

ПОЛЯРИМЕТРИЯ И ДИНАМИЧЕСКОЕ СВЕТОРАССЕЯНИЕ В КОНТРОЛЕ КАЧЕСТВА НАСТОЕК

А.В. Сыроешкин

д.б.н., профессор, зав. кафедрой фармацевтической и токсикологической химии,
медицинский институт, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Москва, Россия)
E-mail: livmatter@mail.ru

Д.Д. Оготовева

аспирант, кафедра фармацевтической и токсикологической химии,
медицинский институт, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Москва, Россия)

Д.А. Галкина

аспирант, кафедра фармацевтической и токсикологической химии,
медицинский институт, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Москва, Россия)

М.А. Джавахян

д.фарм.н., гл. науч. сотрудник, экспериментально-технологический отдел,
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва, Россия)

Т.Е. Елизарова

к.б.н., генеральный директор ООО «КоАл Фарманализ» (Москва, Россия)

Е.В. Успенская

д.фарм.н., профессор, кафедра фармацевтической и токсикологической химии,
медицинский институт, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Москва, Россия)

Т.В. Плетенева

д.х.н., профессор, кафедра фармацевтической и токсикологической химии,
медицинский институт, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Москва, Россия)

Актуальность. Неоднозначность наблюдаемых терапевтических эффектов настоек и отсутствие фармакопейных статей требуют разработки новых подходов к контролю их качества. В настоящей работе впервые для характеристики качества настоек седативного и кардиотонического действия применён метод поляриметрии в комбинации с методом динамического светорассеяния.

Цель работы – разработка методики контроля качества настоек валерианы, пустырника и боярышника на основе методов поляриметрии и динамического светорассеяния.

Материал и методы. Объекты исследования: настойки отдельных серий разных производителей. Методы: поляриметрия (POL-1/2, Atago, Japan); метод динамического светорассеяния – DLS (Zetasizer Nano ZS, Malvern, UK).

Результаты. Поляриметрическим методом установлено, что настойки являются оптически активными средами. Это позволило разработать методику идентификации настоек седативного и кардиотонического действия, которая основана на измерении угла оптического вращения 95%-ных этанольных разведений разной кратности. При разведении настойки валерианы в соотношении 1:40 угол оптического вращения находится в интервале $-0,10^\circ < \alpha^\circ < -0,89^\circ$, а значения α° настоек пустырника и боярышника в указанном разведении близки к нулю. При разведении настойки пустырника в соотношении 1:10 угол оптического вращения находится в интервале $-0,10^\circ < \alpha^\circ < -2,21^\circ$. Идентификацию настойки боярышника следует проводить без разведения: $-0,76^\circ < \alpha^\circ < -1,55^\circ$. Водные разведения настоек содержали стабильные частицы дисперсной фазы в нанометровом диапазоне, что позволяет прогнозировать их высокую биологическую доступность. При статистической обработке результатов из рассмотрения исключены настойки с углом вращения $|\alpha^\circ| < 0,1^\circ$ и $|\alpha^\circ| > 2,5^\circ$ как нестабильные дисперсные системы.

Выводы. Разработана методика, основанная на измерении оптической активности разведений настоек 95%-ным этанолом, позволяющая различить настойки и охарактеризовать их качество. Угол оптического вращения настоек валерианы находится в интервале $-0,10^\circ < \alpha^\circ < -0,89^\circ$ (кратность разведения 1:40), пустырника – $-0,10^\circ < \alpha^\circ < -2,21^\circ$ (кратность разведения 1:10), боярышника – $-0,76^\circ < \alpha^\circ < -1,55^\circ$ (без разведения). Взаимосвязь угла оптического вращения α° с электрокинетическим потенциалом и числом импульсов фотонов позволила охарактеризовать настойки, спиртовые разведения которых соответствующей кратности имеют $|\alpha^\circ| < 0,1^\circ$ и $|\alpha^\circ| > 2,5^\circ$ как нестабильные дисперсные системы, не соответствующие требованиям технологического регламента.

Ключевые слова: настойки валерианы, пустырника, боярышника, поляриметрия, динамическое светорассеяние.

