

СТАБИЛЬНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ТРАВЫ ЗВЕРБОБОЯ В КОМПОНЕНТАХ МАЗЕВЫХ ОСНОВ

М.И. Поддубная, В.А. Вайнштейн, докт. фарм. наук, профессор
Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия;
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14

E-mail: m_tsygankova84@mail.ru

Последовательная экстракция травы и цветков зверобоя экстрагентами с возрастающей полярностью позволяет получать извлечения с широким спектром биологически активных веществ зверобоя: антраценпроизводных, флавоноидов, хлорофиллов. Изучена стабильность масляных экстрактов травы зверобоя в различных компонентах мазевых основ. Подобран состав мазевой основы, обеспечивающий наибольшую сохранность флавоноидов, антраценпроизводных и хлорофиллов в процессе хранения.

Ключевые слова: трава зверобоя, масляный экстракт, мазевые основы, стабильность.

В траве зверобоя продырявленного содержится широкий спектр биологически активных веществ (БАВ), в том числе флавоноиды, антраценпроизводные, хлорофиллы и др. Последние и обуславливают фармакологические свойства экстрактов зверобоя. Изменения, происходящие в процессе хранения растительных экстрактов, специфичны для конкретного типа экстракта. Изучение стабильности экстрактов позволяет получить информацию об изменении качества препарата с течением времени в зависимости от влияния факторов окружающей среды и разработать способы повышения устойчивости лекарственных препаратов (ЛП) к воздействию внешних факторов [1]. Уже на этапе разработки готовой лекарственной формы (ГЛФ) лекарственного средства может быть достигнуто повышение стабильности, в частности путем изучения свойств и обоснованного выбора вспомогательных веществ.

Для оценки стабильности и определения сроков хранения растительных экстрактов в последнее время часто применяют метод «ускоренного старения» [1].

Цель данного этапа исследования — изучение стабильности экстрактов травы зверобоя в различных компонентах мазевых основ и выбор состава мазевой основы, который обеспечивал бы наибольшую сохранность целевых групп БАВ зверобоя (флавоноидов, антраценпроизводных и хлорофиллов) в процессе хранения.

Экспериментальная часть

Объектами исследования служили экстракты травы зверобоя продырявленного, полученные методами двухфазной экстракции с минимальным количеством полярной фазы и полиэкстракции рядом органических растворителей с возрастающей полярностью с последующим переводом экстрактивных веществ в компоненты мазевых основ [5].

Методом двухфазной экстракции, позволяющей повысить выход извлекаемых БАВ [3], были получены масляные экстракты травы зверобоя с использованием касторового (КсМ), кукурузного (КкМ) и вазелинового масел (ВМ). Для этого к навеске сырья прибавляли водно-спиртовую смесь и масло в соответствии с планом эксперимента (см. таблицу), затем проводили мацерацию при температуре $70 \pm 5^\circ\text{C}$ в вакуум-пульсирующем режиме в течение предварительно установленного времени достижения равновесия — 2 ч. Далее масляный слой отделяли от набухшего шрота и осветляли фильтрацией через пористый целлюлозный фильтр.

Для изучения стабильности полученных образцов экстрактов методом «ускоренного старения» во флаконы емкостью 20 мл вносили по 500 мг (точные навески) образцов. Флаконы маркировали и помещали в термостат с температурой $50 \pm 2^\circ\text{C}$. Через промежутки времени, равные 2, 5, 9 сут, в образцах спектрофотометрическим методом определяли содержание флавоноидов, антраценпроизводных и суммы хлорофиллов (СХл).

При определении флавоноидов в мерную колбу вносили образец экстракта, приливали двукратный объем 5% спиртового раствора алюминия хлорида, доводили до метки 95% этиловым спиртом, перемешивали, выдерживали 30 мин. Для приготовления раствора сравнения в мерную колбу вносили образец экстракта, доводили до метки 95% этиловым спиртом, перемешивали. В случае помутнения раствора отфильтровывали через пористый целлюлозный фильтр.

