и методы. Объектом исследования являлось комбинированное седативное лекарственное средство на основе густых экстрактов фармакопейных видов лекарственного растительного сырья травы пустырника плодов боярышника и травы синюхи голубой. В соответствии с Государственной фармакопеей (ГФ) РФ XIV, ОФС.1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в УФ и видимой областях» для определения содержания суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на β-эсцин использовали спектрофотометрический метод. Условия проведения анализа были взяты из ГФ РФ XIV издания, ОФС.2.5.0039.15 «Синюхи голубой корневища с корнями».

Результаты. Оценены аналитические процедуры для количественного определения общего содержания тритерпеновых сапонинов в комбинированном растительном лекарстве на основе травы пустырника, плодов боярышника, и травы синюхи. Проведена валидация методики в соответствии с ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» по параметрам: прецизионность, линейность, специфичность, правильность, повторяемость.

Выводы. Полученные данные могут быть использованы при создании нормативной документации на разработанное комбинированное лекарственное средство в форме густого экстракта.

Ключевые слова: *Herba Polemonii, Polemonium caeruleum L., Herba Leonuri, Leonurus quinquelobatus Gilib., Leonurus cardiac L., Fructus Crataegi, Crataegus spp., синюха голубая, пустырник пятилопастной, пустырник сердечный, боярышник виды, густой экстракт, тритерпеновых сапонинов, УФ-спектрофотометрия.*

Для цитирования: Хажжар Ф., Потанина О.Г. Определение суммы тритерпеновых сапонинов в комбинированном лекарственном средстве на основе пустырника, синюхи голубой и боярышника методом спектрофотометрии. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2021;24(12):41–45. <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-12-06>

Подсчитано, что из 4,22 тыс зарегистрированных цветковых растений в мире более 50 тыс. используются в лечебных целях [1]. С давних времен биоактивные лекарственные растения используются в традиционной медицине для лечения различных заболеваний. На данный момент использование фитохимических веществ считается более безопасным и благоприятным для человеческого организма [2]. Лекарственные растения являются основой различных современных лекарств и фармацевтических препаратов [3].

Сапонины представляют собой разнообразную группу природных активных соединений, широко распространенных в царстве растений. Они являются активными составляющими более

чем 100 семейств, включая эндофитные грибы наземного и морского происхождения [4]. Структурно сапонины представляют собой класс вторичных метаболитов растений, состоящих из сахарного фрагмента, гликозидно связанного с гидрофобным агликоном (сапогенином), который может быть тритерпеновым или стероидным [5]. В зависимости от характера агликонового скелета сапонины делятся на две группы: 1) тритерпеноидные сапонины, встречающиеся у двудольных покрытосеменных [6]; 2) стероидные сапонины, которые почти исключительно присутствуют в однодольных покрытосеменных [7]. Агликоновые (не содержащие гликозидов) части сапонинов называются сапогенинами. Число сахаридных це-

пей, прикрепленных к ядру сапогенин/агликон, может варьироваться. Липофильный агликон бывает любой из широкого разнообразия полициклических органических структур, происходящих из последовательного добавления 10-углеродных (C10) терпеновых единиц для образования тритерпенового скелета C30 [8], часто с последующим изменением для образования стероидного скелета C27. Тритерпеноидные сапонины имеют агликон-тритерпеноидный скелет C30, содержащий пентациклическую структуру.

Вещество β-эсцин представляет собой смесь тритерпеновых сапонинов, выделенных из семян конского каштана (*Aesculus hippocastanum* L.).

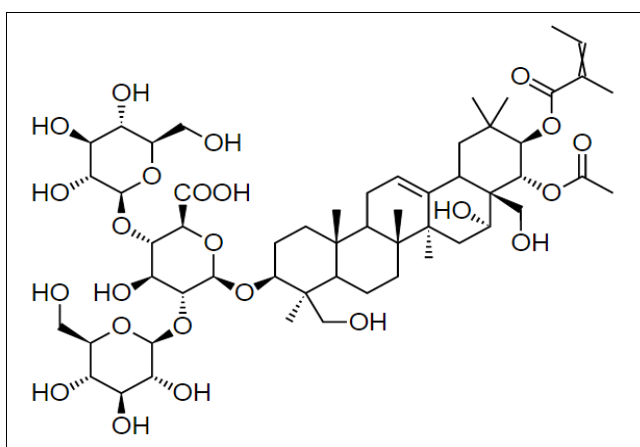


Рис. 1. Структура β-эсцина

Цель работы – определение суммы тритерпеновых сапонинов в комбинированном густом седативном лекарственном средстве на основе густых экстрактов фармакопейных видов лекарственного растительного сырья – травы пустырника, плодов боярышника и травы синюхи голубой.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на комбинированном растительном лекарственном средстве на основе травы пустырника, плодов боярышника и травы синюхи голубой, полученном с помощью ресурсосберегающей технологии и предназначенном для создания лекарственного растительного препарата.

