

УДК 615.451.16

DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-2-0-10

Огай М.А., Ковтун Е.В.,
Чахирова А.А.,
Саморядова А.Б.,
Богатырева З.Н.

**РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ ФИТОЭКСТРАКТОВ,
СОДЕРЖАЩИХ ФЛАВОНОИДЫ**

Пятигорский медико-фармацевтический институт-филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет»,
357532, Россия, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11
E-mail: elena.f.73@mail.ru

Аннотация. *Актуальность.* Существующие методы получения фитокомплексов и оценки качества лекарственных форм с ними не всегда позволяют оценить действительный состав и возможности. Представлены новые подходы к технологии получения и стандартизации жидких экстрактов гинкго двулопастного (*Ginkgo biloba* L.) и астрагала серпоплодного (*Astragalus falcatus*). *Цель исследования.* Разработка и оценка методов стандартизации полученных экстрактов. *Материалы и методы.* Объектами исследования являются: трава астрагала серпоплодного и листья гинкго билоба, жидкие экстракты на их основе. Методы исследования: для экстракта из листьев гинкго билоба – спектрофотометрия (СФ-56), регистрировался батохромный сдвиг полосы поглощения флавоноидов с 330-350 до 390-410 нм. Идентификацию флавоноидов в экстракте жидком гинкго билоба листьев проводили с помощью хроматографии в тонком слое сорбента на пластинах «Сорбфил» с флуоресцентным индикатором в смеси хлороформ-метанол-вода. Количественное содержание суммы флавоноидов в спиртовом извлечении из астрагала серпоплодного определяли спектрофотометрически с использованием стандартного образца (Robinin, Kaempferol 3-O-robinoside-7-O-rhamnoside, Sigma). Показания снимали на спектрофотометре ЮНИКО 2802S при длине волны 352-356 нм. В качестве раствора сравнения использовали 70% этанол. *Результаты.* Было установлено, что оптимальными методами экстракции из гинкго билоба является динамический метод. Для гинкго двулопастного оптимальным является метод реперколяции. Оптимальным методом экстракции из астрагала серпоплодного является метод бисмацерации. Количественное содержание определяли в обоих случаях методом спектрофотометрии. В жидком экстракте листьев гинкго двулопастного содержится около 5.0 % суммы флавоноидов в пересчете на рутин (дифференциальная спектрофотометрия). В спирто-водном извлечении из травы астрагала серпоплодного экстрактивные вещества – до 30.0%, содержание флавоноидов – не менее 4.5% в пересчете на робинин. *Заключение.* Изучены технологические параметры сырья, разработаны оптимальные условия экстракции, методики количественного определения суммы флавоноидов в экстрактах из листьев гинкго билоба, травы астрагала серпоплодного валидированы.

Ключевые слова: астрагал серпоплодный; робинин; гинкго билоба; жидкие экстракты; гинкгофлавоногликозиды; терпенолактоны; гинкголевые кислоты; спектрофотометрия.

Информация для цитирования: Разработка и исследование фитоекстрактов, содержащих флавоноиды / М.А. Огай [и др.] // Научный результат. Медицина и фармация. 2018. Т. 4, N 2. С.90-103. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-2-0-10

М.А. Ogay, E.V. Kovtun,
А.А. Chakhirova,
А.В. Samoryadova,
З.Н. Bogatyreva

**DEVELOPMENT AND INVESTIGATION
OF PHYTOEXTRACTS CONTAINING FLAVONOIDS**

Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute of Volgograd Medical State University
of the Ministry of Health Care of Russia,
11 Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532
E-mail: elena.f.73@mail.ru

Abstract. *Background.* Existing methods for obtaining phytocomplexes and evaluating the quality of their dosage forms do not always enable to evaluate the actual composition and its potential. The article presents some new approaches to the technology of obtaining and standardizing liquid extracts of ginkgo biloba (*Ginkgo biloba* L.) and sicklepod (*Astragalus falcatus*). *The aim of the study.* To develop and evaluate methods for standardizing the received extracts. *Materials and methods.* The objects of the study are: grass astragalus falcatus, leaves of ginkgo biloba, and their liquid extracts. Methods of investigation: for the extract from the leaves of ginkgo biloba – spectrophotometry (SF-56), a bathochromic shift of the absorption band of flavonoids from 330-350 to 390-410 nm was recorded. Identification of flavonoids in the extract of liquid ginkgo biloba leaves was carried out by chromatography in a thin layer of sorbent on "Sorbfil" plates with a fluorescent indicator in a chloroform-methanol-water mixture. The quantitative content of the sum of flavonoids in the alcohol-water extract from astragalus serotypes was determined spectrophotometrically using a standard sample (Robinin, Kaempferol 3-O-robinoside-7-O-rhamnoside, Sigma). The readings were taken on a UNICO 2802S spectrophotometer at a wavelength of 352-356 nm. 70% ethanol was used as the reference solution. *Results.* It was found that the optimal extraction method from ginkgo biloba is the dynamic method. For ginkgo biloba, the repercolation method is optimal. The optimal method of extraction from astragalus serotoplodny is the method of bismatching. The quantitative content was determined in both cases by spectrophotometry. The liquid extract of ginkgo biloba leaves contains about 5.0% of the sum of flavonoids in terms of routine (differential spectrophotometry). In alcohol-water extracts from the herb of astragalus, the extracts are up to 30.0%, the content of flavonoids is no less than 4.5% in terms of robinin. *Conclusion.* The technological parameters of raw materials were studied, the optimal extraction conditions, the methods for quantifying the amount of flavonoids in extracts from the leaves of ginkgo biloba, and the astragalus seroplodal herbs were validated.

Keywords: Astragalus falcatus; robinin; ginkgo biloba; liquid extracts; ginkgoflonoglycosides; terpenolactones; ginkgolic acids; spectrophotometry.

