

УДК 615.322:615.074

Х.Р. Тухтаев, Р.Ш. Зарипова, М.Ф. Ёдгоров

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА СУХОГО ЭКСТРАКТА ШАЛФЕЯ, ПОЛУЧЕННОГО В ПРИСУТСТВИИ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Установлено, что введение поверхностно-активных веществ (ПАВ) при получении сухого экстракта (СЭ) шалфея увеличивает выход экстрактивных веществ (суммы флавоноидов и дубильных веществ). Кроме того, ПАВ уменьшают гигроскопичность полученного СЭ шалфея.

Ключевые слова: шалфей, поверхностно-активные вещества, сухой экстракт, стандартизация, подлинность, числовые показатели, микробиологическая чистота, стабильность.

Основными биологически активными компонентами лекарственного шалфея (*Salvia officinalis*) являются эфирные масла (преимущественно цинеол), дубильные вещества, три-терпеновые кислоты (урсоловая и олеановая) и флавоноиды [1,2]. Препараты шалфея лекарственного (настой, препарат Сальвин) используют при воспалительных заболеваниях полости рта (стоматитах, гангвитах, пародонтозе, катарактах верхних дыхательных путей, ангине), гастритах, язвенной болезни желудка, спазматических колитах и цистите [3]. Влияние ПАВ на процессы экстракции растительного сырья приводится в работах [4,5].

Нами изучено влияние природы ПАВ на количество выделения сухого экстракта (СЭ), химический состав экстракта и другие количественные характеристики. Полученный экстракт представляет практический интерес для получения лекарственных дисперсных систем (мази, гели и суспензии) с бактерицидными и противовоспалительными свойствами. Шалфей широко распространен на территории нашей республики указывает, что указывает на целесообразность получения его сухого экстракта с заданными свойствами.

В настоящей работе приводятся результаты по выбору оптимальных условий получения СЭ шалфея в присутствии различных ПАВ.

Экспериментальная часть. Объектом исследования явилась собранная в Ташкентской области (2016 г.) высушенная, измельченная и просеянная надземная часть шалфея. Листья, стебли, цветки растения были измельчены и проведены через сито размером 1 мм. Образцы по цвету зеленые или серовато-зеленые или сербристо-серые с беловатым, желтоватым и коричневым оттенками, запах слабый и ароматный, вкус извлечения пряный, горьковатый, мало вяжущий.

Для получения СЭ в качестве экстрагента использовали спирт этиловый с концентрацией 30,

40, 50 и 70 % . Соотношение экстрагент : лекарственное сырье составляет 10:1. Измельченное сырье загружали в эксикаторы и заливали поочередно 30-70% -ным этанолом до образования «зеркальной» поверхности. Во всех случаях экстракция проводилась пятикратно, настаивая до 10 часов. Полученные экстракты объединяли, процеживали через капроновый фильтр по отдельности сгущали в вакуум-циркуляционном аппарате. Концентрированный раствор выдерживали в холодильнике 4 суток, затем остаток упаривали на водяной бане до образования сухого порошка. При использовании неионогенных и катионных ПАВ опыты повторяли с добавлением различных количеств ПАВ.

Определение флавоноидов и суммы фенолкарбоновых кислот. Около 1 г (т.н.) измельченного сырья помещали в колбу, добавляют 200 мл 96% -го этанола и кипятят в течение 3,5 ч с обратным холодильником. Затем содержимое колбы охлаждали, фильтровали удаляя первую порцию в количестве 20 мл, 50 мл фильтрата помещали в коническую колбу, вместимостью 250 мл для удаления спирта и сушки. Сухой остаток трижды промывали хлороформом и помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, с помощью буферного раствора доводили рН до 9. Четыре раза промывали с 20 мл дихлорэтаном. Из раствора колбы брали 1 мл пробы, переводили в колбу емкостью 100 мл и буфером доводили объем до метки. Определяли оптическую плотность при 310 нм с высотой раствора 10 мм. Для сравнения брали буферный раствор с рН=9. Параллельно определяли оптическую плотность лютеолина (ГСО стандарт).