Показатели качества экстракта определяли в соответствии с ОФС 1.4.1.0021.15 «Экстракты» Государственной фармакопеи (ГФ) РФ XIV издания [9].

Стандартным образцом (СО) служил β-эсцин (Lot:1249202-350MG), при этом применяли реак-

тивы с качеством чистоты не менее 99,5% (Merck, Германия).

Валидацию аналитической методики определения количественного содержания суммы тритерпеновых сапонинов проводили на спектрофотометре CARY-100 (VARIAN, США), использовали кварцевые кюветы с толщиной поглощающего слоя 1 см. Валидацию аналитической методики выполняли в соответствии с ГФ РФ XIV издания, ОФС 1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик».

В работе использовались инструменты: мельница, ультразвук, магнитная мешалка, оборудованная нагревателем, водяная баня холодильника, ультрафиолетовый спектрофотометр.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Методика проведения количественного анализа взята из ГФ РФ XIV ОФС.2.5.0039.15 «Синюхи голубой корневища с корнями» (реакция с концентрированной серной кислотой в среде ледяной кислоты). Содержание суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на β-эсцин в комбинированном густом седативном лекарственном средстве в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 5 \cdot 25 \cdot 100 \cdot P \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 25 \cdot 100 \cdot 10 \cdot 100} = \frac{A \cdot a_0 \cdot P}{A_0 \cdot a \cdot 2}$$

где A и A₀ – соответственно оптическая плотность испытуемого раствора Б и раствора Б СО β-эсцина; a и a₀ – соответственно масса экстракта и масса СО β-эсцина, г; P – чистота СО β-эсцина, %

Валидацию методики проводили по следующим параметрам: правильность, специфичность, предел количественного определения, линейность и прецизионность.

Специфичность методики количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов подтверждена набором спектров раствора бланка, стандартного раствора и испытуемого раствора. Максимальная длина волны (λ) СО β-эсцина и максимальная длина волны суммы тритерпеновых сапонинов испытуемого раствора представлены в табл. 1.

Типичные спектры раствора СО (Б) и испытуемого раствора приведены на рис. 2 и 3. При сравнении спектров в комбинированном седативном лекарственном средстве на основе травы пустырника, плодов боярышника и травы синюхи голубой выявлено присутствие β-эсцина (рис. 2 и 3).

Таблица 1. Максимальная длина волны стандартного и испытуемого растворов

	Испытуемый раствор	Стандартный раствор	Совпадение, %
$\lambda_{\text{макс}}$, mAU	283	284	99,64
$\lambda_{\text{макс}}$, mAU	283	283	100,00
$\lambda_{\text{макс}}$, mAU	285	283	99,30

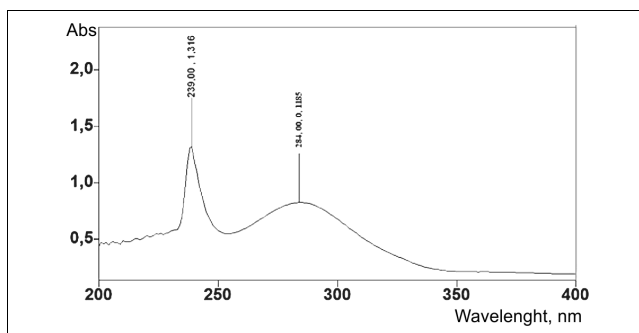


Рис. 2. Типичный спектр испытуемого раствора (Б)

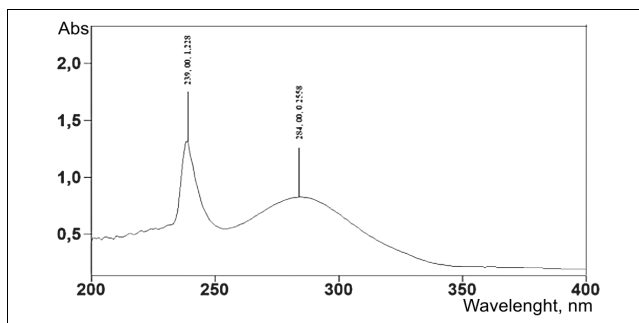


Рис. 3. Типичный спектр стандартного раствора (Б)

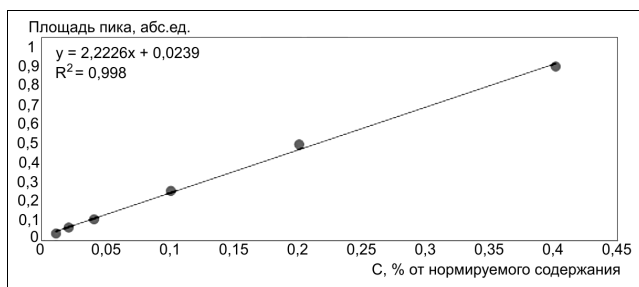


Рис. 4. Линейная зависимость аналитического сигнала от концентрации β -эсцина (% от нормируемого содержания)