Information for citation: Ogay MA, Kovtun EV, Chakhirova AA, et al. Razrabotka i issledovaniye fitoekstraktov, soderzhashchikh flavonoidy [Development and investigation of phytoextracts containing flavonoids]. Research Result. Medicine and Pharmacy. 2018;4(2):90-103. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-2-0-10

Введение. Препараты из лекарственного растительного сырья входят в состав более 85 фармакотерапевтических групп. Многие природные соединения, такие как флавоноиды, сапонины, алкалоиды и др., несмотря на высокий уровень развития синтетической химии и возможности их воспроизводства, фитопрепараты обладают преимуществами, за счет активной работы основных веществ с сопутствующими веществами [8, 10, 15, 16].

Ginkgo biloba L. (гинкго двулопастной), сем. *Ginkgoaceae* – жизненная форма – дерево. Современная Китайская фармакопея предлагает использовать листья гинкго *двулопастного* для лечения сердечно-сосудистой системы и заболеваний верхних дыхательных путей [6, 22].

Несмотря на то, что препараты гинкго двулопастного известны в восточной медицине с древнейших времен, в качестве официально утвержденных лекарственных средств они стали применяться только с 1960-х гг. XX века [6].

Установлено, что основными компонентами химического состава листьев гинкго двулопастного, обеспечивающими их фармакологическую активность, являются флавоновые гликозиды и терпеновые лактоны [5, 11, 25].

Лекарственное растительное сырье гинкго двулопастного описаны в ГФ XIII издания (гинкго двулопастного листа). Согласно классификации ЛРС, препараты гинкго двулопастного относятся к:

- ангиопротекторы и корректоры микроциркуляции,
- корректоры нарушения мозгового кровообращения.

Фармакологическое действие экстрактов гинкго двулопастного листьев весьма разнообразно. Из основных фармакологических эффектов отмечено: антиагрегантное, вентонизирующее, ноотропное, антигипоксическое, антиоксидантное, улучшающее микроциркуляцию, противовоспалительное, мембраностабилизирующее, капилляропротекторное действие [15, 21].

Экстракт гинкго двулопастного листьев сухой, по данным литературы, благотворно влияет на обменные процессы в организме, реологические свойства крови, вазомоторные реакции кровеносных сосудов, мозговое кровообращение, в результате улучшения оксигенации и питания мозга. Экстракт гинкго билоба уменьшает проницаемость сосудов, оказывая выраженное противоотечное действие [9, 12], а также обладает антигипоксическими, антиоксидантными свойствами. Стандартизированный экстракт *Ginkgo biloba* может быть эффективен в качестве нефропротектора при клинической почечной недостаточности у человека. Это особенно важно, так как при острой почечной недостаточности (ОПН) возникает полиорганность нарушений с частым поражением центральной нервной системы, в отношении которого препараты гинкго двулопастного обладают выраженным благоприятным эффектом. Так, препарат Билобил, назначаемый в течение 2 месяцев детям с хроническим пиелонефритом, повышает скорость клубочковой фильтрации, более чем на 70% уменьшает протеинурию, устраняет никтурию, благоприятно влияет на тонус вегетативной иннервации и на церебральный кровоток [12, 14].

По ГФ XIII определение флавоноидов проводят в пересчете на рутин (не менее 0.5%) методом дифференциальной спектрофотометрии с использованием стандартного образца рутина или удельного показателя поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом [3, 26].

В связи с этим, а также на основании сведений китайской медицины о широчайшем использовании сухого экстракта гинкго билоба представляло интерес получить жидкий экстракт гинкго, с высоким выходом биологически активных веществ, провести его оценку качества по показателям, предложенным ГФ XIII для оценки сырья. Это поможет значительно повысить эффективность используемых способов экстрагирования [6, 26].

В настоящее время для получения экстракта гинкго двулопастного листьев используют смеси ацетон-вода различной концентрации (50-90% ацетон). Наиболее часто соотношение ацетон-вода составляет 60/40%. [1, 23, 24]

Astragalus falcatus (астрагал серпоплодный) – это многолетнее травянистое растение из семейства бобовых до 1 метра в высоту. Листья непарно перисто-сложные. Бледно-белые цветки собраны в многоцветковые кисти, плоды серповидно изогнутые, представляют из себя сидячие кожистые бобы. Ареал – Кавказ (Предкавказье, Восточное и Южное Закавказье, Дагестан) и юг европейской части. Содержит из активных веществ флавоноиды, главный из них – робинин (более 2%) [15].

Получаемые из листьев и цветов растения флавоноиды производят – фларонин, применяемый при лечении всевозможных заболеваний почек [4, 16].

Лекарственный препарат фларонин – это, прежде всего гипозотемическое средство. Препарат усиливает азотовыделительную роль почек, улучшает почечное кровообращение, способствует снижению в крови содержания остаточного азота, креатинина и мочевины. К другим, его важным характеристикам можно отнести: противовоспалительное и диуретическое действие, а так же способность к снижению проницаемости капилляров. Фларонин довольно часто назначают для комплексного медикаментозного лечения некоторых форм простатита. Препарат, выпускается только в форме таблеток. Однако, данная лекарственная форма имеет такие побочные эффекты как, усугубление азотемии, аллергические реакции. Кратность приема 3 раза в день, ежедневно, в течение 20-30 дней. Такое длительное лечение при хроническом течении заболевания может растянуться на многие месяцы. Таким образом, актуальным вопросом является разработка новой лекарственной формы пролонгированного действия [19, 20].

Материалы и методы.

Объекты: объектами исследования послужило лекарственное растительное сырье астрагала серпоплодного и гинкго билоба, а также жидких экстрактов на их основе. В качестве методов исследования использованы спектрофотометрия. Используемое оборудование: спектрофотометр СФ-56 и хроматограф жидкостный с программным управлением и компьютерной обработкой результатов анализа.

