

РАЗРАБОТКА СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ САПОЖНИКОВИИ РАСТОПЫРЕННОЙ КОРНЕЙ НАСТОЙКИ – ИСТОЧНИКА ХРОМОНОВ, ЕЕ СТАНДАРТИЗАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

Н.П. Рабданова

мл. науч. сотрудник, лаборатория физиологически активных веществ и фитоинжиниринга,
Байкальский институт природопользования СО РАН (г. Улан-Удэ, Республика Бурятия, Россия)

Б.М. Урбагарова

к.фарм.н., ст. науч. сотрудник, лаборатория физиологически активных веществ и фитоинжиниринга,
Байкальский институт природопользования СО РАН (г. Улан-Удэ, Республика Бурятия, Россия)

В.В. Тараскин

к.фарм.н., зав., лабораторией химии природных систем,
Байкальский институт природопользования СО РАН (г. Улан-Удэ, Республика Бурятия, Россия)

Ж.А. Тыхеев

к.фарм.н., зав., лабораторией физиологически активных веществ и фитоинжиниринга,
Байкальский институт природопользования СО РАН (г. Улан-Удэ, Республика Бурятия, Россия)
E-mail: gagarin199313@gmail.com

Актуальность. Сапожниковия растопыренная (*Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk.) является богатым источником хромонов. Из корней *S. divaricata* производят экстракты сухие и жидкие, препараты индивидуальных веществ, а также косметические средства для проблемной кожи. Однако отсутствуют данные по производству настоек *S. divaricata*, несмотря на удобство их применения.

Цель исследования – разработка способа получения настойки из корней *S. divaricata*, ее стандартизация и определение антирадикальной активности.

Материал и методы. Для получения настойки использовали сырье *S. divaricata radices* производства ПТ «Даурская заготовительная компания» (2019 г.). Подбор оптимального способа получения настойки осуществляли с использованием различных периодических и интенсивных методов экстракции. Экстрагентом служил спирт этиловый в диапазоне концентраций от 40 до 70%. Для максимальной экстракции хромонов подобрана степень измельченности сырья. Определение количественного содержания хромонов проводили методом ВЭЖХ-УФ с использованием растворов стандартных образцов *перв*-О-глюкозилцимифугина, цимифугина и 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвиссаминола. Антирадикальную активность настойки оценивали с использованием ДФПГ-теста.

Результаты. Подобраны оптимальные условия получения настойки из корней сапожниковии растопыренной по выходу действующих веществ – *перв*-О-глюкозилцимифугина, цимифугина и 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвиссаминола. Установлены оптимальные параметры экстракции: экстрагент (50%-ный этиловый спирт), степень измельченности (сырье, проходящее сквозь сито с диаметром 0,5 мм).

Выводы. Разработан способ получения настойки на основе корней *S. divaricata*, подобраны оптимальные условия ее изготовления. Экстракция на аппарате Сокслета позволяет выделить вдвое больше хромонов по сравнению с другими экстракционными и циркуляционными методами получения настойки. Наилучший экстрагент – 50%-ный этиловый спирт; оптимальный размер измельчения корней – 0,5 мм. Установлена антирадикальная активность настойки.

Ключевые слова: сапожниковия растопыренная, *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischkin., настойка, хромоны, антирадикальная активность.

Для цитирования: Рабданова Н.П., Урбагарова Б.М., Тараскин В.В., Тыхеев Ж.А. Разработка способа получения сапожниковии растопыренной корней настойки – источника хромонов, ее стандартизация и определение антирадикальной активности. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2022;25(12):37–43. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-12-06>

Saposhnikovia divaricata (Turcz.) Schischk. (принятое название согласно Catalogue of Life, catalogueoflife.org) – многолетнее монокарпическое травянистое растение семейства Umbelliferae. Этот единственный представитель эндемичного рода

Азии *Saposhnikovia* Schischk произрастает в луговых каменистых степях на склонах и шлейфах сопок, на террасах, в зарослях степных кустарников, на опушках лесостепных лесков на территории Монголии, Китая, Кореи и России (Восточной Си-