В результате установлена специфичность методики для определения суммы тритерпеновых сапонинов и исключена возможность присутствия пиков, которые могут мешать определению суммы тритерпеновых сапонинов

Для проверки линейности были приготовлены и проанализированы серии растворов СО β -эсцина. Линейная зависимость наблюдалась в изучаемом диапазоне от 10 до 150% от нормируемого содержания. Значения R^2 для линейной зависимо-

сти составляли более 0,995, что подтверждает линейность методики количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов (рис. 4).

Полученное значение $R^2 = 0,998$ подтверждает линейность методики количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на β -эсцин в комбинированном седативном лекарственном средстве.

Правильность методики количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в комбинированном седативном лекарственном средстве подтверждали методом добавок. Результаты определения правильности методики количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в комбинированном густом седативном лекарственном средстве в пересчете на β -эсцин представлены в табл. 2.

Анализ данных, представленных в табл. 2, позволяет заключить, что правильность количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в комбинированном седативном лекарственном средстве находится в диапазоне от 95,0 до 105,0%.

Для определения повторяемости рассчитывали коэффициент вариации $S_8\%$ по результатам количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в комбинированном седативном лекарственном средстве ($n=6$) в испытуемом образце. Результаты приведены в табл. 3.

Значение коэффициента вариации $S_8\%$ результатов количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов не превышают 2,0%, что соответствует критерию приемлемости.

Для оценки внутрилабораторной прецизионности проводили исследования в течение двух рабочих дней с использованием свежеприготовленных растворов. Рассчитывали содержание суммы тритерпеновых сапонинов, среднее значение, стандартное отклонение, стандартное отклонение среднего результата, коэффициент вариации $S_8\%$ по результатам количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в испытуемых растворах ($n=6$) (табл. 4).

Таблица 2. Правильность определения β -эсцина (масса экстракта = 0,50 г; C = 42,5 мкг/мл)

Концентрация раствора добавки в образце, мкг/мл	Добавлено, мкг/мл	Ожидаемое, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	Открываемость, %
2	2,0	44,5	45,1	101,1
4	3,8	46,3	45,7	98,7
8	7,9	50,4	49,8	101,2
16	15,9	58,4	57,7	98,4

Примечание: в скобках приведены данные для суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на β -эсцин, содержащейся в комбинированном густом седативном лекарственном средстве

Таблица 3. Оценка повторяемости методики количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в комбинированном седативном лекарственном средстве

$a_0 = 0,051$ г, $A_0 = 0,2558$	A_1	A_2	A_3	A_{cp}	a , г	X , %
1	0,1185	0,1190	0,1180	0,1185	0,052	17,71
2	0,1175	0,1174	0,1178	0,1176	0,051	17,68
3	0,1167	0,1165	0,1168	0,1167	0,050	17,70
4	0,1192	0,1188	0,1193	0,1191	0,053	17,70
5	0,1174	0,1171	0,1172	0,1172	0,050	17,70
6	0,1174	0,1176	0,1170	0,1173	0,051	17,68
Дисперсия, S^2						0,0001
Коэффициент вариации, $S\%$						0,167
Стандартное отклонение среднего результата, $S\delta$						0,005
Среднее значение (X), %						17,69
Доверительный интервал ($P=0,95$), %						17,68–17,70
Стандартное отклонение, S						0,012

Таблица 4. Оценка внутрилабораторной прецизионности методики количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов

$a_0 = 0,050$ г, $A_0 = 0,2502$	A_1	A_2	A_3	A_{cp}	a , г	X , %
1	0,1180	0,1180	0,1190	0,1183	0,054	17,71
2	0,1171	0,1179	0,1177	0,1176	0,053	17,69
3	0,1164	0,1167	0,1170	0,1167	0,052	17,70
4	0,1195	0,1195	0,1198	0,1196	0,056	17,70
5	0,1171	0,1177	0,1176	0,1175	0,052	17,72
6	0,1170	0,1170	0,1180	0,1173	0,053	17,69
Стандартное отклонение, S						0,013
Среднее значение (X), %						17,70
Стандартное отклонение среднего результата, $S\delta$						0,005
Коэффициент вариации, $S\delta\%$						0,170
Дисперсия, S_2						0,0001
Доверительный интервал ($P = 0,95$), %						17,68–17,71

Различия между дисперсиями средних результатов двух выборок статистически незначимы.

При сравнении результатов, полученных в разные дни, различия в воспроизводимостях отсутствуют.