Количество флавоноидов и сумм фенолкарбоновых кислот в составе абсолютной сухой массы (в %) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D \cdot m_o \cdot 200 \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{D_o \cdot m \cdot 50 \cdot 100 \cdot 50 \cdot (100 - W)};$$

где: D – оптическая плотность исследуемого раствора; D_0 – плотность ГСО лютеолина; m – навеска исходного сырья, г; m_0 – навеска лютеолина, г; W – потеря масса при высушивании образца. Из пяти определений брали средние значения.

Количественное определение содержания дубильных веществ в СЭ шалфея, полученных в различных условиях, определяли методом перманганометрии [5]. Гигроскопичность СЭ изучали при относительной влажности 100 % в эксикаторе.

Данные по содержанию экстрактивных веществ в листьях шалфея при использовании различных концентраций экстрагента приводятся в таблице 1. Внешние признаки СЭ шалфея определяли визуально. Определение других показателей проводили по методикам, приведенным в ГФ XI. На основе экспериментальных данных был подобран оптимальный экстрагент, равный 50-70% концентрации этилового спирта. С целью экономии растворителя в дальнейшем использовали 50%-ный этанол. Полученный СЭ шалфея – порошок темно-коричневого цвета со слегка пряным, горьковато-вяжущим вкусом и специфическим запахом. Порошок хорошо растворим в воде, водно-спиртовых смесях (20, 40, 50, 60, 70%). СЭ шалфея, полученные при добавлении 1% раствора твина-80 и 1% раствора цетилпиридиния хлорида по внешнему виду и вкусовым показателям не отличается от СЭ, полученного без добавления ПАВ. СЭ шалфея оценивали по содержанию остаточной влаги, потери массы при высушивании, по количественному определению содержания флавоноидов и дубильных веществ. Количественные характеристики сухого экстракта шалфея практически совпадают литературными данными [3]. Выход экстрактивных веществ из листа шалфея с увеличением концентрации этанола от 30 до 70% плавно возрастает от 28,5 до 31,5. Добавление

неионогенного ПАВ-твина-80 во всех концентрациях этанола приводит к выходу экстрактивных веществ от 28,7 % до 33,2 %. Введение 1% раствора катионактивного ПАВ цетилпиридинияхлорида приводит к незначительному росту экстрактивных веществ в составе экстракта от 25,7 % до 31,8 %. В процессе получения СЭ ПАВ вводили при концентрации выше критической концентрации мицеллообразования (ККМ).

Влажность СЭ составляла 4,23-4,5 %. Потери в массе при высушивании определяли изотермическим методом. Она составила $4,12 \pm 0,5\%$ для СЭ без ПАВ, что не превышает регламентируемой нормативной документации.

По сравнению СЭ самого шалфея СЭ, полученный в присутствии неионогенного ПАВ, отличается повышенным содержанием флавоноидов 3,51 % (возрастание 23,1%) и дубильных веществ 8,15 % (возрастание 10,7%). Использование катионактивного ПАВ цетилпиридиния хлорида выше концентрации ККМ приводит к незначительному увеличению флавоноидов до 3,02 % (увеличение 5,96 %) и дубильных веществ до 7,55 % (увеличение 2,5 %). Увеличение выхода химических компонентов в присутствии ПАВ, по-видимому, связано тем, что в растворе молекулы ПАВ соединяются друг с другом – ассоциируют. Первичная ассоциация сводится к образованию ди-, три- и тетрамеров. С увеличением концентрации раствора ПАВ размер ассоциатов возрастает и образуются мицеллярные ассоциаты, содержащие 20 и более молекул [6]. Переход от первичных ассоциатов к мицеллам происходит скачкообразно при ККМ. В водно-спиртовых растворах молекулы в мицелле ассоциированы так, что полярные группы расположены наружу, а неполярные внутри (рис.1).

С понижением свободной энергии раствора при этом создается поверхность, разделяющая водную фазу с гидрофобной частью ПАВ. Такие

таблица 1.