**ПЛАН ЭКСПЕРИМЕНТА ДВУХФАЗНОЙ ЭКСТРАКЦИИ ТРАВЫ ЗВЕРБОЯ
И КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МАСЛЯНЫХ ЭКСТРАКТОВ**

Показатель	Масло касторовое				Кукурузное	Вазелиновое
	№ образца					
	1	2	3	4	5	6
Количество травы звербоя, г	10	10	10	5	10	10
Количество масла, г	10	25	50	50	50	50
Объем 95% этилового спирта, мл	14	14	14	7	14	14
Объем воды, мл	6	6	6	3	6	6
Концентрация БАВ в экстракте						
Хл, мг%	—	32,0±2,1	14,8±0,8	7,9±0,6	15,1±0,8	6,9±0,5
АП, мг%	—	15,3±0,9	7,4±0,5	5,6±0,1	—	—
Фл, %	—	0,33±0,04	0,13±0,04	0,095±0,03	—	—

Примечание: Хл – хлорофиллы; АП – антраценпроизводные, Фл – флавоноиды.

Измеряли оптическую плотность раствора в интервале длин волн 350–500 нм в кюветках с толщиной слоя 10 мм. В качестве аналитической использовали длину волны максимума поглощения при 412±2 нм (рис.1).

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора стандартного образца (PCO) рутина после проведения реакции комплексообразования с раствором алюминия хлорида, приготовленного по фармакопейному способу (ГФ XI).

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в экстрактах в мг/% (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D \cdot R \cdot C_0}{C \cdot R_0 \cdot D_0},$$

где D – оптическая плотность рабочего раствора; D₀ – оптическая плотность раствора ГСО рутина; R, R₀ – разведение растворов образца и рутина соответственно (R=20); C, C₀ – концентрации испытуемого раствора и раствора ГСО рутина соответственно, мг/мл.

Содержание антраценпроизводных и хлорофиллов рассчитывали методом прямой спектрофотометрии. Для приготовления рабочего раствора в мерную

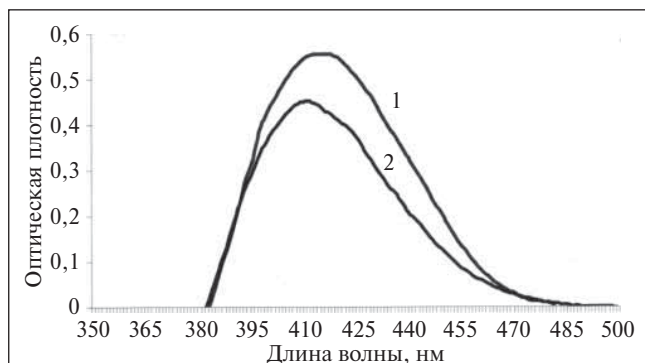


Рис. 1. УФ-спектр раствора PCO рутина (1) и раствора экстракта звербоя (2)

колбу вносили образец экстракта, доводили до метки 95% этиловым спиртом, перемешивали. В случае помутнения растворы отфильтровывали через пористый целлюлозный фильтр.

Антраценпроизводные имеют характерный спектр с 2 максимумами при 540±2 и 590±2 нм (рис. 2). В качестве аналитической была выбрана длина волны 590±2 нм. Измеряли оптическую плотность в кюветках с толщиной слоя 1 см. Раствором сравнения служил 95% этиловый спирт.

Содержание антраценпроизводных в пересчете на гиперин (X) в мг/% рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{D \cdot P \cdot 1000}{718},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; P – кратность разведения раствора (P=9); 718 – удельный показатель поглощения гиперина при длине волны 590 нм; 1000 – пересчет концентрации в мг/%.

При определении содержания суммы хлорофиллов оптическую плотность вычисляли при 665±2 нм – длина волны максимума поглощения в спектре хлорофиллов (см. рис. 2). Содержание суммы хлорофиллов в пересчете на феофитин А (X) в мг/% рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{D \cdot P \cdot 1000}{755},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; P – кратность разведения раствора; 755 – удельный показатель поглощения хлорофилла при 668 нм; 1000 – пересчет концентрации в мг/%.

Результаты исследования показали, что при двухфазной экстракции флавоноиды, антраценпроизводные и хлорофиллы наиболее устойчивы в касторовом масле, так как, возможно, касторовое масло по сравнению с остальными растительными маслами более устойчиво к окислению (рис. 3). Экстракты с касто-

ровым маслом также содержали наибольшее количество целевых групп БАВ травы зверобоя продырявленного (флавоноидов, антраценпроизводных, хлорофиллов). Кукурузное и вазелиновое масла извлекали только хлорофиллы (см. таблицу).