Для цитирования: Сыроешкин А.В., Оготовева Д.Д., Галкина Д.А., Джавахян М.А., Елизарова Т.Е., Успенская Е.В., Плетенева Т.В. Поляриметрия и динамическое светорассеяние в контроле качества настоек. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2022;25(9):3–9. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-09-01>

Неоднозначность наблюдаемых терапевтических эффектов настоек способствует разработке новых подходов к оценке их качества [1]. Противоречивость клинических испытаний может быть связана с действием оптически активных компонентов, количество и соотношение которых постоянно в растительном сырье и препаратах на его основе [2, 3]. Согласно Европейской фармакопее Х издания, оценку подлинности настойки валерианы проводят методом хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ), определяя валереновую и ацетоксивалереновую кислоты с использованием стандартных образцов соответствующих кислот [4]. В то же время в Государственной фармакопее XIV издания (ГФ РФ) отсутствуют статьи на отдельные настойки, а в общей статье «Настойки» показатель «подлинность» не рассматривается [5]. На практике качество настойки оценивают по количеству сухого остатка после удаления растворителей. Статья ГФ РФ «Валерианы лекарственной корневища с корнями» регламентирует устанавливать подлинность сырья по валереновой и ацетоксивалереновой кислотам методом ТСХ [6]. Но в отсутствие стандартных образцов допускается использование соединений других химических классов, что противоречит требованиям аналитического метода.

В настоящей работе впервые для характеристики качества настоек применен метод поляриметрии в комбинации с методом динамического светорассеяния.

Ц е л ь р а б о т ы – разработать методику контроля качества настоек валерианы, пустырника и боярышника на основе методов поляриметрии и динамического светорассеяния.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объекты исследования: 54 образца готовых лекарственных форм отдельных серий разных производителей – «Настойка валерианы» (9 производителей, 20 серий), «Настойка пустырника» (10 производителей, 21 серия), «Настойка боярышника» (4 производителя, 13 серий). Растворители – этанол медицинский 95%-ный и высокоомная очищенная вода (установка Milli-Q® Integral). Исследование оптической активности настоек осуществляли поляриметрическим методом (POL-1/2, Atago, Japan) при температуре 25 °С. Измерение электрокинетического ξ -потенциала, числа импульсов фотонов в секунду (kcps – kilo counts per second), размера частиц дисперсной фазы в нано- и микро-

метровом (до 10 мкм) диапазонах проводили методом динамического светорассеяния – DLS (Zetasizer Nano ZS, Malvern, Великобритания).

Обработку результатов осуществляли с использованием программных пакетов Origin Pro 9.1 (OriginLab, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В сырье, из которого готовят настойки, содержатся оптически активные соединения с одним или несколькими хиральными центрами (рис. 1). Это могут быть левовращающие и правовращающие соединения, а также их рацемические смеси.

Например, в валериане лекарственной (*Valeriana officinalis* L.) содержатся валереновая кислота, удельное вращение которой в этаноле $[\alpha]_D^{20} = -120,4$ (1%, этанол) и α -терпинеол, для которого $[\alpha]_D^{20} = +92,45$ (1%, этанол) [3]. В пустырнике сердечном (*Leonurus cardiaca* L.) обнаружены стахидрин $[\alpha]_D^{20} = -40,25$ (вода), рутин $[\alpha]_D^{20} = +13,82$ (1%, этанол) и гиперозид $[\alpha]_D^{20} = -83$ (0,2%, пиридин) [7]. Плоды боярышника (*Crataegus* L.) содержат урсоловую кислоту, удельное вращение которой в этаноле составляет $[\alpha]_D^{20} = +66$ (1%, этанол), а также витексин, для которого известна величина удельного вращения в пиридине $[\alpha]_D^{20} = -14,5$ (2,79%, пиридин) [8].

Таким образом, настойки как водно-спиртовые экстракты могут проявлять оптическую активность, знак и величина которой являются функцией химического состава, количества хиральных соединений и природы растворителя.

Поляриметрические измерения спиртовых разведений настоек валерианы, пустырника и боярышника подтвердили наше предположение об их оптической активности. Как и следовало ожидать, согласно закону Ж.-Б. Био, величина угла оптического вращения зависела от кратности разведения (рис. 2).

Оказалось, что независимо от производителя и номера серии настойки валерианы имеют только отрицательное значение угла вращения. Настойки пустырника в единичных случаях демонстрировали правое вращение. Настойки боярышника характеризовались переменным знаком угла оптического вращения.

Как оказалось, с ростом кратности разведения снижаются различия межсерийных результатов (см. рис. 2), поэтому для исследования настоек валерианы было выбрано разведение 95%-ным этанолом кратностью 1:40.

