

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНТИРАДИКАЛЬНЫХ СВОЙСТВ И ДРУГИХ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПРОМЫШЛЕННЫХ ОБРАЗЦОВ ВОДНОПРОПИЛЕНГЛИКОЛЕВЫХ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Волков В.А.¹, Ли Ю.С.², Воронков М.В.³, Лапина Г.П.³, Завьялов А.Ю.¹,
Мисин В.М.¹

¹ ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН
г. Москва, РФ

² ООО «Завод эндокринных ферментов»
г. Москва, РФ

³ ФГБОУ ВО Тверской государственный университет
г. Тверь, РФ; e-mail: vl.volkov@mail.ru

Поступила в редакцию: 02.07.2018.

Аннотация. Исследованы физико-химические свойства наиболее востребованных в косметической промышленности видов воднопропиленгликолевых экстрактов растений, содержание в них флавоноидов и антирадикальных антиоксидантов и стабильность этих веществ при хранении. Проведен корреляционный анализ полученных результатов. Полученные данные могут быть использованы при разработке методов производственного контроля.

Ключевые слова: антиоксиданты, флавоноиды, пропиленгликолевые экстракты, ДФПГ, амперометрия.

Большая часть сведений о растительных экстрактах, опубликованных в научной литературе, а также методик их анализа, относится к водно-этанольным или CO₂-извлечениям. Однако, в связи с неприменимостью этанола в большинстве косметических композиций, для извлечения веществ со средней и высокой полярностью, в том числе фенольных антиоксидантов (флавоноиды и их гликозиды, фенолкарбоновые и оксикоричные кислоты, стильбены, ауруны, халконы и др), применяются экстрагенты на основе 1,2-пропиленгликоля. Получаемые таким образом экстракты пока остаются малоизученными с химической точки зрения.

При этом, в спецификациях на экстракты, как правило, приводятся лишь сведения, требуемые действующими нормативно-правовыми актами, но не связанные с их биологической активностью (плотность, показатель преломления, массовая доля нелетучих веществ). Процент сухого остатка, хотя и характеризует степень насыщенности продукта экстрактивными веществами, тем не менее, напрямую не характеризует их полезные свойства, и, вследствие длительности исполнения, неприменим в качестве метода экспресс-контроля производственного процесса.

В большей части фармакопейных статей Государственной фармакопеи РФ, посвященных лекарственному растительному сырью, в качестве основного метода количественного контроля содержания биологически активных соединений приводится анализ флавоноидов, основанный фотометрировании комплекса этих веществ с катионом Al³⁺ в диапазоне длин волн 408–415 нм [1]. Комплекс с AlCl₃ даёт смещение максимума поглощения с 350–380 нм на 50 нм в длинноволновую область (батохромный сдвиг) [2].

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экстракция сухого лекарственного растительного сырья 50 % водным 1,2-пропиленгликолем осуществлялась при массовом отношении сырья и экстрагента 1:19 при температуре 50 °С в течение 4 часов в условиях постоянного перемешивания.

Количественный анализ антирадикальных АО осуществлялся по методу, основанному на спектрометрическом наблюдении за их взаимодействием со стабильным хромоген-радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом, а также с помощью амперометрии (прибор ЦветЯуза-01-АА) [3, 4]. Анализ флавоноидов проводился по модифицированной методике Государственной фармакопеи XIII издания, основанной на комплексообразовании некоторых групп флавоноидов с катионом Al³⁺ (в качестве реакционной среды служила смесь воды и пропиленгликоля в объемном отношении 1:1) [3, 4]. Измерение содержания сухого остатка также проводилось по модифицированной методике по методике Государственной фармакопеи XIII издания, температура выпаривания экстрагента, учитывая температуру кипения 1,2-пропиленгликоля, была повышена до 184–189 °С.