Методы получения: для получения жидкого экстракта гинкго двулопастного листьев был использован метод реперколяции с завершённым циклом (батарея из 5 диффузоров), соотношение сырье:экстрагент на ступени экстракции 1:4.5. Экстрагент спирт этиловый 70% [13]. Сырье с известной влажностью и коэффициентом поглощения загружали поочередно в диффузоры и заливали экстрагентом. Масса сырья и порции экстрагента во всех диффузорах были одинаковые.

Извлечения из травы астрагала серпоплодного получали методом бисмацерации. Измельченное и просеянное сквозь сито с величиной отверстий 1.0 мм сырье, помещают в мацерационный бак с механической мешалкой и заливают экстрагентом (70 % спирт этиловый) в соотношении 1:5, учитывая что $K_n = 1.3$. Экстракция проводится в течение 2-х суток при периодическом перемешивании и при температуре 20-23 °С.

Сырье отжимают, фильтруют через двойной слой марли (Извлечение 1). Сырье снова заливают экстрагентом в соотношении 1:3, так же с учётом $K_n = 1.3$. Время экстракции составляет 24 часа, при периодическом перемешивании (температура 20-23 °С). Сырье повторно отжимают и фильтруют через двойной слой марли (Извлечение 2). Смена экстрагента позволяет полнее истощить сырье и уменьшить потери при диффузии, так как поддерживается разность концентраций и как следствие этого – скорость диффузии. Оба извлечения объединяются.

Так как полученные настаиванием вытяжки представляли собой не прозрачные жидкости с определенным количеством

взвешенных частиц, требовалась обязательная очистка.

Очищали полученные спирто-водные извлечения с помощью фильтрации через двойной слой марли и их отстаивания в прохладном и темном месте. Выпавшие балластные вещества, повторно отфильтровывали [2]. Для фильтрования могут быть использованы фильтры разных конструкций, за исключением работающих под вакуумом, в которых происходит интенсивное испарение спирта. Повторная фильтрация позволяла максимально очистить полученные извлечения от балластных веществ, тем самым увеличивая концентрацию необходимых БАВ, в том числе флавоноидов. Для выбора оптимальных условий фильтрации рассмотрели основополагающие характеристики. По режиму работы все фильтры можно разделить на: периодического действия и непрерывного действия. В первом случае подача спирто-водного извлечения осуществляется дозировано с перерывами на проведение вспомогательных операций, таких как удаление слоя осадка, в то время как во втором случае процесс идет непрерывно. Так как фильтрация проходила с накоплением балластных веществ, то выбор был сделан в пользу периодической фильтрации. Учитывая, что продукт является спирто-водным извлечением, выбор был сделан в пользу фильтрации под давлением, так как интенсивное испарение спирта, являлось не целесообразным.

Микробиологические исследования

Определение активности изучаемых экстрактов проводили в 3-х чашках Петри одинакового диаметра с плоским дном. В чашки, устанавливаемые горизонтально, наливали по 15 мл расплавленного питательного агара. Слой агара в чашке Петри заливали 1-2 мл взвеси испытуемого микроба в физиологическом растворе. Затем излишек взвеси полностью удаляли, подсушивали поверхность агара в течение 30 минут. Затем сверлом (6 мм диаметром) пробуравливали 6 отверстий («колодцев») на расстоянии 2.5 см от центра и на одинаковом рас-

стоянии друг от друга, «колодцы» заполняли образцами экстрактов и растворителем в соответствующей концентрации (контроль). Чашки оставляли при комнатной температуре на 30 минут, после чего их ставили в термостат при температуре 37 °С, не переворачивая, строго горизонтально, чтобы получить круглые зоны. Под крышки чашки Петри помещали стерильный фильтр во избежание попадания конденсата на лунки. Зоны угнетения измеряли через 16 часов. Оценка результатов проводилась по диаметру зон задержки роста вокруг «колодца», включая диаметр самого «колодца»:

— отсутствие зоны задержки роста — испытуемая культура не чувствительна к данной концентрации препарата;

— диаметр зоны задержки роста 10 мм — умеренная чувствительность культуры к данной концентрации препарата;

— диаметр зоны задержки роста более 10 мм — высокая чувствительность испытуемой культуры к данной концентрации препарата.

Были использованы штаммы микроорганизмов *E. Coli* (246, инкубированы на среде 1, при температуре 37 °С), *Salmonella* (1711, инкубирована на средах 1, 16, 17, при температуре 37 °С), *S. aureus* (HA – MRSA), *Pseudomonas aeruginosa* (282, инкубирована на среде 1, 2, при температуре 28 °С). [18]

Стандартизация: стандартизацию проводили по методике ГФ XIII, извлечения для анализа получали используя разработанные ранее методики, в качестве извлекателя так же спирто-водная смесь определенной концентрации [3].

Нормировать качество экстракта жидкого листьев гинкго билоба предложено по содержанию суммы флавоноидов, содержанию сухого остатка и плотности. Обнаружение флавоноидов в исследуемом экстракте осуществляли посредством цианидиновой пробы.

Просмотр хроматограммы в УФ-свете осуществляли при длине волны 254±2 нм [17].

Количественное определение флавоноидов в экстракте гинкго двулопастного листьях жидком проводили методом дифференциальной спектрофотометрии.

Оценку качества экстрактов проводили на основании анализа 5 лабораторных серий согласно ГФ XIII [3].

В методах исследования, количественное содержание суммы флавоноидов в спирто-водном извлечении из травы астрагала серпоплодного определяли спектрофотометрически с использованием стандартного образца (Robinin, Kaempferol 3-*O*-robinoside-7-*O*-rhamnoside, Sigma). Показания снимали на спектрофотометре ЮНИКО 2802S (длина волны 354 ± 2 нм). Определяли оптическую плотность стандартного образца робинина.