бири и Дальнего Востока) [1]. Корни данного восточноазиатского эндемика широко применяются в восточной традиционной медицине как противовоспалительное, жаропонижающее и обезболивающее средство при артралгии, ревматизме, генерализованных болях, головных болях, инсультах, лихорадке, простудных заболеваниях и аллергических ринитах [2, 3]. За последнее время повысился и научный интерес к *Saposhnikoviae divaricatae radices*, что показано повышением публикационной активности за последние годы. Например, в международных базах данных Web of Science, Scopus и Sciencedirect до 2000 года опубликовано от 1–4 публикаций в год, с 2000 по 2010 гг. до 15 публикаций в год, а с 2011 по 2021 гг. – порядка 34 работ в год. В ходе исследований в различных экспериментах *in vitro* и *in vivo* доказаны противовоспалительная [4], анальгезирующая [5], жаропонижающая [6], антиоксидантная, антипролиферативная [7], цитотоксическая [8], антиаллергическая [9, 10], противомикробная [11], противогрибковая [12] активности спиртовых извлечений корней *S. divaricata*. Известно, что *S. divaricata* является богатым источником хромонов, основными среди которых являются *перв*-О-глюкозилцимифугин, цимифугин и 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвиссаминол. *Перв*-О-глюкозилцимифугин оказывает противовоспалительное действие путем блокирования сигнальных путей MARK, AKT и NF-κB [13, 14] и ингибирования экспрессии белка NO-синтазы и ЦОГ-2 [15]. Также данный хромон обладает антиноцицептивной активностью сравнимой с анальгезирующим действием индометацина [16]. Цимифугин оказывает противозудное действие путем ингибирования канала TRPV4 спинального ганглия [17], ослабляет аллергическое воспаление, ингибируя продукцию тимус стромального лимфопоэтина (TSLP) и интерлейкина IL-33 [10], обладает противовоспалительной активностью, ингибируя активность MAPK и сигнальных путей NF-κB [18]. Фуранохромон 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвиссаминол оказывает противовоспалительное действие путем ингибирования NO, PEG 2 и цитокинов, таких как интерлейкин (IL)-1β, IL-6, интерферон (IFN)-γ и IL-22, TNF-α, а также снижает активность ЦОГ-2 [19, 20]. На фоне противовоспалительного эффекта этого хромона наблюдается снижение окислительного стресса и улучшение депрессивно-поведенческого состояния [20]. На модели субарахноидального кровоизлияния 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвиссаминол показал

нейропротекторный эффект благодаря ингибированию интерлейкина (IL-6) и моноцитарного хемотаксического белка (MCP-1) [21].

Ввиду популярности применения в традиционной медицине, широкой доказательной базы эффективности использования данного растения, из корней *S. divaricata* производят экстракты сухие и жидкие, препараты индивидуальных веществ, а также косметические средства для проблемной кожи. Однако отсутствуют данные по производству настоек *S. divaricata*, несмотря на удобство их применения. Настойки из лекарственного растительного сырья на протяжении многих лет доказали свою эффективность как в лечении, так и в профилактике различных заболеваний. Многокомпонентный состав настоек из растительного сырья, зачастую способствуют пролонгированию лечебного эффекта, усиливает и ускоряет его наступление, снижает возможные побочные действия [22].

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я – разработка способа получения настойки из корней *S. divaricata* – источника хромонов, ее стандартизация и определение антирадикальной активности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для получения настойки использовали сырье *S. divaricata radices* производства ПТ «Даурская заготовительная компания» (2019 г.). Подбор оптимального способа получения настойки осуществляли с использованием различных периодических (мацерация, перколяция, циркуляционная экстракция на аппарате Сокслета) и интенсивных (ультразвуковая экстракция и турбоэкстракция на магнитной мешалке) методов экстракции для максимальной экстракции хромонов. При этом подбирали оптимальную концентрацию спирта этилового (от 40 до 70%) и степень измельченности сырья.