Выход экстрактивных веществ из листа шалфея лекарственного при различных концентрациях экстрагента

Экстрагенты	Концентрация этанола, %				
	30	40	50	60	70
А	$28,5 \pm 0,4$	$29,3 \pm 0,4$	$30,2 \pm 0,2$	$30,7 \pm 0,4$	$31,5 \pm 0,4$
Б	$30,1 \pm 0,4$	$31,7 \pm 0,4$	$32,8 \pm 0,3$	$32,9 \pm 0,3$	$33,2 \pm 0,4$
С	$28,7 \pm 0,2$	$29,4 \pm 0,3$	$30,5 \pm 0,4$	$30,9 \pm 0,4$	$31,8 \pm 0,2$

А – СЭ, полученный без добавления ПАВ; Б – СЭ, полученный добавлением 1% твина-80;
С – СЭ, полученный путем добавления 1% цетилпиридиния хлорида.

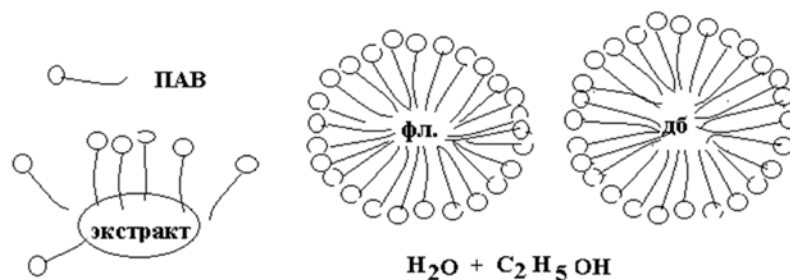


Рис.1. Схематические структуры номинально сферических мицелл: фл. - флавоноиды, и дб. - дубильные вещества.

мицеллы являются солюбилизаторами экстрагируемых компонентов сырья (шалфея). Таким образом, растворимость плохо растворяющихся соединений может быть в значительной степени улучшена использованием растворов мицелл, т.е. мицеллы ПАВ являются превосходными гидротропами. Вероятно, что в присутствии ПАВ растворимость низко растворимых флавоноидов, дубильных веществ возрастает. Полученные данные показывают о том, что разные по природе ПАВ существенно оказывают влияние на химический состав СЭ шалфея.

Для оценки гигроскопичности СЭ, полученных в различных условиях, показали, что порошок шалфея гигроскопичен и в течение 2-х суток набирает массу до 89,8% превращается в жидкую массу. Наблюдения за влагопоглощением показали, что СЭ, полученные в присутствии

твина-80 и цетилпиридиния хлорида в первые сутки сохраняют свой первоначальный вид и содержание влаги уменьшается на 13,5 % и 15,9 %, соответственно, при отсутствии ПАВ. Данные показывают, что СЭ, полученные в присутствии твина-80 и цетилпиридиния хлорида более устойчивы к воздействию влаги (таблица 3). При относительной влажности 100% (время выдерживания образцов 48 ч) уменьшение влагопоглощения СЭ, полученных в присутствии ПАВ составляет 7,6% и 13,3 %. Как показывают данные таблицы 3, по сравнению СЭ шалфея без ПАВ и СЭ, полученного в присутствии цетилпиридиния хлорида и СЭ с твином -80 отличаются малой гигроскопичностью.

Учитывая выход флавоноидов и дубильных веществ, а также уменьшение гигроскопичности

Таблица 2

Основные количественные параметры СЭ, шалфея и СЭ полученных в присутствии ПАВ (экстрагент - 50 % этанол)

№	Основные параметры, %	Количественные показатели		
		СЭ без ПАВ	СЭ с твином-80 1%	СЭ с цетил пиридиний хлоридом 1%
1.	Влажность	4,5	4,43	4,23
2.	Потеря массы при высушивании	4,12	4,22	5,16
3.	Сумма флавоноидов	2,85	3,51	3,02
4.	Дубильные вещества	7,36	8,15	7,55