Результаты и обсуждения. Согласно данным литературы, достаточно обширную группу препаратов составляют те, которые в своем составе имеют в виде основного компонента флавоноиды [16]. Флавоноиды широко применяются как в народной, так и традиционной медицине. Это гетероциклические соединения различной окраски, преимущественно желто-оранжевого спектра. Флавоноиды можно назвать натуральными растительными красителями. Это строго соединения растительных объектов [8, 10]. Известно, что флавоноиды, по степени окисления внешней оболочки 3-углеродного фрагмента, можно классифицировать на: лейкоцианы; катехины; флавононы; халконы; флавонолы; антоцианы; ауруны; флавонолы; изофлавоны.

Рутин (витамин С₂, или Р) обладает сосудостроительной активностью. Именно эта активность и обеспечивает фармакологические эффекты многих лекарственных форм, в частности препарата аскорутин (Ascorutinum), предназначенного для повышения эластичности капилляров и кровеносных сосудов. Следующий флавоноид – робинин [8].

Основной целью наших исследований было получение извлечений из лекарственного растительного сырья, содержащего

флавоноиды, основным компонентом которых были рутин и робинин. Выбор был остановлен на двух растительных объектах – гинкго двулопастном и астрагале серпоплодном, флавоноиды которых представлены в том числе, рутином и робинином.

Был получен жидкий экстракт гинкго двулопастного листьев с использованием в качестве экстрагента спирто-водной смеси 70% концентрации. Для получения серии экстрактов была проведена стандартизация сырья по содержанию флавоноидов%.

Извлечения для анализа получали, используя разработанные ранее методики, в качестве экстрагента использовалась спирто-водная смесь 70% концентрации. Таким образом, было определено содержание флавоноидов, в пересчете на рутин – 5.1% [3].

Получение жидкого экстракта гинкго двулопастного листьев (1:1). Для этого был использован метод реперколяции с заверенным циклом (батарея из 5 диффузоров), соотношение сырья : экстрагент на ступени экстракции 1:4.5. Экстрагент – спирт этиловый 70% [7].

Сырье загружали поочередно в диффузоры и заливали экстрагентом. Масса сырья и порции экстрагента во всех диффузорах были одинаковые.

Нормировали качество экстракта жидкого по содержанию суммы флавоноидов, содержанию сухого остатка и плотности. Обнаружение флавоноидов в исследуемом экстракте осуществляли, как указано в разделе материалы и методы, посредством цинанидиновой пробы.

Просмотр хроматограммы в УФ-свете при длине волны 254 ± 2 нм позволяет обнаружить 2 зоны адсорбции фиолетового цвета, расположение которых находится выше зоны на хроматограмме раствора СО рутина, а при обработке раствором диазобензолсульфоуксусной кислоты в видимом свете также обнаруживались 2 зоны адсорбции желто-оранжевого цвета со значениями R_f 0.9 и 0.5 соответственно, что соответствует литературным данным [17].

Комплекс с раствором алюминия хлорида формирует максимум поглощения при

406 нм, который совпал с максимум поглощения спектра рутина с алюминия хлори-

дом и это позволяет проводить анализ при длине волны 254 нм (рис. 1, 2, 3).

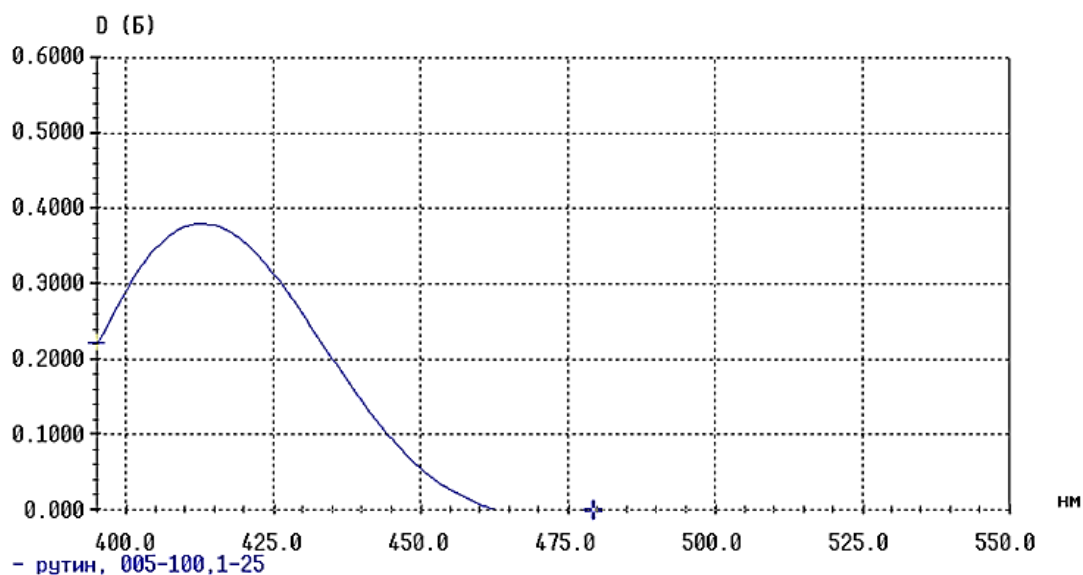


Рис. 1. Спектр поглощения 0.002% раствора СО рутина с алюминия хлоридом
Fig. 1. Absorption spectrum of 0.002% CO solution of rutin with aluminum chloride