ВЫВОДЫ

1. Проведена апробация эффективной методики определения суммы тритерпеновых сапонинов в комбинированном седативном лекарственном средстве на основе густых экстрактов фармакопейных видов лекарственного растительного сырья травы пустырника, плодов боярышника и травы синюхи голубой с помощью спектрофотометрии.

2. Согласно ОФС.1.1.0012.15, выполнена валидация разработанной методики. Относительная ошибка определения суммы тритерпеновых сапонинов в комбинированном седативном лекарственном средстве составила 5%.

3. Предложенная методика определения суммы тритерпеновых сапонинов в комбинированном седативном лекарственном средстве может быть рекомендована для включения в нормативную документацию для этого типа лекарственного растительного сырья.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Vincken J.P., Heng L., de Groot A., et al. Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*. 2017; 68(3): 275–297.
2. Mohamed M.A., Ashour A.S. A review on saponins from medicinal plants: chemistry, isolation, and determination. *Journal of Nanomedicine Research*. 2019; 7: 282–288.
3. Vasudeva R.N., Sukhendu B.G., Pushpalatha B., et al. Triterpenoid saponins: a review on biosynthesis, applications and mechanism of their action. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 2015; 7(1): 24–28.
4. Van Dyck S., Flammang P., Meriaux C., Bonnel D., Salzet M., Fournier I., et al. Localization of secondary metabolites in marine invertebrates: contribution of MALDI MSI for the study of saponins in cuvierian tubules of *H. forskali*. *PLoS One*. 2019; 5: e13923
5. Rao A.V., Gurfinkel D.M. The bioactivity of saponins: triterpenoid and steroidal glycosides. *Drug Metabol Drug Interact.* 2020; 17(1–4): 211–235. This review summarizes the saponins chemistry, metabolism and in role in different diseases.
6. Challinor V.L., De Voss J.J. Open-chain steroidal glycosides, a diverse class of plant saponins. *Nat Prod Rep.* 2019; 30(3): 429–454.
7. Bruneton J. *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*. Lavoisier Publishing, Paris. 2017; 538–544 (ISBN 2-4730-0028-7).
8. Project Summary: Functional Genomics of Triterpene Saponin Biosynthesis in *Medicago Truncatula*. <http://www.noble.org/Plantbio/Dixon/Personnel/projectsummaries/Saponin.html>.
9. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV. Том II. Министерство здравоохранения Российской Федерации. 2018; 1980–1986 (Gosudarstvennoj farmakopei Rossijskoj Federacii XIV. Tom II. Ministerstvo zdoravoochranenija Rossijskoj Federacii. 2018; 1980–1986).

Поступила 26 августа 2021 г.

DETERMINATION OF TOTAL TRITERPENE SAPONINS IN A COMBINED DRUG BASED ON JACOB'S LADDER, MOTHERWORT HERBS AND HAWTHORN FRUIT BY SPECTROPHOTOMETRY

© Fadi Hajjar, O.G. Potanina, 2021

Fadi Hajjar

Post-graduate Student, People's Friendship University of Russia (Moscow, Russia)

E-mail: phfadyhajj@gmail.com

O.G. Potanina

Dr.Sc. (Pharm.), Professor, People's Friendship University of Russia (Moscow, Russia)

Purpose: The purpose was to evaluate analytical procedures for the quantitative determination of the total triterpene saponins in a combined herbal medicine based on motherwort herb, hawthorn fruit and jacob's ladder herb by ultraviolet-visible spectrophotometry. The article presents determining the amount of triterpene saponins in a combined sedative drug based on spissum extracts of pharmacopoeial medicinal plant raw materials of motherwort herb, hawthorn fruits and jacob's ladder herb, using spectrophotometry. In accordance to requirements of state pharmacopoeia th¹⁴, General Pharmacopoeia Monograph.1.2.1.1.0003.15 "Spectrophotometry in the UV and visible regions" using a spectrophotometric method for determining the content of the sum of triterpene saponins in terms of β-escin. The conditions for the analysis were taken from the monograph 1.2.5.0039.15 of state pharmacopoeia th¹⁴. The method was validated according to requirements of General Pharmacopoeia Monograph 1.1.0012.15 "Validation of analytical methods" in terms of the parameters: specificity, linearity, correctness, repeatability and precision of solutions. The data obtained can be used in the development of regulatory documents for the developed combined drug in the form of a spissum extract.

Key words: *Herba Polemonii, Polemonium caeruleum L., Herba Leonuri, Leonurus quinquelobatus Gilib., Leonurus cardiac L., Fructus Crataegi, Crataegus spp., jacob's ladder, herba leonuri, Hawthorn, spissum extract, triterpene saponins, UV-spectrophotometry.*

For citation: Hajjar Fadi, Potanina O.G. Determination of total triterpene saponins in a combined drug based on jacob's ladder, motherwort herbs and hawthorn fruit by spectrophotometry. *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2021;24(12):41–45. <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-12-06>