Поскольку основной группой биологически активных веществ сапожниковии растопыренной являются хромоны, а также с учетом ранее разработанной методики стандартизации сырья, для количественного определения предложен метод ВЭЖХ-УФ. Определение количественного содержания хромонов осуществляли на микроколоночном высокоэффективном жидкостном хроматографе с УФ-детектированием Милихром А-02 (ООО ИХ «Эконова», Россия) с применением растворов стандартных образцов исследуемых веществ – *перв*-О-глюкозилцимифугина, цимифугина и 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвиссаминола (Cool chemical science and technology Co, Пекин, Китай). В ка-

честве неподвижной фазы использовали хроматографическую колонку ProntoSil-120-5-C18 2·75 мм с размером частиц 5 мкм. Подвижной фазой служила смесь воды (элюент А) с метанолом (элюент Б), которая продвигалась по колонке со скоростью потока 1,0 мл/мин при температуре 35 °С. Элюирование выполняли градиентным способом: 0–5 мин 60–45% элюента А; 5–10 мин 45–40% элюента А; 10–15 мин 40–0% элюента А; 15–20 мин 0% элюента А. На анализ вводили 5 мкл раствора, аналитическая длина волны – 300 нм.

Антирадикальную активность настойки оценивали с использованием ДФПГ-теста с применением стабильного радикала – 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила. Для приготовления рабочего раствора 2 мл раствора ДФПГ (0,0006 моль/л) смешивали с 9 мл этанола с концентрацией 95% (раствор Б). Затем готовили 6 растворов разведения настойки (1:50, 1:10, 1:5, 1:2, 1:0) и из каждого разведенного раствора отбирали 100 мкл и добавляли к 1 мл раствора Б. Реакционную смесь инкубировали в течение 30 мин в темноте при комнатной температуре. Антирадикальную активность (в процентах ингибирования) высчитывали по формуле

$$\% \text{ингибирования ДФПГ-радикалов} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100,$$

где A_0 – абсорбция в контроле; A_1 – абсорбция образцов.

Показатель IC_{50} определяли методом регрессионного анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С целью подбора оптимальных условий для изготовления настойки из корней *S. divaricata* изучено влияние метода экстракции, концентрации

спирта и степени измельченности сырья на выход трех основных хромонов.

Для подбора оптимального способа экстракции измельченные корни *S. divaricata* (1 мм) экстрагировали 70%-ным спиртом этиловым в соотношении 1:5 в трех параллельных испытаниях разными методами.

Мацерация – классический метод экстракции, заключающийся в настаивании в течение 7 суток с периодическим перемешиванием.

Перколяцию осуществляли на перколяторах в последовательно протекающих стадиях: замачивание в растворителе в соотношении 1:1 в течение 5 ч, настаивание в течение 24 ч с количеством экстрагента до образования «зеркала», собственно перколяция до обесцвечивания.

При экстракции на аппарате Сокслета провели 7 сливов.

Ультразвуковую экстракцию выполняли при частоте 22 кГц на ультразвуковом диспергаторе УЗДН-А в течение 30 мин.

Турбоэкстракция заключалась в экстракции на магнитной мешалке в результате вихревого перемешивания в течение 30 мин (табл. 1).

Показано, что наибольший выход хромонов наблюдается при экстракции с помощью аппарата Сокслета: содержание *перв*-О-глюкозилцимифугина – 1,25±0,06 мг/мл, цимифугина – 0,21±0,01 мг/мл и 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвисамминола – 1,12±0,05 мг/мл.

Одним из факторов, определяющих эффективность экстракции, является природа растворителя. В качестве экстрагента использовали этиловый спирт разной концентрации (от 40 до 80%), настойку получали методом экстракции с помощью аппарата Сокслета при степени измельченности сырья 1 мм (табл. 2).