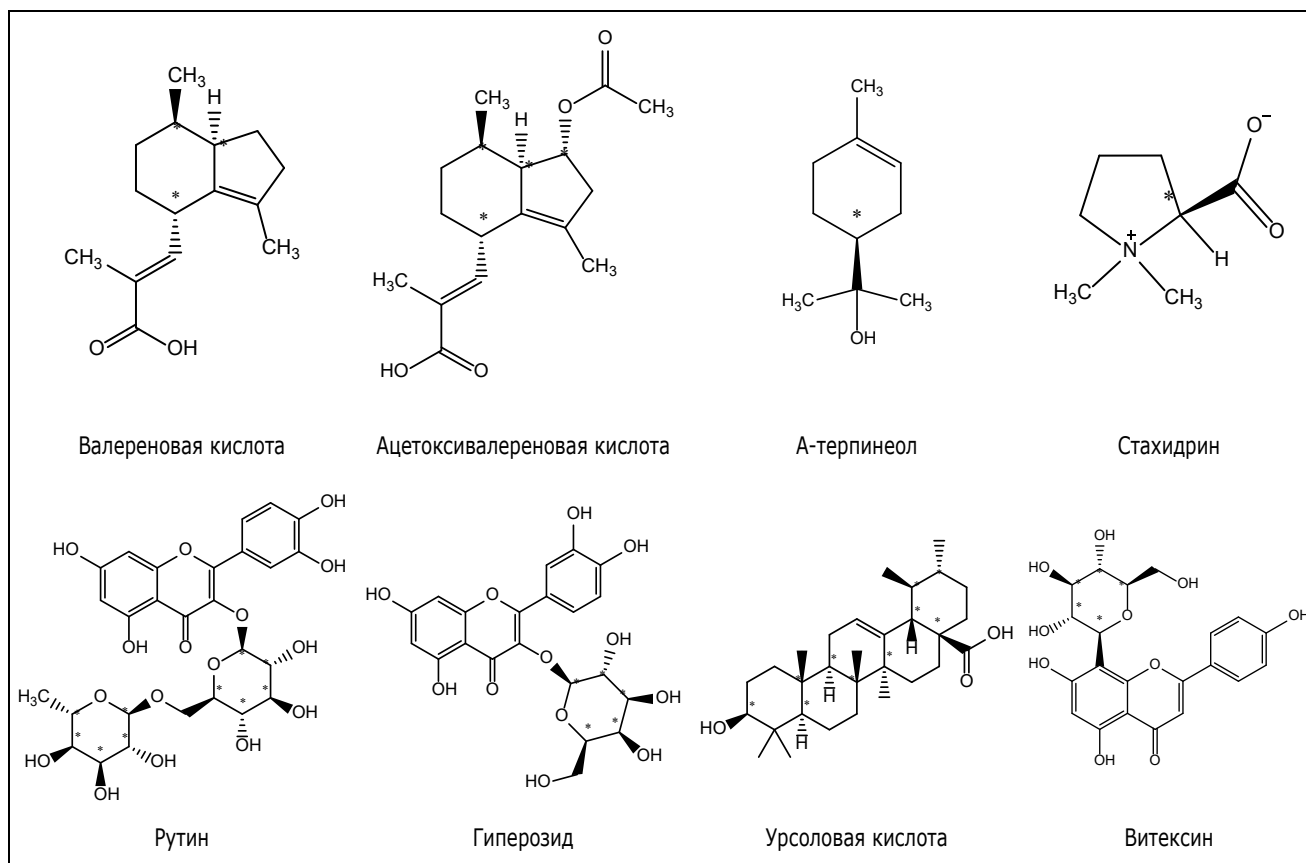


Рис. 1. Примеры оптически активных соединений, содержащихся в сырье валерианы, пустырника и боярышника (* – центры хиральности)