Исследование стабильности концентрации флавоноидов осуществляли при хранении экстрактов при комнатной температуре. Стабильность концентрации антирадикальных АО исследовалась при хранении экстрактов в холодильнике при 4 °С.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

УФ-спектроскопические характеристики всех исследованных экстрактов в диапазоне длин волн свыше 250 нм определяются наличием фенольных соединений [5] (рис. 1), которые дают характерный пик около 270 нм, в спектрах некоторых экстрактов несколько смещенный в длинноволновую (шалфей, сабельник) или коротковолновую область (календула). В области 310-370 нм большинство экстрактов также имеют пик или плечо. Несмотря на общие черты, формы спектров достаточно индивидуальны и могут быть использованы в качестве одного из критериев подлинности экстракта и сырья [6].

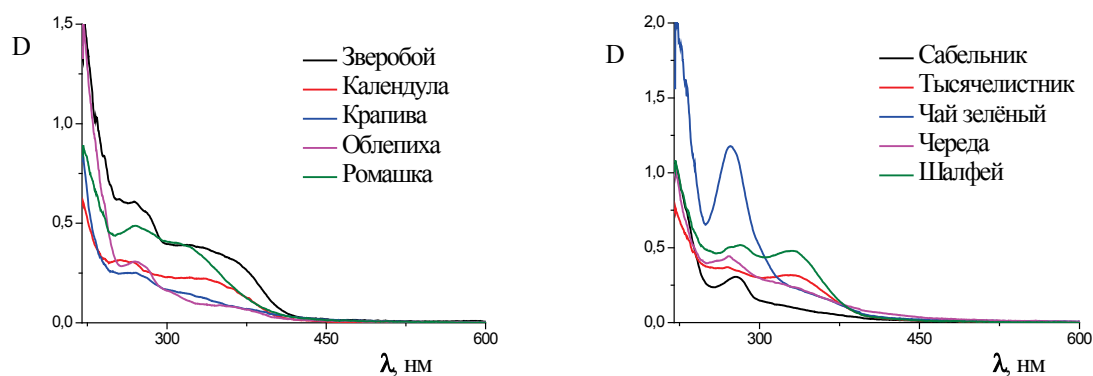


Рисунок 1. УФ-спектры исследуемых воднопропиленгликолевых экстрактов лекарственных растений при 100-кратном разбавлении

Повторяемость форм спектральных кривых и значений длин волн максимумов и минимумов поглощения в спектрах экстрактов ромашки аптечной, полученных из сырья разных партий от разных поставщиков, продемонстрирована на рисунке 2 и в таблице 1.

Данные, приведенные в таблице 1, демонстрируют, что более высокие значения оптических плотностей в максимумах соответствуют экстрактам, содержащим большее количество флавоноидов и сухого остатка. Результаты исследования по всем вышеназванным параметрам были значительно выше у экстракта, приготовленного из сырья, более качественного по внешним признакам (рис. 3, слева). Сырье более низкого качества, кроме того, характеризовалось иным соотношением оптических плотностей в максимумах спектра экстракта ромашки (п. 2 табл. 1).

Полосы поглощения большинства фенольных соединений имеют большую ширину и сильно перекрываются. Главные максимумы в спектрах поглощения фенольных соединений определяются $\pi \rightarrow \pi^*$ переходами в сопряженных ароматических системах, интенсивность которых коррелирует с длиной цепи сопряжения и наличием заместителей. Поэтому молярные коэффициенты экстинкции этих веществ в близких по величине длин волн максимумов также имеют значения в пределах одного порядка. Это позволяет проводить их количественную оценку методом прямого фотометрирования относительно калибровочного графика какого-либо стандартного образца, что очень удобно для текущего контроля производственных процессов вследствие простоты и экспрессности (рис. 4).