Таблица 1. Влияние метода экстракции на содержание хромонов

Метод экстракции	Содержание <i>перв</i> -О-глюкозилцимифугина, мг/мл	Содержание цимифугина, мг/мл	Содержание 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвисамминол, мг/мл
Мацерация	0,05±0,002	0,07±0,003	0,01±0,0004
Перколяция	0,64±0,02	0,12±0,005	0,53±0,02
Экстракция с помощью аппарата Сокслета	1,25±0,06	0,21±0,01	1,12±0,05
Ультразвуковая экстракция	0,53±0,02	0,06±0,002	0,27±0,01
Турбоэкстракция на магнитной мешалке	0,56±0,02	0,07±0,002	0,30±0,01

Таблица 2. Влияние природы растворителя на содержание хромонов

Экстрагент	Содержание <i>перв</i> -О-глюкозилцимифугина, мг/мл	Содержание цимифугина, мг/мл	Содержание 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвисамминол, мг/мл
40%-ный этиловый спирт	1,46±0,07	0,23±0,01	1,53±0,07
50%-ный этиловый спирт	1,66±0,08	0,24±0,01	1,71±0,07
60%-ный этиловый спирт	1,62±0,06	0,20±0,0098	1,57±0,06
70%-ный этиловый спирт	1,60±0,06	0,17±0,008	1,38±0,06
80%-ный этиловый спирт	1,25±0,06	0,21±0,01	1,12±0,05

Таблица 3. Влияние степени измельченности сырья на содержание хромонов

Степень измельченности сырья	Содержание <i>перв</i> -О-глюкозилцимифугина, мг/мл	Содержание цимифугина, мг/мл	Содержание 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвисамминол, мг/мл
0,5 мм	1,76±0,08	0,18±0,008	1,81±0,08
1,0 мм	1,66±0,08	0,24±0,01	1,71±0,07
2,0 мм	1,54±0,07	0,14±0,006	1,57±0,07

Таблица 4. Показатели испытаний для настойки корней *S. divaricata*

Показатель	Партия настойки				
	1	2	3	4	5
Описание	Прозрачная жидкость светло-желтого цвета с характерным ароматным запахом				
Сухой остаток, %	2,31	2,32	2,30	2,31	2,32
Содержание <i>перв</i> -О-глюкозилцимифугина, мг/мл	1,72	1,80	1,75	1,79	1,77
Содержание цимифугина, мг/мл	0,20	0,17	0,17	0,18	0,18
Содержание 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвисамминол, мг/мл	1,79	1,80	1,83	1,77	1,81

Выявлено, что наибольший выход хромонов наблюдался при экстракции 50%-ным этиловым спиртом. Так, количество основных действующих веществ *перв*-О-глюкозилцимифугина, цимифугина и 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвисамминола составило 1,66±0,08; 0,24±0,01 и 1,71±0,07 мг/мл соответственно.

При выборе оптимальной степени измельченности использовали частицы сырья, проходящие сквозь сито с диаметрами отверстий 0,5, 1,0 и 2,0 мм. В качестве экстрагента использовали 50%-ный спирт этиловый, настойку получали методом экстракции с помощью аппарата Сокслета (табл. 3).

Наибольший суммарный выход хромонов (3,75 мг/мл) наблюдался при степени измельченности сырья, проходящих сквозь сито с диаметром 0,5 мм. Таким образом, подобраны оптимальные условия экстракции корней сапожниковии растопыренной для наилучшего выхода биологически активных веществ, включающие в себя выбор метода экстракции, экстрагента и степени измельченности сырья.

Для полученной настойки определены показатели испытаний на 5 партиях (табл. 4).

Методика количественного определения хромонов ранее валидирована [25, 26] и адаптирована

для изготовленной настойки. Условия хроматографирования расписаны ранее.

Настойку в количестве 5,0 мл перенесли в мерную колбу вместимостью 50 мл, довели объем раствора спиртом 50% до метки. Хроматографировали 5 мкл испытуемого раствора и 5 мкл растворов стандартного образца *перв*-О-глюкозилцимифугина, цимифугина и 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвисамминола.