Таблица 3

Результаты изучения влагопоглощения СЭ шалфея, полученных различными ПАВ

Сухие экстракты	Время водопоглощения, ч				
	6	12	24	36	48
	Изменение массы СЭ, %				
без ПАВ	20,0	36,5	60,1	75,5	89,8
с твином-80	15,1	26,5	46,6	68,3	82,2
с цетилпиридиний хлоридом	14,5	24,2	44,2	64,4	76,5

в случае СЭ, полученного в присутствии твина-80 в дальнейшем исследовали стабильность этого СЭ. Экстракт в течение 2-х лет в условиях естественного хранения по внешним признакам, а также по количеству основных действующих веществ, отвечает требованиям НД.

СЭ шалфея, полученный в присутствии твина-80, может быть контаминирован микроорганизмами. Проведено также испытание этого образца на микробиологическую чистоту согласно указаниям статьи ГФ XI (методы микробиологического контроля лекарственных средств» и Изменения № 2 от 12.10.2005, категория 4Б).

Испытание на микробиологическую чистоту проводили официальным двухслойным агаровым методом в чашках Петри диаметром 90-100 мм. Образец экстракта в количестве 10 г суспендировали в фосфатном буферном растворе (рН 7.0) так, чтобы конечный объем суспензии был 100 мл. Приготовленную суспензию образца вносили в каждую из двух пробирок с 4 мл расплавленной и охлажденной до температуры от 45 до 50°C среды №1. Затем быстро перемешивали содержимое 15-20 мл соответствующей питательной среды. Быстрым покачиванием чашек Петри равномерно распределяли верхний слой агара. После застывания среды чашки перево-

рачивали и инкубировали в течение 5 суток при температуре 35°C. Посевы просматривали ежедневно. Через 48 ч и окончательно через 5 суток подсчитывали число бактериальных колоний на двух чашках, находили среднее значение и умножая на показатель разведения, вычисляли число микроорганизмов в 1 г образца. Результаты испытания приведены в таблице 4.

Определение общего числа грибов проводили описанным выше агаровым методом, используя среду Сабуро. Выявление и идентификацию бактерий семейства Enterobacteriaceae, а также *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* проводили в соответствии с требованиями ГФ XI. Результаты в полной мере отвечают требованиям, предъявляемым к лекарственным препаратам в отношении микробиологической чистоты.

При определении качества экстракта установлено также и содержание токсичных тяжелых металлов – свинца и кадмия. Определение указанных элементов проводили методом атомно-абсорбционной спектроскопии. Минерализацию образцов СЭ шалфея, полученных в присутствии твина-80 осуществляли смесью серной и азотной кислот (1:1). Условия определения

Таблица 4

Показатели микробиологической чистоты СЭ шалфея, полученного в присутствии твина-80

Показатели	Требования нормативных документов (ГФ XI, вып 2 с.193)	Результаты анализа	Соответствие требованиям НД
Общее число аэробных бактерий (в 1 г образца препарата)	Не более 10 ⁵ (суммарно)	1200 КОЕ	Соответствует
Общее число дрожжевых и плесневых грибов (в 1 г образца препарата)	Не более 10 ⁴ (суммарно)	1000 КОЕ	Соответствует
Энтеробактерий и некоторых грам-отрицательных бактерий (в 1 г образца препарата)	Не более 10 ³	Отсутствуют	Соответствует
<i>Escherichia coli</i> , <i>pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> (в 1 г образца препарата)	Не более 10 ²	Отсутствуют	Соответствует
<i>Salmonella</i> (в 10 г образца препарата)	Не допускается наличия	Отсутствуют	Соответствует

Таблица 5

Аналитические параметры атомно-абсорбционного определения элементов

Определяемый элемент	Длина волны, нм	Ширина щели, нм	Условия атомизации	Прибор
Pb	405,8	0,5	Пламя: Ацетилен-воздух (1:1)	Unicam 929 Sistem "Solar"
Cd	405,8	0,5		

приведены в табл. 5. Содержание тяжелых металлов в составе СЭ шалфея полученного в присутствии твина-80 не превышало предельно допустимой границы. Так, содержание кадмия не превышало 0,01 мг/100 мг, а содержание свинца менее 0,015 мг/100 мг.