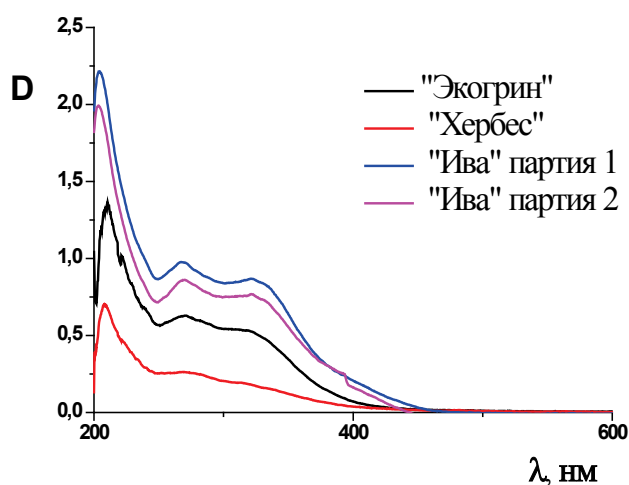


Рисунок 2. Повторяемость спектральных кривых воднопропиленгликолевых экстрактов ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.), полученных из сырья разных производителей

Таблица 1. Физико-химические показатели воднопропиленгликолевых экстрактов ромашка аптечной (*Matricaria chamomilla* L.), полученных из сырья разных производителей

№ п/п	Производитель сырья	Время экстракции, ч	$D_{\max 1}^*$	$D_{300\text{nm}}^*$	$D_{321\text{nm}}^*$	$D_{\max 1}/D_{321}$	Масса сухого остатка, %	Содержание флавоноидов, мг/л (по рутину)
1	ООО «Экогрин»	4	0,63 (271 нм)	0,54	0,53 (плечо)	1,19	0,79	0,23
2	ООО «Хербес»	4	0,26 (266 нм)	0,19	0,18 (плечо)	1,44	0,40	0,08
3	ООО «ИВА» (партия 1)	3	0,98 (267 нм)	0,84	0,87	1,13	1,33	0,82
4	ООО «ИВА» (партия 2)	4	0,86 (270 нм)	0,75	0,77	1,12	-	-

*Значения оптических плотностей измерены при 100-кратном разбавлении исходного экстракта.

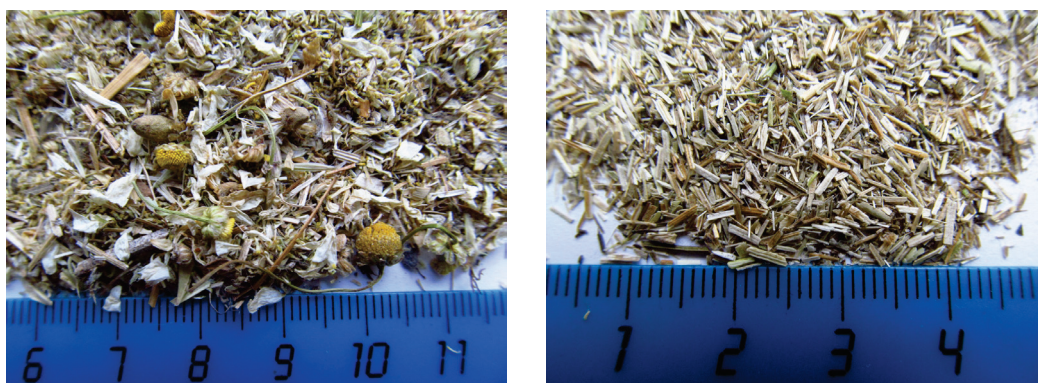


Рисунок 3. Сравнительная оценка по внешним признакам качества сырья ромашки аптечной использованного для получения экстрактов. Слева – ООО «Экогрин», справа – ООО «Хербес»

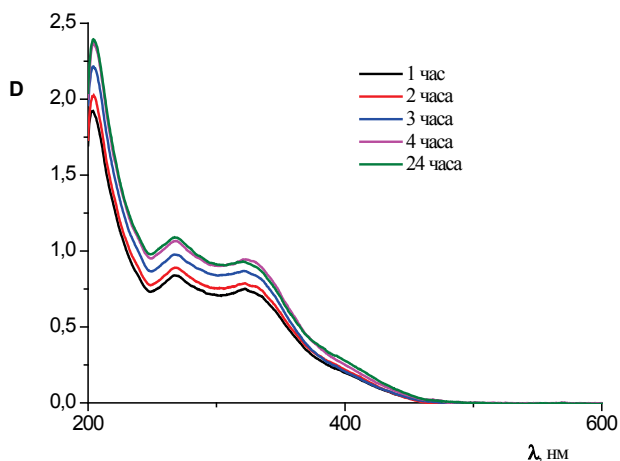


Рисунок 4. Нарастание интенсивности спектров поглощения фенольных соединений ромашки аптечной в ходе экстракции 50%-ным водным пропиленгликолем при температуре 50 °С

Очевидно, что при выбранных условиях процесс экстракции через 4 часа после начала можно считать практически завершенным.