Содержание хромонов в настойке (мг/мл) вычисляли по формуле

$$X = \frac{S \times a_0 \times 50}{S_0 \times V_0 \times 5},$$

где S и S_0 – площади пиков на хроматограммах испытуемого раствора и раствора стандартного образца хромонов соответственно; a_0 – навеска стандартного образца хромона, мг; V_0 – объем раствора стандартного образца хромона, мл.

Также была определена антирадикальная активность настойки. В ходе проведенного исследования по ее определению в ДФПГ-тесте установлена выраженная радикал-связывающая активность в прямой дозовой зависимости (рисунок).

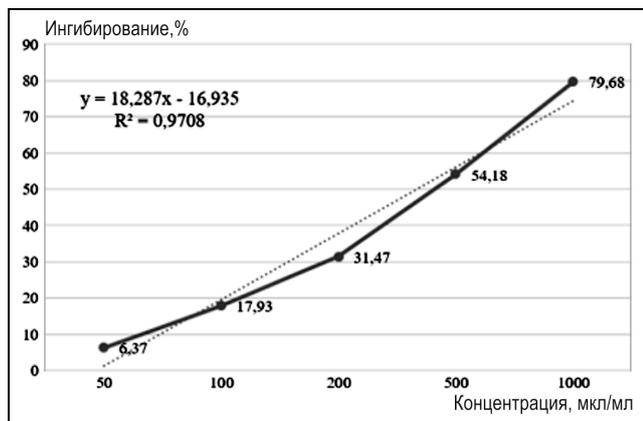


Рисунок. Зависимость антирадикальной активности от концентрации настойки *Saposhnikovia divaricatae radices*

Максимальное ингибирование ДФПГ-радикалов (79,7%) наблюдалось при использовании настойки без разведения. Концентрация полумаксимального ингибирования IC_{50} настойки составила 3,66 мкл/мл, что сравнимо с данными IC_{50} аскорбиновой кислоты – 3,04 мкг/мл [11].

Анализ литератур показал, что ранее был проведен ряд исследований по изучению антирадикальной активности как суммарных препаратов, так и индивидуальных хромонов корней *S. divaricatae*. Так IC_{50} гексановой, эфирной и этилацетат-

ной фракции составила соответственно 145,53; 5,30 и 30,54 мкг/мл [11], метанольного и этанольного экстрактов *S. divaricatae* – 5,1 мг/мл при максимальном ингибировании до 59,93 и 50,33% соответственно [23]. При сравнительном изучении антирадикальной активности трех хромонов выявлено, что цимифугин показал наибольшую активность – 70% ингибирования, 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвисамминол – около 58%, *перв*-О-глюкозилцимифугин – примерно 40% [24]. Таким образом, видно, что настойка, полученная в ходе исследований, показывает сравнительно высокое значение антиоксидантной активности.

ВЫВОДЫ

Экспериментальным путем подобраны оптимальные условия изготовления настойки на основе корней *S. divaricata*. Экстракция на аппарате Сокслета позволяет выделить вдвое больше хромонов по сравнению с другими экстракционными и циркуляционными методами получения настойки.

Наилучшим экстрагентом является 50%-ный этиловый спирт, что подтверждается ранее опубликованными данными [25]. Оптимальным размером измельчения корней является 0,5 мм. Определена антирадикальная активность настойки в ДФПГ-тесте.