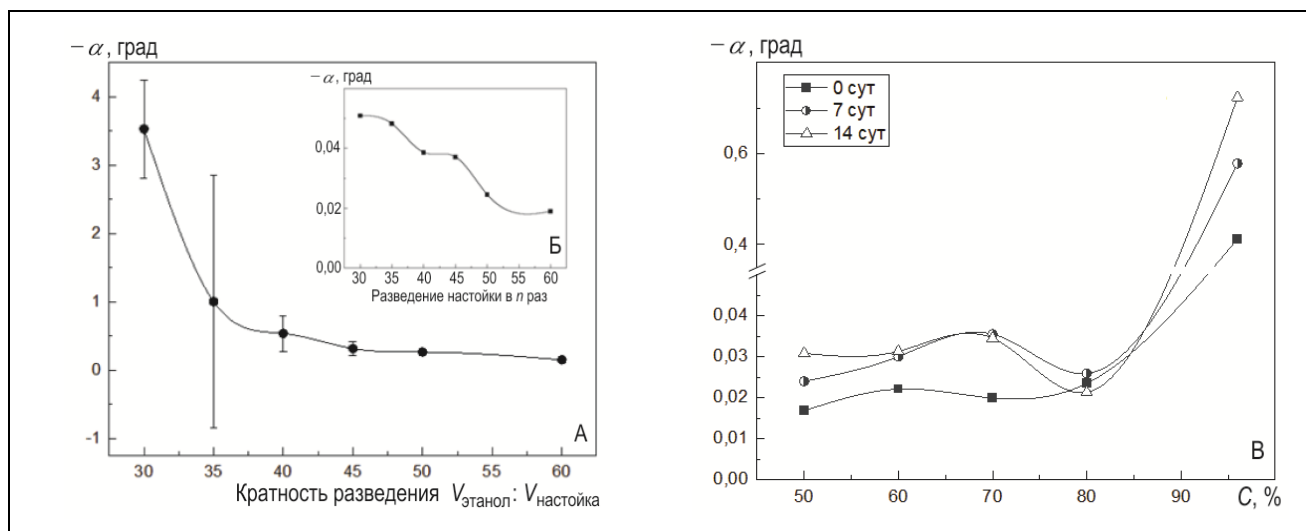


Рис. 2. Зависимость оптической активности ($\alpha_{\text{ср}} \pm \text{SD}$) настойки валерианы от кратности разведения 95%-ным этанолом (А) или водой (Б) и от концентрации этанола для разведения 1:40 в течение двух недель (В)

Для настоек пустырника и боярышника это разведение оказалось неинформативным из-за низкого значения угла вращения. В то же время разведение настойки пустырника 1:10 позволило проводить измерения во времени (рис. 3).

Измерения оптической активности необходимо проводить сразу после приготовления раствора, так как их хранение сопровождается увеличением угла оптического вращения, что, вероятно, связано с образованием хиральных продуктов деградации.

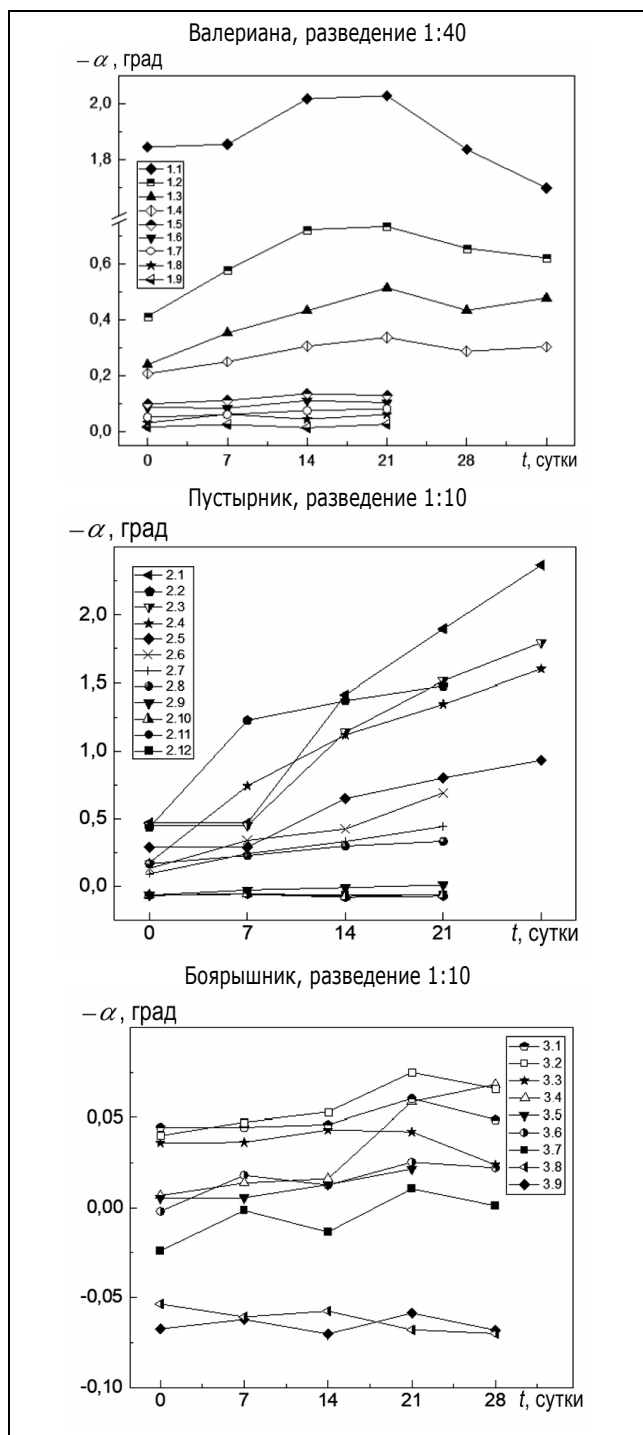


Рис. 3. Кинетика оптической активности настоек валерианы, пустырника и боярышника разных производителей и отдельных серий