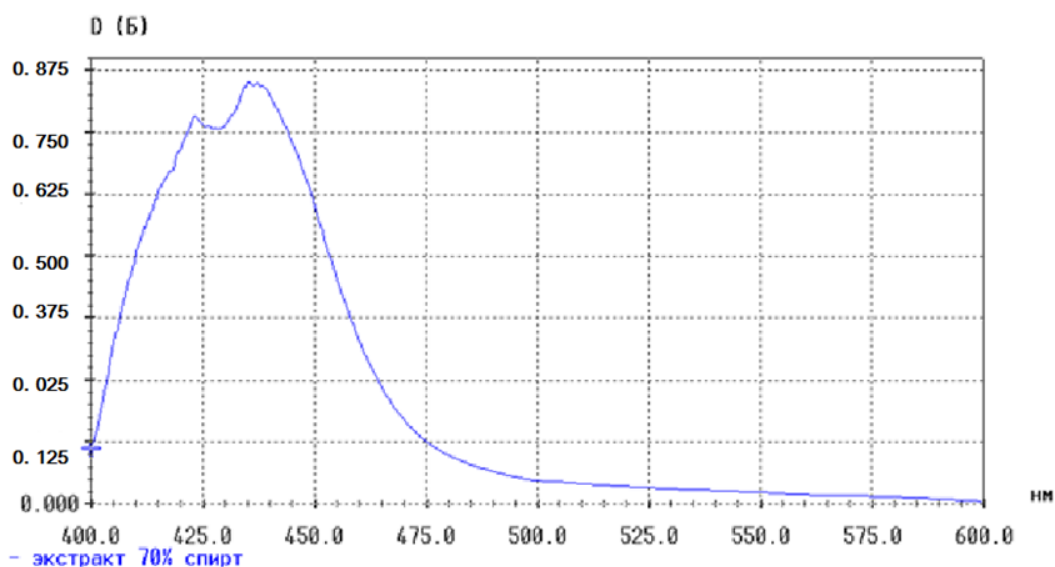


Рис. 2. Спектр поглощения экстракта Гингко двулопастного жидкого с алюминия хлоридом
Fig. 2. Absorption spectrum of Gingko extract of bilobate liquid with aluminum chloride

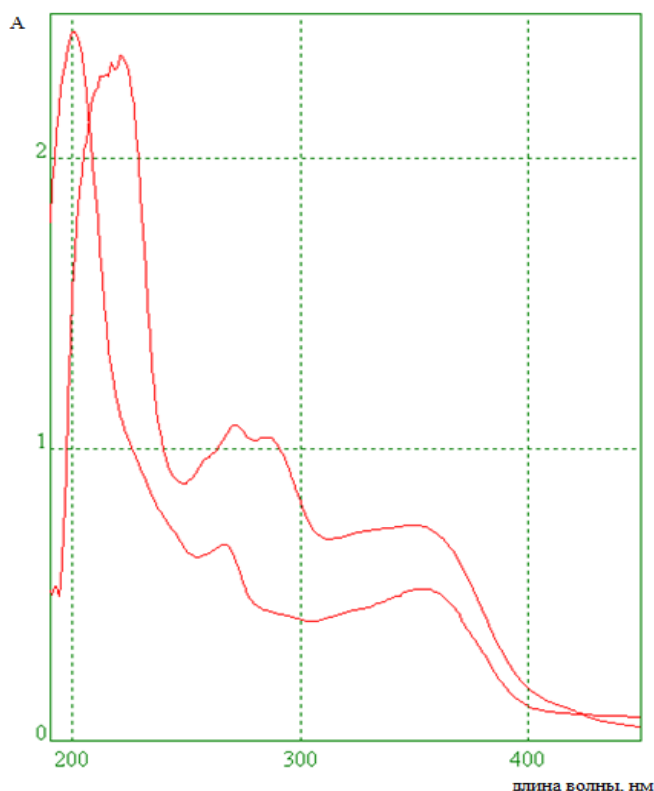


Рис. 3. Спектры поглощения этанольного извлечения астрагала серпоплодного (1) и стандартного образца робинина (2)

Fig. 3. Absorption spectra of ethanol extract of astragalus seroplodnogo (1) and standard sample of robinin (2)

Результаты количественного определения флавоноидов в экстракте гинкго двулопастного листьях жидком методом дифференциальной спектрофотометрии представлены в таблице 1.

В жидком экстракте листьев гинкго двулопастного содержится около 5.0% сум-

мы флавоноидов в пересчете на рутин (дифференциальная спектрофотометрия).

Оценку качества экстрактов проводили на основании анализа 5 лабораторных серий (таблица 2) согласно ГФ XIII [6]. Эффективность экстракции составила 87-90%.

Таблица 1

Содержание суммы флавоноидов в жидком экстракте методом дифференциальной спектрофотометрии

Table 1

The content of the sum of flavonoids in a liquid extract by differential spectrophotometry

№ п/п	Оптическая плотность, А	Содержание, %	Метрологические характеристики
1	0.802	5.09	$\bar{X}= 5.08$
2	0.875	5.12	$S=0.198$
3	0.824	5.34	$S_x=0.07$
4	0.799	4.85	$\Delta\bar{X}=0.18$
5	0.923	5.24	$\varepsilon=\pm 3.53 \%$
6	0.831	4.86	

Таблица 2

Оценка качества экстракта Гингко двулопастного листьев жидкого

Table 2

Evaluation of the quality of the liquid Ginkgo extract of bilobate leaf

Номер серии	Экстрактивные вещества, %	Плотность, г/см ³	Содержание суммы флавоноидов в % (в пересчете на рутин)
01	25.7	0.968	4.76
02	29.4	0.961	4.89
03	32.7	0.960	5.40
04	26.0	0.961	5.04
05	31.8	0.965	5.34

Нормы качества были установлены следующие: экстрактивные вещества – до 30.0%, содержание флавоноидов – не менее 4.5%.

Таким образом, получен экстракт гингко двулопастного листьев жидкий, содержание флавоноидов в котором (в пересчете на рутин) составило не менее 5%, содержание экстрактивных веществ до 30%. Экстрагирование листьев гингко двулопастного спиртом этиловым 70% представляет интерес из-за того, что позволяет извлечь значительное количество экстрактивных веществ (до 30%), в том числе около 5% флавоноидов (в пересчете на рутин). Это даёт возможность получить из листьев гингко двулопастного высокоэффективный препарат с ярко выраженным противовоспалительным, мембраностабилизирующим, капилляропротекторным действием. Использование в технологии экстракта листьев гингко двулопастного жидкого основ ресурсосберегающей технологии позволяет довести эффективность процесса экстрагирования до 90%

Извлечения получали методом бисмацерации, по методике указанной в разделе материалы и методы. Оба извлечения объединяются [13].