Исследование выполнено в рамках государственного задания БИП СО РАН, по направлению работ МНОЦ «Байкал», с использованием оборудования ЦКП БИП СО РАН.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Пименов М.Г., Остроумова Т.А. Зонтичные (Umbelliferae) России. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2012; 477 с. (Pimenov M.G., Ostroumova T.A. Zontichnye (Umbellifer-ae) Rossii. M.: Tovarishhestvo nauchnyh izdanij KMK. 2012; 477 s.)
2. Растительные ресурсы России. Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т.3. Семейства Fabaceae-Apiaceae. Отв. ред. А.Л. Буданцев. СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК. 2010; 601 с. (Rastitel'nye resursy Rossii. Dikorastushhie cvetkovye rastenija, ih komponentnyj sostav i biologicheskaja aktivnost'. T.3. Semejstva Fabaceae-Apiaceae. Отв. ред. A.L. Budancev. SPb.; M.: Tovarishhestvo nauchnyh izdanij KMK. 2010; 601 s.)
3. Kreiner J., Pang E., Lenon G.B., Yang A.W.H. *Saposhnikovia divaricata*: a phytochemical, pharmacological, and pharmacokinetic review. Chinese Journal of Natural Medicines. 2017; 15(4): 255–264.
4. Khan S., Kim Y. Sh. Molecular Mechanism of Inflammatory Signaling and Predominant Role of *Saposhnikovia divaricata* as Anti-inflammatory Potential. Natural Product Sciences. 2013; 19(2): 120–126.