При замене спирта на воду для разведения настойки валерианы оптическая активность снижалась более чем на порядок (см. рис. 2). В то же время следует отметить, что именно водные разведения содержали частицы дисперсной фазы ис-

ключительно в нано- и субмикрометровом диапазоне и характеризовались устойчивостью независимо от разведения (рис. 4). Действительно, на размерных спектрах водных разведений имеется стабильная полоса с максимумом при 122 нм, тогда как в спиртовых разведениях частицы дисперсной фазы неоднородны по размеру и занимают микрометровый диапазон. Стабильность водных разведений была подтверждена значениями электрокинетического потенциала, превышающего для некоторых образцов граничное значение устойчивости дисперсных систем в 30 мВ. Обнаруженная стабильность водных разведений может объясняться существованием в полярном растворителе гигантских гетерогенных кластеров, препятствующих укрупнению частиц дисперсной фазы [9]. Полученные результаты позволяют предположить, что разведение настойки водой перед приемом способствует беспрепятственному проникновению внутрь клетки (например, путем пиноцитоза) устойчивых нанометровых частиц, содержащих биологически активные соединения.

Стабильность спиртовых разведений также может быть оценена величиной электрокинетического потенциала (ξ -потенциала), который снижается с ростом угла оптического вращения (рис. 5). Число импульсов фотонов в секунду (кспс) антибатны значениям ξ -потенциалов и возрастает с увеличением α° , занимая рекомендуемый диапазон от 100 до 500 кспс. Для низких значений угла вращения ($|\alpha^\circ| < 0,5^\circ$) линейная зависимость нарушается, и в выбранном масштабе все точки группируются в интервале 150–200 кспс. Вероятно, в растворах с низким содержанием оптически активных соединений возрастает вклад в оптическую активность гигантских гетерогенных кластеров воды [9].

Полученные зависимости электрокинетического потенциала и числа импульсов фотонов от угла оптического вращения явились основанием для исключения из рассмотрения растворов с $|\alpha^\circ| < 0,1^\circ$ и $|\alpha^\circ| < 2,5^\circ$ в связи с их нестабильностью.

Известно, что один из возможных путей биотрансформации – это хиральное переключение, сопровождающееся стереоизомеризацией или образованием новых оптически активных продуктов [10]. Поляриметрический контроль разведений настоек в процессе хранения показал, что независимо от производителя, серии и начальной оптической активности наблюдается увеличение отрицательного угла вращения. Исключение составля-

ют настойки с начальным значением $|\alpha^0| < 0,1^\circ$ (см. рис. 3). Эти образцы были исключены из рассмотрения в предположении их низкого качества. Правильность такого решения подтверждает тот факт, что интенсивность окраски настоек с низкой оптической активностью менее выражена, чем это тре-

бовал производственный регламент. Несомненно, что эти два показателя – окраска и низкая оптическая активность – свидетельствуют об использовании некачественного сырья или обусловлены технологической причиной недостаточной степени экстракции биологически активных компонентов.