На основании полученных данных в качестве жидкого компонента масляной основы было выбрано касторовое масло.

Жидкий полиэкстракт травы зверобоя получали методом бисмацерации при температуре от 60 до 80°C последовательно рядом органических растворителей с возрастающей полярностью: ацетон – спирт этиловый 95% – спирт этиловый 70% [2]. Количественное содержание БАВ в полученном полиэкстракте травы зверобоя продырявленного (ПЭЗ) определяли спектрофотометрическим методом.

В дальнейшем полиэкстракт упаривали в ротаторно-вакуумном испарителе в присутствии рассчитанных количеств компонентов масляных основ: гидрофобных (КМ), гидрофильных (сплав полиэтиленгликолей – ПЭГ 400:1500), композиции компонентов (ПЭГ 400:1500, КМ, твин-80, моноглицериды дистиллированные – МГД). Для получения безводного продукта образцы досушивали до постоянной массы в сушильном шкафу при температуре $70 \pm 2^\circ\text{C}$ и вакуум-эксикаторе. Затем исследовали стабильность образцов экстрактов методом «ускоренного старения» при температуре 50°C . Методика исследования и параметры процесса аналогичны методике исследования масляных экстрактов травы зверобоя, полученных двухфазной экстракцией.

В ходе исследования установлено, что инактивация основных БАВ травы зверобоя в дифильной безводной основе протекает в среднем на 20–30% медленнее, чем в отдельных компонентах

основы (гидрофильных и гидрофобных), а также медленнее, чем в извлечениях, полученных методом двухфазной экстракции (рис.4). Это может быть обусловлено введением в состав основы эмульгаторов, которые способствуют образованию высокодисперсной устойчивой эмульсии. При этом затрудняется доступ кислорода к растворенным БАВ, снижается скорость их окисления, вследствие чего повышается стабильность полиэкстракта зверобоя.

Таким образом, экспериментально обоснован метод получения и состав масляной основы, при котором достигается наибольшая стабильность основных групп БАВ зверобоя: флавоноидов, антраценпроизводных и хлорофиллов.

Выводы

1. Стабильность флавоноидов, антраценпроизводных и хлорофиллов в масляных экстрактах с касторовым маслом выше, чем в масляных экстрактах с вазелиновым и кукурузным маслами.

2. Масляные экстракты с касторовым маслом, полученные методом двухфазной экстракции, содержат основные группы БАВ травы зверобоя: флавоноиды, антраценпроизводные, хлорофиллы. Масляные экстракты с кукурузным и вазелиновым маслами, полученные аналогичным методом, содержат только хлорофиллы, причем количество их меньше, чем в экстрактах с касторовым маслом.