5. Okuyama E., Hasegawa T., Matsushita T., Fujimoto H., Ishibashi M., Yamazaki M. Analgesic Components of *Saposhnikovia* Root (*Saposhnikovia divaricata*). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2001; 49(2): 154–160.
6. Yang J.-M., Jiang H., Dai H.-L., Wang Z.-W., Jia G.-Z., Meng X.-C. Feeble Antipyretic, Analgesic, and Anti-inflammatory Activities were Found with Regular Dose 4'-O- β -D-Glucosyl-5-O-Methylvisamminol, One of the Conventional Marker Compounds for Quality Evaluation of *Radix Saposhnikoviae*. *Pharmacognosy Magazine*. 2017; 13(49): 168–174.
7. Tai J., Cheung S. Anti-proliferative and antioxidant activities of *Saposhnikovia divaricata*. *Oncology Reports*. 2007; 18: 227–234.
8. Urbagarova B.M., Shults E.E., Taraskin V.V., Radnaeva L.D., Petrova T.N., Rybalova T.V., Frolova T.S., Pokrovskii A.G., Ganbaatar J. Chromones and coumarins from *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. Growing in Buryatia and Mongolia and their cytotoxicity. *Journal of Ethnopharmacology*. 2020; 261:112517.
9. Yu X., Niu Y., Zheng J., Liu H., Jiang G., Junhao C., Hong M. *Radix Saposhnikovia* extract suppresses mouse allergic contact dermatitis by regulating dendritic-cell-activated Th1 cells. *Phytomedicine*. 2015; 22(13): 1150–1158.
10. Wang X., Jiang X., Yu X., Liu H., Tao Y., Jiang G., Hong M. Cimifugin suppresses allergic inflammation by reducing epithelial derived initiative key factors *via* regulating tight junctions. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2017; 21(11): 2926–2936.
11. Kim M., Seo K.-S., Yun K.W. Antimicrobial and Antioxidant Activity of *Saposhnikovia divaricata*, *Peucedanum japonicum* and *Glehnia littoralis*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2018; 80(3): 560–565.
12. Zhang L., Ravipati A.S., Koyyalamudi S.R., Jeong S.C., Reddy N., Bartlett J., Smith P.T., Cruz M., Monteiro M.C., Melguizo A., Jiménez E., Vicente F. Anti-fungal and anti-bacterial activities of ethanol extracts of selected traditional Chinese medicinal herbs. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2013; 6(9): 673–681.
13. Yin Y., Liu K., Li G. Protective Effect of Prim-O-Glucosylcimifugin on Ulcerative Colitis and Its Mechanism. *Frontiers in Pharmacology*. 2022; 13. DOI: 10.3389/fphar.2022.882924.
14. Chen N., Wu Q., Chi G., Soromou L.W., Hou J., Deng Y., Feng H. Prime-O-glucosylcimifugin attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice. *International Immunopharmacology*. 2013; 16: 139–147. DOI: 10.1016/j.intimp.2013.04.014.
15. Zhou J., Sun Y.-Y., Sun M.-Y., Mao W.-A., Wang L., Zhang J., Zhang H. Prim-O-glucosylcimifugin Attenuates Lipopolysaccharide induced Inflammatory Response in RAW 264.7 Macrophages. *Pharmacognosy Magazine*. 2017; 13(51): 378–384. DOI: 10.4103/pm.pm_323_16.
16. Wu L.-Q., Li Y., Li Y.-Y., Xu Sh.-H., Yang Z.-Y., Lin Zh., Li J. Antinociceptive Effects of Prim-O-Glucosylcimifugin in Inflammatory Nociception *via* Reducing Spinal COX-2. *Biomolecules and Therapeutics*. 2016; 24(4): 418–425. DOI: 10.4062/biomolther.2015.168.
17. Yan J., Ye F., Ju Y., Wang D., Chen J., Zhang X., Yin Zh., Wang Ch., Yang Y., Zhu Ch., Zhou Y., Cao P., Xu Y., Yu G., Tang Z. Cimifugin relieves pruritus in psoriasis by inhibiting TRPV4. *Cell Calcium*. 2021; 97. DOI: 10.1016/j.ceca.2021.102429.
18. Han B., Dai Y., Wu H., Zhang Y., Wan L., Zhao J., Liu Y., Xu Sh., Zhou L. Cimifugin Inhibits Inflammatory Responses of RAW264.7 Cells Induced by Lipopolysaccharide. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2019; 25: 409–417. DOI: 10.12659/MSM.912042.
19. Fu J., Zeng Z., Zhang L., Wang Y., Li P. 4'-O- β -D-glucosyl-5-O-methylvisamminol ameliorates imiquimod-induced psoriasis-like dermatitis and inhibits inflammatory cytokines production by suppressing the NF- κ B and MAPK signaling pathways. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2020; 53(12). DOI: 10.1590/1414-431X202010109.
20. Sun X., Zhang T., Zhao Y., Cai E., Zhu H., Liu Sh. The protective effect of 5-O-methylvisamminoside on LPS-induced depression in mice by inhibiting the over activation of BV-2 microglia through NF- κ B/I κ B- α pathway. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. 2020. DOI: 10.1016/j.phymed.2020.153348.
21. Chang Ch.-Z., Wu Sh.-Ch., Kwan A.-L., Lin Ch.-L. 4'-O- β -D-glucosyl-5-O-methylvisamminol, an active ingredient of *Saposhnikovia divaricata*, attenuates high-mobility group box 1 and subarachnoid hemorrhage-induced vasospasm in a rat model. *Behavioral and Brain Function*. 2015; 11(1). DOI: 10.1186/s12993-015-0074-8.
22. Рогоженикова Е.П. Совершенствование технологии получения настоек из разного вида лекарственного растительного сырья: Автореф. дисс. ... канд. фарм. наук. Москва, 2021 (Rogozhnikova E.P. Sovershenstvovanie tehnologii poluchenija nastoek iz raznogo vida lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ja: Avtoref. diss. ... kand. farm. nauk. Moskva, 2021).
23. Yue X., Xu F., Lv P., Yang H., Bao H., Xu Y. Analysis of Antioxidant Capacity of Chromones in *Saposhnikovia Radix* Obtained by Ultrasonic-Assisted Deep Eutectic Solvents Extraction. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. 2020; 2020: 8875788.
24. Zhao B., Yang X.-B., Yang X.-W., Liu J.-X. Biotransformation of prim-O-glucosylcimifugin by human intestinal flora and its inhibition on NO production and DPPH free radical. *Journal of Asian Natural Products Research*. 2014; 14(9): 886–896.
25. Urbagarova B.M., Taraskin V.V., Shults E.E., Radnaeva L.D. Development of assay method by HPLC-DAD for the quantitative determination of chromones in *Saposhnikovia divaricata radices* and its validation. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2019; 320(1): 012056.
26. Урбагарова Б.М. Фармакогностическое исследование сапожниковии растопыренной (*Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischkin) корней и разработка на их основе экстракта сухого: Дис. ... канд. фарм. наук. Улан-Удэ. 2019. Режим доступа: <http://www.igeb.ru/obrazovatel'naya-deyatelnost/dissertatsionnyj-sovet-d-999-140-03/ob-yavleniya-o-zashchitakh-dissertatsij/urbagarova-b-m>

Поступила 13 ноября 2022 г.