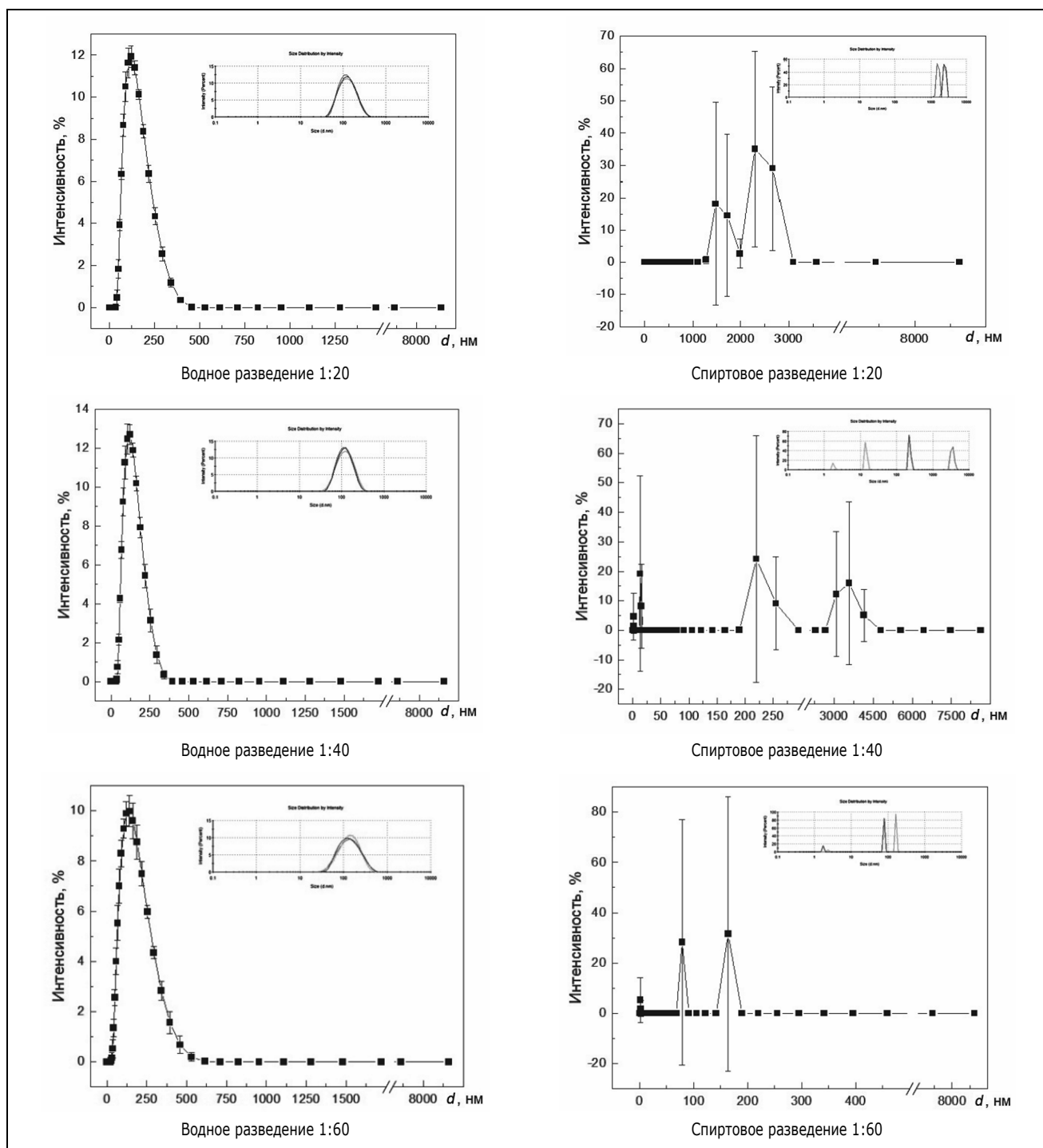


Рис. 4. Размерные спектры динамического светорассеяния (DLS) свежеприготовленных водных (слева) и спиртовых (справа) разведений настойки валерианы; ($I_{cp} \pm SD$), $n=3$, $p < 0,05$.

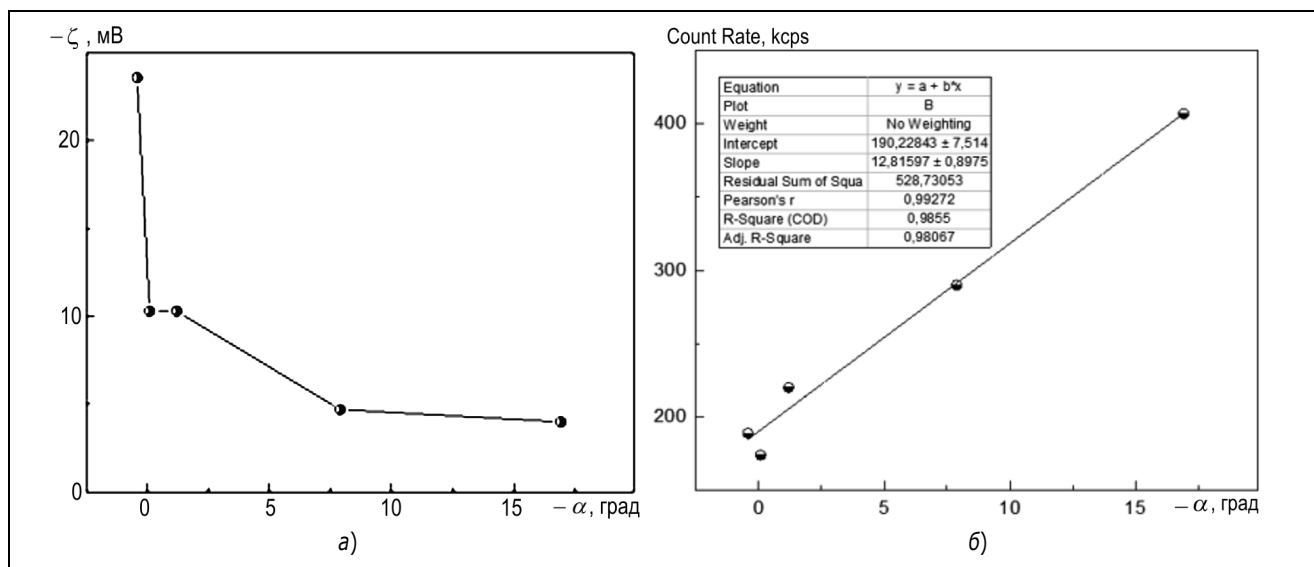


Рис. 5. Взаимосвязь оптической активности α° с ζ -потенциалом (а) и числом импульсов фотонов (б) для настойки боярышника