Так как полученные настаиванием вытяжки представляли собой не прозрачные жидкости с определенным количеством взвешенных частиц, требовалась обязательная очистка.

Очищали полученные спирто-водные извлечения с помощью фильтрации через двойной слой марли и их отстаивания в

прохладном и темном месте. Выпавшие балластные вещества, повторно отфильтровывали [2].

Выбор был сделан в пользу периодической фильтрации и фильтрации под давлением.

Качественный анализ флавоноидов

На хроматограмме обнаружена зона, значение R_f которой совпадает со значением показателя R_f стандартного образца робинина ($R_f = 0.25$).

Как описано выше, в методах исследования, количественное содержание суммы флавоноидов определяли спектрофотометрически с использованием стандартного образца (Robinin, Kaempferol 3-*O*-robinoside-7-*O*-rhamnoside, Sigma). Показания снимали на спектрофотометре ЮНИКО 2802S (длина волны 354±2 нм). Определяли оптическую плотность стандартного образца робинина. В качестве раствора сравнения использовали 70% этанол [23].

Эксперимент показал, что содержание суммы флавоноидов в пересчете на робинин в исследуемом сырье составляет 4.21÷4.30 %.

На основании полученных данных, можно сделать заключение о соответствии изучаемого объекта второй категории микробиологической чистоты [19]. Результаты исследования представлены в таблице 3.

Установление срока годности проводили на 5 опытных сериях по следующим критериям: внешний вид, цвет и запах, микробиологическая чистота, качественный и количественный анализ. Результаты определения срока годности приведены в таблице 4.

Таблица 3

Микробиологическая чистота спирто-водного извлечения астрагала серпоплодного

Table 3

Microbiological purity of alcohol-water extraction of astragalus falcatus

Вид продукции	Общее количество бактерий	Общее количество грибов	Энтеробактерии и другие грамотрицательные бактерии	E. coli	Salmonella	S. aureus	Pseudomonas aeruginosa
	КОЕ* в 1 мл продукции						
Норма	не более 10 ² в 1 мл (суммарно)		не более 10 ¹	отсутствие	отсутствие	отсутствие	отсутствие
Спирто-водное извлечение астрагала серпоплодного	5 · 10 ¹	3 · 10 ¹	не обнаружено	нет	нет	нет	нет

* КОЕ – колониеобразующих единиц в 1 г или 1 см³ продукции

Таблица 4

Результаты определения срока годности спирто-водного извлечения астрагала серпоплодного

Table 4

Results of determination of shelf life of alcohol-water extraction of astragalus falcatus

Наименование показателя	Характеристика и норма (СанПиН 1.2.681-97)	Сроки хранения				
		Извлечение				
		6 мес	12 мес	18 мес	24 мес	30 мес
Внешний вид	однородная масса	соответствует				
Цвет	соответствовать изделию	желто-коричневого цвета				
Запах	соответствовать изделию	с характерным запахом айвы				
Микробиологическая чистота (на 1 г.)	не более 10 ² аэробных бактерий и грибов (суммарно), не более 10 ¹ бактерий семейства Enterobacteriaceae и других грамотрицательных бактерий, отсутствие Pseudomonas aeruginosa и Staphylococcus aureus (Категория 2 по ГФ-ХП)	соответствует	соответствует	соответствует	соответствует	не соответствует
Качественный анализ (флавоноиды)		реакции положительные				Реакций нет
Количественный анализ (флавоноиды)		3.990	2.750	0.599	0.267	-

Срок хранения извлечения, составляет 24 месяца.

Наиболее важными сторонами экстракции является изучение технологических параметров сырья и выбор экстрагента. Тщательное изучение этих показателей послужило экспериментальной основой настоящего фрагмента.

В жидком экстракте листьев гинкго двулопастного содержится около 5.0% суммы флавоноидов в пересчете на рутин (дифференциальная спектрофотометрия).

Оценку качества экстрактов проводили на основании анализа 5 лабораторных серий (таблица 2) согласно ГФ XIII [6]. Эффективность экстракции составила 87-90%.

Заключение. Таким образом, установлено, что оптимальными методами экстракции из изучаемых объектов являются динамические методы. Для гинкго двулопастного оптимальным является метод реперколяции (батарея из 5 перколяторов), при соотношении сырья и экстрагента на ступени экстракции 1:4.5. Оптимальным методом экстракции из астрагала серпоплодного является метод бисмацерации. Соотношение сырье: экстрагент – 1:8 (дробная мацерация с использованием 2/3 и 1/3 экстрагента). Оптимальная концентрация экстрагента спирта этилового в обоих случаях является 70%. Проведена экспериментально, оценка качества сырья и фитоэкстрактов по одному показателю, что позволяет подтвердить теоретические расчеты.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Буланкин Д.Г. Исследование по стандартизации и разработке лекарственных средств на основе листьев гинкго двулопастного (*Ginkgo biloba* L.): автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Самара, 2011. 23 с.
2. Валевко С.А., Краснюк И.И., Михайлова Г.В. Фармацевтическая технология лекарственных форм. М.: Academia, 2007.
3. Государственная фармакопея XIII [Электронный ресурс]. URL: <https://www.rosminzdrav.ru/poleznye->

[resursy/gosudarstvennaya-farmakopeya-rossiyskoy-federatsii-xiii-izdaniya](https://www.rosminzdrav.ru/poleznye-resursy/gosudarstvennaya-farmakopeya-rossiyskoy-federatsii-xiii-izdaniya) (дата обращения: 19.03.2018).

4. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. URL: <http://www.grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx> (дата обращения 19.03.2018).