A NEW METHOD OF TINCTURE PREPARATION IN THE BASE OF SAPOSHNIKOVIA DIVARICATA ROOTS – THE SOURCE OF CHROMONES, ITS STANDATIZATION AND DETERMINATION OF ANTIRADICAL ACTIVITY

© Authors, 2022

N.P. Rabdanova

Junior Researcher, Laboratory of Physiologically Active Substances and Phyto-engineering,
Baikal Institute of Nature Management Siberian branch of the Russian Academy of Sciences (Ulan-Ude, Buryatia, Russia)

B.M. Urbagarova

Ph.D. (Pharm.), Senior Researcher, Laboratory of Physiologically Active Substances and Phyto-engineering,
Baikal Institute of Nature Management Siberian branch of the Russian Academy of Sciences (Ulan-Ude, Buryatia, Russia)

V.V. Taraskin

Ph.D. (Pharm.), Head of Laboratory of Chemistry of Natural Systems,
Baikal Institute of Nature Management Siberian branch of the Russian Academy of Sciences (Ulan-Ude, Buryatia, Russia)

Zh.A. Tykheev

Ph.D. (Pharm.), Head of Laboratory of Physiologically Active Substances and Phyto-engineering,
Baikal Institute of Nature Management Siberian branch of the Russian Academy of Sciences (Ulan-Ude, Buryatia, Russia)
E-mail: gagarin199313@gmail.com

Relevance. *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. is a rich source of chromones. Dry and liquid extracts, preparations of individual substances, as well as cosmetics for problem skin are produced from the roots of *S. divaricata*. However, there are no data of the tincture preparation in the base of on the *S. divaricata* despite their ease of administration.

The aim of the work is to develop a new method of tincture preparation in the base of *S. divaricata* roots, its standardization and determination of antiradical activity.

Material and methods. To obtain the tincture, we used the raw material *S. divaricata* roots produced by the "Daurskaya zagotovitel'naya kompaniya" in 2019. The choice of the optimal method for the tincture preparation was carried out using various periodic and intensive extraction methods. Ethyl alcohol was used as an extractant in the concentration range from 40 to 70%. For maximum extraction of chromones, the degree of grinding of raw materials was selected. Determination of the quantitative content of chromones was carried out by HPLC-UV using solutions of standard samples of prim-O-glucosylcymifugin, cymifugin and 4'-O-β-D-glucosyl-5-O-methylvissaminol. The antiradical activity of the tincture was evaluated using the DPPH test.

Results. The optimal conditions for the tincture preparation from the roots of *S. divaricata* splayed by the output of active substances – prim-O-glucosylcymifugin, cymifugin and 4'-O-β-D-glucosyl-5-O-methylvissaminol were selected. The optimal extraction parameters have been established: extractant (50% ethyl alcohol), degree of grinding (raw material, passing through a sieve with a diameter of 0.5 mm).

Conclusions. A method of tincture preparation in the base of *S. divaricate* roots has been developed, and the optimal conditions for its production have been selected. Extraction on the Soxhlet apparatus makes it possible to isolate twice as many chromones as compared to other extraction and circulation methods for tincture preparation. The best extractant of 50% ethyl alcohol. The optimal size of root grinding is 0.5 mm. The antiradical activity of the tincture was determined by the DPPH test.

Key words: *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischkin., tincture, chromones, antiradical activity.

For citation: Rabdanova N.P., Urbagarova B.M., Taraskin V.V., Tykheev Zh.A. A new method of tincture preparation in the base of *saposhnikovia divaricata* roots – the source of chromones, its standatization and determination of antiradical activity. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2022;25(12):37–43. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-12-06>