Полученные результаты позволяют идентифицировать настойки валерианы, пустырника и боярышника в следующей последовательности действий:

1) настойки валерианы, пустырника, боярышника развести 95%-ным этанолом в соотношении 1:40 так, чтобы объем соответствовал размеру кюветы поляриметра. Угол оптического вращения настойки валерианы находится в интервале $-0,10^\circ < \alpha^\circ < -0,89^\circ$ ($n=10$, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x} = -0,240 \pm 0,093$). Значения α° настойки пустырника и настойки боярышника в указанном разведении близки к нулю;

2) настойки пустырника и боярышника развести 95%-ным этанолом в соотношении 1:10. Угол оптического вращения настойки пустырника находится в интервале $-0,10^\circ < \alpha^\circ < -2,21^\circ$ ($n=13$, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x} = -0,616 \pm 0,381$). Значение α° настойки боярышника в указанном разведении близко к нулю;

3) измерить оптическую активность настойки боярышника без разведения. Угол оптического вращения находится в интервале $-0,76^\circ < \alpha^\circ < -1,55^\circ$ ($n=7$, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x} = -1,17 \pm 0,27$).

Таким образом, хиральные компоненты настоек с одним или несколькими стереоцентрами представляют интерес не только с точки зрения их селективных биологических эффектов [11], но и могут быть использованы в качестве биомаркеров лекарственных препаратов.

Выводы

1. Разработана методика, основанная на измерении оптической активности разведений нас-

тоек 95%-ным этанолом, позволяющая различить настойки и охарактеризовать их качество. Угол оптического вращения настоек валерианы находится в интервале $-0,10^\circ < \alpha^\circ < -0,89^\circ$ (кратность разведения 1:40), пустырника $-0,10^\circ < \alpha^\circ < -2,21^\circ$ (кратность разведения 1:10), боярышника $-0,76^\circ < \alpha^\circ < -1,55^\circ$ (без разведения).

2. Взаимосвязь угла оптического вращения α° с электрокинетическим потенциалом и числом импульсов фотонов позволила охарактеризовать настойки, спиртовые разведения которых соответствующей кратности имеют $|\alpha^\circ| < 0,1^\circ$ и $|\alpha^\circ| > 2,5^\circ$ как нестабильные дисперсные системы, не соответствующие требованиям технологического регламента.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Shinjo N., Waddell G., Green J. Valerian Root in Treating Sleep Problems and Associated Disorders – A Systematic Review and Meta-Analysis. Journal of Evidence-Based Integrative Medicine. 2020; 25: 2515690X2096732.
2. EMA. European Union Herbal Monograph on Valeriana Officinalis L. Radix. 2016.
3. Lunz K., Stappen I. Back to the Roots – An overview of the chemical composition and bioactivity of selected root-essential oils. Molecules. 2021; 26(11):3155.
4. Pharmacopoeia 10.0. V. I. Valerian tincture. Valerianae tinctura, 2019: 1664–1665.
5. Государственная фармакопея РФ. Изд. XIV. Т. 2. ОФС. 1.4.1.0019.15 «Настойки». Доступно по: <http://femb.ru/femb/pharmacopoeia.php> [Gosudarstvennaya farmakopeya RF. Izd. XIV. T. 2. OFS.1.4.1.0019.15 «Nastoyki». Access mode: <http://femb.ru/femb/pharmacopoeia.php> (in Russian)].
6. Государственная фармакопея РФ. Изд. XIV. Т. 4. ФС.2.5.0009.15 «Валерианы лекарственной корневища с корнями». Доступно по: <http://femb.ru/femb/>