5. Кадыков А.С., Шахпаронова Н.В., Гришина Д.А. Роль препарата билобил в лечении больных с сосудистыми заболеваниями головного мозга // Русский медицинский журнал. 2008. Т. 16, N 26. С. 1736-1738.

6. Катунина Е.А. Гинкго билоба: итоги полувекowego опыта применения. Полиmodalность эффектов гинкго билоба: экспериментальные и клинические исследования // Неврология и ревматология. 2013. N 2. С. 53-57.

7. Ковтун Е.В. Разработка технологии и норм качества экстракта душицы обыкновенной жидкого: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Пятигорск, 1999. 23 с.

8. Корулькин Д.Ю. Природные флавоноиды. Новосибирск: «Тео», 2007. 232 с.

9. Корчагина Д.В., Куркина А.В., Дубищев А.В., Кочнева О.Н., Гусев Д.О. Изучение нейротропной активности лекарственных препаратов на основе листьев гинкго двулопастного // Фундаментальные исследования. 2013. N 10-4. С. 812-815.

10. Куркин В.А., Буланкин Д.Г. Определение флавоноидов в сырье и препаратах гинкго двулопастного // Фармация. 2011. N 2. С.12-14.

11. Куркин В.А., Буланкин Д.Г. Даева Е.Д., Каденцев В.И. Флавоноиды листьев гинкго двухлопастного (*Ginkgo biloba* L.) // Химия растительного сырья. 2012. N 2. С. 85-88.

12. Лиманова О.А., Назаренко Е.М., Штрыголь С.Ю. Новые аспекты фармакологии стандартизованного экстракта Гинкго билоба (билобил): ренальные эффекты // Новости здравоохранения. 2002. N 3. С. 36-40.

13. Огай М.А., Степанова Э.Ф., Ларионов Л.П., Петров А.Ю. Идентификация и количественная оценка флавоноидов в комплексных фитопрепаратах // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация. 2010. N 10(81). С. 85-88.

14. Онбыш Т.Е., Макарова Л.М., Погорелый В.Е. Механизмы реализации фармакологической активности экстракта гинкго билоба // Современные наукоемкие технологии. 2005. N 5. С. 22-25.

15. Пронченко Г.Е. Лекарственные растительные средства / Под ред. А.П. Арзамасцева, И.А. Самылиной. М.: Гэотар-Мед, 2002. 288 с.

16. Регистр лекарственных средств РЛС [Электронный ресурс]. URL: <https://www.rlsnet.ru/> (дата обращения: 19.03.2018).

17. Саморядова А.Б., Ковтун Е.В. Разработка технологии и нормирования качества жидкого экстракта софоры желтеющей корней (*Sophorae flavescens*) с рациональным использованием сырья // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2014. Т.16. N 1-3. С. 821-824.

18. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М.О. Биргера. М.: Медицина, 1982. С.172-177.

19. Таблетки фларонин 0,03 (ВФС 42-1542-90).

20. «Фларонин» субстанция (ВФС 42-1520-85) 04-10.

21. American Herbal Pharmacopoeia and Therapeutic Compendium. Ginkgo leaf. Ginkgo leaf dry extract. Standards of analysis, quality control and therapeutics. 2003.

22. Assessment report on *Ginkgo biloba* L., folium [Electronic] // Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal/_HMPC_assessment_report/2014/02/WC500161208.pdf (Accessed 19 March 2018).

23. Lin L.Z., Chen P., Ozcan M., Harnly J.M. Chromatographic profiles and identification of new phenolic // J Agric Food Chem. 2008. Vol. 13(56(15)). P. 6671-9.

24. Quality control of flavonoids in *Ginkgo biloba* leaves by high-performance liquid chromatography with diodearray detection and on-line radical scavenging.

25. Rossi R., Basilico F., de Palma A., et al. Analytical methods for characterizing bioactive terpenolactones in *Ginkgo biloba* extracts and performing pharmacokinetic studies in animal and human [Electronic] // Biomedical Engineering, Trends, Research and Technologies. 2011. URL: <http://www.intechopen.com> (Accessed 19 March 2018).

26. United States Pharmacopoeia [Electronic]. URL: http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/

USPNF/revisions/m34982-powdered_ginkgo_extract.pdf (Accessed 19 March 2018)

References

1. Bulankin DG. Issledovaniye po standartizatsii i razrabotke lekarstvennykh sredstv na osnove list'yev ginkgo dvulopastnogo (*Ginkgo biloba* L.) [The study on standardization and development of medicines based on the leaves of *Ginkgo biloba* L.] [dissertation]. Samara; 2011. Russian.

2. Valevko SA, Krasnyuk II, Mikhailova GV. Farmatsevticheskaya tekhnologiya lekarstvennykh form [Pharmaceutical technology of medicinal forms]. Moscow: Academia, 2007.

3. Gosudarstvennaya farmakopeya XIII [State Pharmacopoeia XIII] [Internet] [cited 2018 March 19]. Available from: <https://www.rosminzdrav.ru/poleznye-resursy/gosudarstvennaya-farmakopeya-rossiyskoy-federatsii-xiii-izdaniya>. Russian.

4. Gosudarstvennyy reyestr lekarstvennykh sredstv [State register of medicines] [Internet]. [date of access: 19 March, 2018]. Available from: <http://www.grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx>. Russian.

5. Kadykov AS, Shakhparonova NV, Grishina DA. Rol' preparata bilobil v lechenii bol'nykh s sosudistymi zabolevaniyami golovnogo mozga [The role of bilobyl in the treatment of patients with cerebrovascular diseases]. Russkiy meditsinskiy zhurnal. 2008;16(26):1736-1738. Russian.

6. Katunina EA. *Ginkgo biloba*: itogi poluvekovogo opyta primeneniya. Polimodal'nost' effektivov ginkgo biloba: eksperimental'nyye i klinicheskiye issledovaniya [Ginkgo biloba: the results of half a century of experience. Polimodality of the effects of *Ginkgo biloba*: experimental and clinical studies]. Nevrologiya i revmatologiya. 2013;2:53-57. Russian.