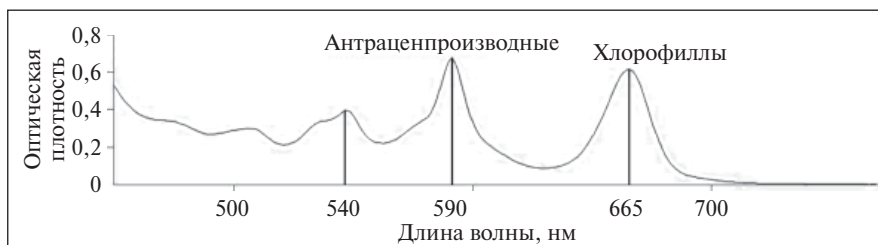


Рис. 2. Спектр экстракта зверобоя в интервале длин волн 450–700 нм

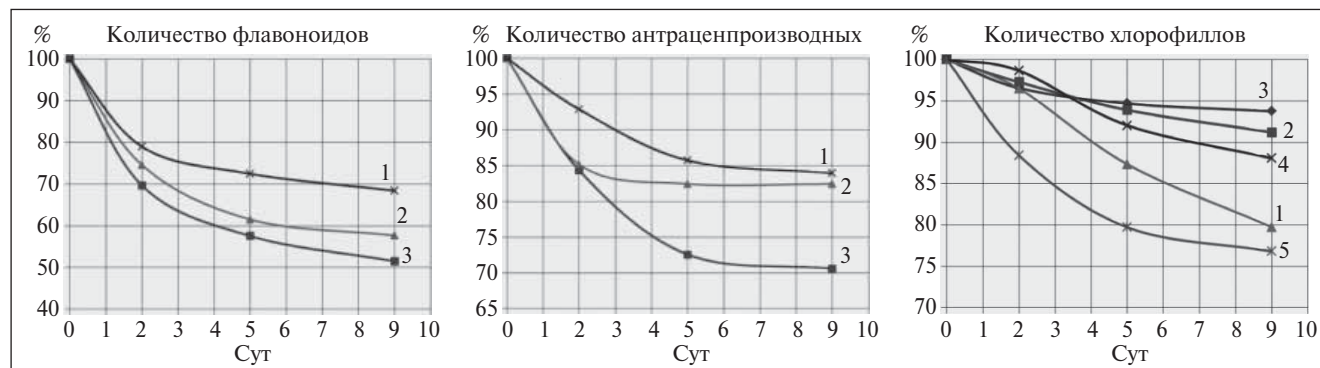


Рис. 3. Кривые кинетики снижения содержания флавоноидов, антраценпроизводных и хлорофиллов в масляных экстрактах зверобоя. По оси абсцисс – время экспозиции при температуре 50°C ; по оси ординат – количество от исходного содержания; модуль экстракции «касторовое масло:сырье»: 1 – (10:1); 2 – (5:1); 3 – (2,5:1); модуль экстракции «кукурузное масло:сырье»: 4 – (5:1); модуль экстракции «вазелиновое масло:сырье»: 5 – (5:1)

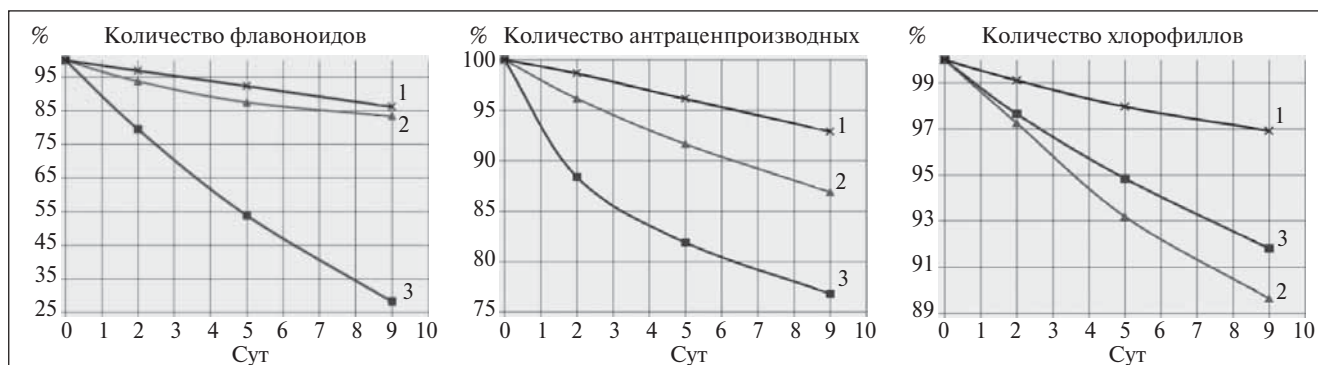


Рис. 4. Кривые кинетики снижения содержания флавоноидов, антраценпроизводных и хлорофиллов в компонентах мазевых основ. По оси абсцисс – время экспозиции при температуре 50°C; по оси ординат – количество от исходного содержания; 1 – ПЭЗ в основе; 2 – ПЭЗ в ПЭГ 400:1500; 3 – ПЭЗ в касторовом масле

3. Флавоноиды, антраценпроизводные и хлорофиллы в дифильной абсорбционной мазевой основе стабильнее, чем в отдельных (гидрофильных и гидрофобных) компонентах.

4. Выбран и экспериментально обоснован способ получения и состав мазевой основы, при котором достигается наибольшая стабильность основных групп БАВ зверобоя.