- pharmacopea.php [Gosudarstvennaya farmakopeya RF. Izd. XIV. T. 4. FS.2.5.0009.15 «Valeriany lekarstvennoi kornevishcha s kornyami». Access mode: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> (in Russian)].
7. Fierascu R.C., Fierascu I., et al. Leonurus cardiaca L. as a source of bioactive compounds: an update of the European medicines agency assessment report (2010). BioMed Research International. 2019: 4303215.
 8. Żurek N., Karatsai O., Rędownicz M.J., Kapusta I.T. Polyphenolic compounds of crataegus berry, leaf, and flower extracts affect viability and invasive potential of human glioblastoma cells. Molecules. 2021; 26(9): 2656.
 9. Goncharuk V.V., Syroeshkin A.V., Pleteneva T.V., Uspenskaya E.V., Levitskaya O.V., Tverdislov V.A. On the Possibility of Chiral Structure-Density Submillimeter Inhomogeneities Existing in Water. Journal of Water Chemistry and Technology. 2017; 39(6):319-324.
 10. Coelho M.M., Fernandes C., Remião F., Tiritan M.E. Enantioselectivity in Drug Pharmacokinetics and Toxicity: Pharmacological Relevance and Analytical Methods. Molecules. 2021; 26(11): 3113.
 11. Pinto C., Cidade H., Pinto M., Tiritan M.E. Chiral Flavonoids as Antitumor Agents. Pharmaceuticals. 2021; 14:1267.

Поступила 27 июня 2022 г.

IDENTIFICATION OF TINCTURES BY THE POLARIMETRIC METHOD

© Authors, 2022

A.V. Syroeshkin

Dr.Sc. (Biol.), Professor, Head of Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia (Moscow, Russia)
E-mail: livmatter@mail.ru

D.D. Ogotoeva

Post-graduate Student, Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia (Moscow, Russia)

D.A. Galkina

Post-graduate Student, Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia (Moscow, Russia)

M.A. Dzhavakhyan

Dr.Sc. (Pharm.), Chief Research Scientist, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow, Russia)

T.E. Elizarova

Ph.D. (Pharm.), General Manager «KoAl Farmanaliz» LLC (Moscow, Russia)

E.V. Uspenskaya

Dr.Sc. (Pharm.), Professor, Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia (Moscow, Russia)

T.V. Pleteneva

Dr.Sc. (Chem.), Professor, Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia (Moscow, Russia)

Relevance. The ambiguity of the observed therapeutic effects of tinctures and the absence of pharmacopoeial articles require the development of new approaches to their quality control. In this work, for the first time, the polarimetry method and the dynamic light scattering method were used to identify tinctures with sedative and cardiotoxic effects.

The purpose. To develop the methods of polarimetry and dynamic light scattering for quality control of valerian, motherwort and hawthorn tinctures

Material and methods. Objects of research: tinctures of rare series from different manufacturers. Methods: polarimetry (POL-1/2, Atago, Japan); dynamic light scattering method - DLS (Zetasizer Nano ZS, Malvern, UK).

Results. Polarimetric method established that tinctures are optically active environment. This made it possible to develop a method for identifying tinctures with sedative and cardiotoxic effects, which is based on measuring the optical rotation angle of 95% ethanol dilutions of different multiplicities. When diluting valerian tincture in a ratio of 1:40, the angle of optical rotation is in the range of $-0.10^\circ < \alpha^\circ < -0.89^\circ$, and the values of α° of motherwort and hawthorn tinctures in this dilution are close to zero. When diluting motherwort tincture in a ratio of 1:10, the angle of optical rotation is in the range of $-0.10^\circ < \alpha^\circ < -2.21^\circ$. Hawthorn tincture should be identified without dilution: $-0.76^\circ < \alpha^\circ < -1.55^\circ$.

It was found that aqueous dilutions of tinctures contained stable particles of the dispersed phase in the nanometer range, which makes it possible to predict their high bioavailability. During statistical processing of the results, tinctures with a rotation angle of $|\alpha^\circ| < 0.1^\circ$ and $|\alpha^\circ| > 2.5^\circ$ were excluded from consideration as unstable dispersed systems.

Conclusions. A polarimetric method for identifying tinctures based on measuring the optical activity of dilutions with 95% ethanol has been developed. The angle of optical rotation of valerian tinctures is in the range $-0.10^\circ < \alpha^\circ < -0.89^\circ$ (multiplicity of dilution 1:40), motherwort – $-0.10^\circ < \alpha^\circ < -2.21^\circ$ (multiplicity of dilution 1:10), hawthorn – $-0.76^\circ < \alpha^\circ < -1.55^\circ$ (without dilution).

The relationship of the angle of optical rotation α° with the electrokinetic potential and the number of photon pulses was the basis for excluding from the study solutions with $|\alpha^\circ| < 0.1^\circ$ and $|\alpha^\circ| > 2.5^\circ$ as unstable disperse systems.

Key words: tinctures of valerian, motherwort, hawthorn, polarimetry, dynamic light scattering.

For citation: Syroeshkin A.V., Ogotoeva D.D., Galkina D.A., Dzhavakhyan M.A., Elizarova T.E., Uspenskaya E.V., Pleteneva T.V. Identification of tinctures by the polarimetric method. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2022;25(9):3–9. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-09-01>