7. Kovtun EV. Razrabotka tekhnologii i norm kachestva ekstrakta dushitsy obyknovennoy zhidkogo [Development of technology and quality standards for extract of common *origanum liquid*] [dissertation]. Pyatigorsk; 1999. Russian.

8. Korulkin DYu. Prirodnyye flavonoidy [Natural flavonoids]. Novosibirsk: Teo; 2007. 232 p. Russian.

9. Korchagina DV, Kurkina AV, Dubishchev AV, Kochneva ON, Gusev DO. Izucheniye neyrotropnoy aktivnosti lekarstvennykh preparatov na osnove list'yev ginkgo dvulopastnogo [The study of neurotropic activity of drugs based on

ginkgo biloba leaves]. Fundamental research. 2013;10-4:812-815. Russian.

10. Kupkin VA, Bulankin DG. Opreddeniye flavonoidov v syr'ye i preparatakh ginkgo dvulopastnogo [Determination of flavonoids in raw materials and preparations of ginkgo biloba]. Farmatsiya. 2011;2:12-14. Russian.

11. Kurkin VA, Bulankin DG, Dayeva ED, Kadentsev VI. Flavonoidy list'yev ginkgo dvukhlopastnogo (*Ginkgo biloba* L.) [Flavonoid leaves of ginkgo biloba (*Ginkgo biloba* L.)]. Khimiya rastitel'nogo syrya. 2012;2:85-88. Russian.

12. Limanova OA, Nazarenko ME., Shtrygol SYu. Novyye aspekty farmakologii standartizovannogo ekstrakta Ginkgo biloba (bilobil): renal'nyye efekty [New aspects of the pharmacology of the standardized extract of Ginkgo biloba (biloby): renal effects]. Health News. 2002;3:36-40. Russian.

13. Ogay MA, Stepanova EF, Larionov LP, Petrov AYu. Identifikatsiya i kolichestvennaya otsenka flavonoidov v kompleksnykh fitopreparatakh [Identification and quantitative assessment of flavonoids in complex phytopreparations]. Belgorod State University Scientific Bulletin: Medicine. Pharmacy. 2010;10(81):85-88. Russian.

14. Onbysh TE, Makarova LM, Pogorely VE. Mekhanizmy realizatsii farmakologicheskoy aktivnosti ekstrakta ginkgo biloba [Mechanisms for the realization of the pharmacological activity of the extract of ginkgo biloba]. Modern high technologies. 2005;5:22-25. Russian.

15. Pronchenko GE. Lekarstvennyye rastitel'nyye sredstva [Medicinal herbal remedies] / Arzamastsev AP, Samylina IA, editors. Moscow: Geotar-Med; 2002. 288 p. Russian.

16. Registr lekarstvennyy sredstv RLS [Drug Register] [Internet] [cited 2018 March 19]. Available from: <https://www.rlsnet.ru/>. Russian.

17. Samoryadova AB, Kovtun EV. Razrabotka tekhnologii i normirovaniya kachestva zhidkogo ekstrakta sofory zhelteyushchey korney (*Sophora flavescens*) s ratsional'nym ispol'zovaniyem syr'ya [Development of technology and normalization of the quality of liquid extract of *Sophora flavescens* roots with rational use of raw materials]. Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk. 2014;16(1-3):821-824. Russian.

18. Birger MO, editor. Spravochnik po mikrobiologicheskim i virusologicheskim metodam issledovaniya [A handbook of microbiological and virological methods of research]. Moscow: Meditsina; 1982. P. 172-177. Russian.

19. Tabletki flaronin [Tablets of flaronin 0.03]. Russia. Standard No. 42-1542-90. Russian.

20. "Flaronin" substantsiya ["Flaronin" substance]. Russia. Standard No. 42-1520-85. Russian.

21. American Herbal Pharmacopoeia and Therapeutic Compendium. Ginkgo leaf. Ginkgo leaf dry extract. Standards of analysis, quality control and therapeutics. 2003.

22. Assessment report on *Ginkgo biloba* L., folium. Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC) [Internet] [cited 2018 March 19]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_-_HMPC_assessment_report/2014/02/WC500161208.pdf.

23. Lin LZ, Chen P, Ozcan M, Harnly JM. Chromatographic profiles and identification of new phenolic. J Agric Food Chem. 2008;13(56(15)):6671-9.

24. Quality control of flavonoids in Ginkgo biloba leaves by high-performance liquid chromatography with diodearray detection and on-line radical scavenging.

25. Rossi R, Basilico F, de Palma A, et al. Analytical methods for characterizing bioactive terpene lactones in ginkgo biloba extracts and performing pharmacokinetic studies in animal and human. Biomedical Engineering, Trends, Research and Technologies [Internet]. 2011 [cited 2018 March 19]. Available from: <http://www.intechopen.com>.

26. United States Pharmacopeia [Internet] [cited 2018 March 19]. Available from: http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/revisions/m34982-powdered_ginkgo_extract.pdf

Огай Марина Алексеевна, доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии.

Ковтун Елена Владимировна, кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии.

Чахирова Анна Анатольевна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии.

Саморядова Анна Борисовна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры токсикологической химии.

Богатырева Зинаида Николаевна, аспирант кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии.

Ogay Marina Alekseyevna, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor of the Department of Pharmaceutical Technology with the course of medical biotechnology.

Kovtun Elena Vladimirovna, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Senior Lecturer of the Department of Pharmaceutical Technology with the course of medical biotechnology.

Chahirova Anna Anatolievna, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Technology with the course of medical biotechnology.

Samoryadova Anna Borisovna, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of the Department of Toxicological Chemistry.

Bogatyreva Zinaida Nikolaevna, Post-graduate Student of the Department of Pharmaceutical Technology with the course of medical biotechnology.

Статья поступила в редакцию 22 марта 2018 г.