С целью сравнительной оценки физико-химических свойств воднопропиленгликолевых экстрактов, были проведены исследования, результаты которых представлены в таблице 2.

Таблица 2. Результаты исследования физико-химических характеристик и содержания биологически активных веществ в воднопропиленгликолевых экстрактах 10 лекарственных растений

№ п.п.	Наименование и использованная часть растения	% сухого в-ва	Концентрация флавоноидов мг/л (в сравнении со стандартным образцом рутина)	$D_{270 \text{ nm}}$	Содержание антиоксидантов, мг/л (в сравнении со стандартным образцом галловой кислоты)	
					ДФПГ-тест	амперометрия
1	Зверобой продырявленный (трава)	0,94	734	0,61	1110	304
2	Календула лекарственная (цветки)	0,91	276	0,3	124	213
3	Крапива двудомная (листья)	0,63	62	0,25	7,6	312
4	Облепиха крушиновидная (плоды)	0,61	95	0,3	660	232
5	Ромашка аптечная (цветки)	0,66	230	0,49	32	230
6	Сабельник болотный (трава)	0,37	38	0,3	730	150
7	Тысячелистник обыкновенный (трава)	0,52	285	0,37	254	192
8	Чай зеленый (листья)	1,51	258	1,17	2790	697
9	Черда трехраздельная (трава)	0,86	109	0,44	54	245
10	Шалфей лекарственный (листья)	0,72	385	0,5	580	220

Таблица 3. Коэффициенты парной корреляции (Пирсона) между измеренными параметрами воднопропиленгликолевых экстрактов разных растений

	% сухого в-ва	Концентрация флавоноидов	D_{max} при 270 нм	Содержание антиоксидантов по амперометрии
Содержание антиоксидантов по ДФПГ	0,74	0,26	0,89	0,85
Содержание антиоксидантов по амперометрии	0,88	0,13	0,90	-
D_{max} при 270 нм	0,87	0,35	-	-
Концентрация флавоноидов	0,35	-	-	-

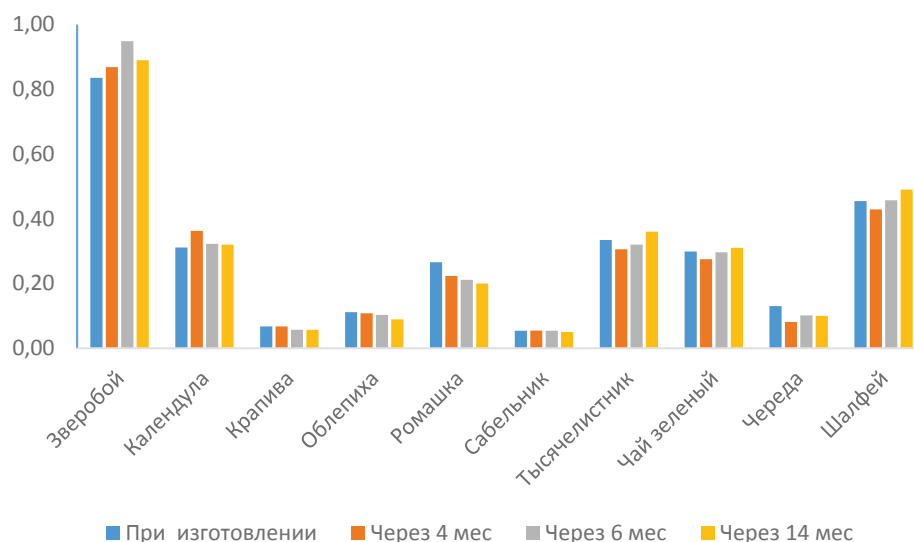


Рисунок 5. Динамика содержания флавоноидов в воднопропиленгликолевых экстрактах при хранении при 4 °С по данным фотометрического анализа комплексов с хлоридом алюминия.