Таким образом, изучено влияние природы ПАВ на выход экстрагируемых веществ, количество флавоноидов и дубильных веществ, а также на гигроскопичность полученных образцов.

Выводы:

1. Введение ПАВ при получении СЭ шалфея

приводит к возрастанию количества экстрактивных веществ. Неионогенное ПАВ твин-80 более эффективно влияет на процесс экстракции, чем катионные ПАВ.

2. По сравнению с катионоактивным ПАВ, неионогенное ПАВ-твин-80 приводит к заметному возрастанию суммы флавоноидов и дубильных веществ в процессе получения СЭ шалфея.

3. Природа ПАВ оказывает влияние на гигроскопичность полученных СЭ шалфея. Менее гигроскопичными оказались порошки СЭ, полученные в присутствии цетилпиридиния хлорида.

Литература:

1. Ходжиматов Н.Х., Априасиди Г.С., Ходжиматов А.Н. «Дикорастущие целебные растения Средней Азии», изд. Ибн Сино, Ташкент, 1995.-110 с.
2. Мазнев Н.И. Высокоэффективные лекарственные растения / Москва, Изд. Эксмо.-2013.-С.594.
3. Косман В.М., Пожарицкая О.Н., Шиков А.Н., Макаров В.Г., Изучение состава биологически активных веществ сухих экстрактов эхинацеи узколистной и шалфея лекарственного, Химия растительного сырья. 2012, №1. С.153-160.
4. Махкамов Р.Р., Сиражиддинова Д.С., Аминов С.Н., Евдокимов П.К. Экстракция лекарственных веществ с использованием растворов поверхностно-активных производных алкиленилтарных кислот // Кимё ва фармация. – Ташкент, 1993. –№4. –С. 35-39.
5. Вайнштейн В.А., Хаззаа, И.Х., Чибилев Т.Х., Каухова И.Е. Экстрагирование полярных БАВ из травы зверобоя двухфазной системой экстрагентов в присутствии ПАВ // Химико-фармацевтический журнал. – Москва, 2004. – №7. –С. 25-27.
6. Поверхностно-активные вещества: синтез, свойства, анализ, применение/ К.Р.Ланге: под науч. Ред. Л.П.Зайченко.-СПб.: 2007.-242 с.

Ҳ.Р. Тўхтаев, Р.Ш. Зарипова, М.Ф. Ёдгоров

СИРТ-ФАОЛ МОДДАЛАР ИШТИРОКИДА ОЛИНГАН МАРМАРАК ҚУРУҚ ЭКСТРАКТИНИ МИҚДОРИЙ ТАВСИФИ

Мармарак қуруқ экстрактини (КЭ) олишида сирт-фаол моддалар (СФМ) қўшилиши экстракция қилинувчи моддалар (флавоноидлар ва ошловчи моддалар) унумини оширади. Ундан таиқари СФМ мармарак ҚЭнинг нам тортини хоссасини камайтириши аниқланди.

Таянч иборалар: мармарак, қуруқ экстракт, сирт-фаол моддалар, сон кўрсаткичлари, микробиологик тозалиги.

H. R. Tukhtaev, R. Sh. Zaripov, M. F. Yodgorov

QUANTITATIVE ASSESSMENT OF THE QUALITY OF DRY SAGE EXTRACT, OBTAINED IN THE PRESENCE OF SURFACTANTS

It is established that the introduction of surface-active substances (surfactants) in the preparation of a dry extract (SE) sage increases the yield of extractive substances (amount of flavonoids and tannins). In addition, surfactants reduce the hygroscopicity of the obtained SE of sage.

Key words: sage, surfactants, dry extract, standardization, authenticity, values, microbiological purity, stability.

Тошкент фармацевтика
институту

25.04.2017 й.
қабул қилинди