ЛИТЕРАТУРА

1. Темердашев З.А., Фролова Н.А., Цюпко Т.Г., Чупрынина Д.А. Оценка стабильности фенольных соединений и флавоноидов в лекарственных растениях в процессе их хранения. *Химия растительного сырья*, 2011; 4: 193–198.
2. Цыганкова М.И., Вайнштейн В.А., Теслев А.А. Получение экстракта травы зверобоя продырявленного в компонентах мазевых основ. *Фармация*, 2013; 8: 30–32.

3. Вайнштейн В.А., Каухова И.Е. Двухфазная экстракция в получении лекарственных и косметических средств. СПб.: Проспект Науки, 2010.

4. Беликов В.Г. Анализ лекарственных веществ фотометрическими методами. *Российский химический журнал*, 2002; 4: 52–56.

5. Шиков А.Н., Макаров В.Г., Рыженков В.Е. Растительные масла и масляные экстракты: технология, стандартизация, свойства. *М.:Русский врач*, 2004; 100–102.

6. Хаззаа И.Х. Экстракция травы зверобоя и сушеницы двухфазными системами растворителей с применением ПАВ: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. СПб., 2004, 23.

7. Куркин В.А., Правдивцева О.Е. Сравнительное исследование содержания суммы флавоноидов и антраценпроизводных в препаратах травы зверобоя. *Хим.-фарм. журн.*, 2008; 10: 39–42.

8. Сёмкина О.А. Мази, гели, линименты и кремы, содержащие фитопрепараты. *Хим.-фарм. журн.*, 2005; 7: 30–36.

Поступила 24 ноября 2014 г.

STABILITY OF ST. JOHN'S WORT (*Hypericum perforatum* L.) EXTRACTS IN THE COMPONENTS OF OINTMENT BASES

M.I. Poddubnaya; Professor V.A. Vainshtein, PhD

Saint Petersburg State Chemopharmaceutical Academy; 14, Prof. Popov St., Saint Petersburg 197376

SUMMARY

An accelerated ageing method was used to investigate the stability of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) extracts in different components of ointment bases. The extracts were prepared by two-phase extraction with the minimum amount of polar phase and by polyextraction with a number of organic solvents of increasing polarity, followed by conversion of extractive substances to the components of ointment bases. Castor oil, corn oil, and petrolatum, polyethylene glycol alloy, and a diphilic composition of the components were studied as ingredients of ointment bases. The stability of the extracts was estimated by changes in the content of biologically active substances (BAS), such as anthracene derivatives, flavonoids, and chlorophylls, was estimated. The choice of a procedure to prepare an ointment base and its composition ensuring the highest stability of targeted St. John's wort BAS groups has been experimentally substantiated.

Key words: St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.), oily extract, ointment bases, stability.

REFERENCES

1. Temerdashev, Z.A., Frolova, N.A., Tsyupko, T.G., Chupryнина, D.A. Evaluation of the stability of phenolic compounds and flavonoids in medicinal plants during storage. *Chemistry of medicinal herbs*, 2011; 4: 193–198 (in Russian).
2. Tsygankova M.I., Vainshtein V.A., Teslev A.A. Preparation of the extract herb St. John's wort in the components of ointment bases. *Farmatsiya*, 2013; 8: 30–32 (in Russian).
3. Vainshtein V.A., Kauhova I.E. The two-phase extraction in medicines and cosmetics preparation. SPb.: Prospekt nauki, 2010 (in Russian).
4. Belikov V.G. Analysis of drug substances using photometric methods. *Russian Chemical Journal*, 2002; 4: 52–56 (in Russian).
5. Shikov A.N., Makarov V.G., Rizhenkov V.E. Vegetable oils and oil extracts: technology, standardization, the properties. *Ruskiy vrach*, 2004; 3: 100–102 (in Russian).
6. Hazzaa I.H. Extraction of herb St. John's wort and cottonweed two-phase solvent systems with the use of surfactants. Author's abstract of dissertation of the candidate of pharmaceutical sciences. SPb, 2004; 23 (in Russian).
7. Kurkin V.A., Pravdivtseva O.E. A comparative study of the content of total flavonoids and anthrones in St. John's wort herb medicines. *Chemical and Pharmaceutical Journal*, 2008; 10: 39–42 (in Russian).
8. Siomkin O.A. Ointments, gels, liniments and creams containing herbal medicines. *Chemical and Pharmaceutical Journal*, 2005; 7: 30–36 (in Russian).