Данные о содержании антиоксидантов, оптической плотности на 270 нм и относительному содержанию сухого остатка демонстрируют тесную корреляционную связь. Однако, показатель содержания флавоноидов не коррелирует ни с одним из этих параметров (табл. 3), хотя флавоноиды относятся к антиоксидантам и имеют интенсивные полосы поглощения на длине волны 270 нм. Таким образом, флавоноиды, образующие комплекс с катионом алюминия, поглощающий при 414 нм, не являются определяющими для антирадикальных и антиоксидантных свойств воднопропиленгликолевых экстрактов растений.

Исследования стабильности содержания флавоноидов, проведенные на протяжении 14 месяцев хранения при комнатной температуре (рис. 5), продемонстрировали отсутствие статистически значимых изменений вышеприведенных параметров, что позволяет осуществлять хранение экстрактов в течение указанного срока при сохранении полезных свойств. В течение аналогичного периода времени экстракты были стабильны и по концентрации антирадикальных антиоксидантов при хранении в холодильнике при температуре 4 °С.

Список литературы / References:

1. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издание, том 1, Москва, 2015, ОФС.1.2.1.1.0003.15 [State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIII edition, vol. 1, Moscow, 2015, OFS. 1.2.1.1.0003.15 (In Russ.)]
2. Куркина А.В. Экспериментально-теоретическое обоснование подходов к стандартизации сырья и препаратов фармакопейных растений, содержащих флавоноиды. Автореф. дисс. ... д-ра фармацевтических наук. Самара, 2013, 48 с. [Kurkina A.V. *Experimental-theoretical substantiation of approaches to standardization of raw materials and preparations of pharmacopoeial plants containing flavonoids*. The dissertation author's abstract on the competition of a scientific degree of Doctor of Pharmaceutical Sciences. Samara, 2013, 48 p. (In Russ.)]
3. Bondet W., Brand-Williams W., Berset C. *Lebensm.-Wiss u.-Technol.*, 1997, vol. 30, pp. 609-615.
4. Волков В.А., Сажина Н.Н., Пахомов П.М., Мисин В.М. *Химическая физика*, 2010, т. 29, № 8, с. 73-77. [Volkov V.A., Sazhina N.N., Pakhomov P.M., Misin V.M. *Chemical Physics*, 2010, vol. 29, no. 8, pp. 73-77. (In Russ.)]
5. Блажей А., Шутый Л. *Фенольные соединения растительного происхождения*. М.: Мир, 1977, 239 с. [Blazhey A., Shutuy L. *Phenolic compounds of plant origin*. M.: Mir, 1977, 239 p. (In Russ.)]
6. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издание, том 3, ФС.2.5.0037.15 [State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIII edition, vol. 3, FS.2.5.0037.15 (In Russ.)]

COMPARATIVE ANALYSIS OF ANTIRADICAL PROPERTIES AND OTHER PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF INDUSTRIAL SAMPLES OF WATER-PROPYLENE GLYCOL ETRACTS OF MEDICINAL PLANTS

Volkov V.A.¹, Li Yu.S.², Voronkov M.V.³, Lapina G.P.³, Zavyalov A.Yu.¹, Misin V.M.¹

¹ Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences

Moscow, Russia

² Endocrine Enzyme Plant

Moscow, Russia

³ Tver State University

Tver, Russia; e-mail: vl.volkov@mail.ru

Abstract. The physicochemical properties of water-propylene glycol plant extracts most popular in the cosmetic industry, the content of flavonoids and anti-radical antioxidants and their stability during storage, were studied. A correlation analysis of the results was carried out. The obtained data can be used for the development of production control methods.

Key words: *antioxidants, flavonoids, propylene glycol extracts, DPPH, ammetry.*