

УДК 615.32:582.923.1:615.074
DOI: 10.15587/2313-8416.2016.67687

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТРЕБОВАНИЙ ЕВРОПЕЙСКОЙ И НЕМЕЦКОЙ ФАРМАКОПЕЙ К ИСПЫТАНИЮ «ПОКАЗАТЕЛЬ ГОРЕЧИ»

© Я. А. Проскурова, С. Н. Губарь, Э. Э. Котова, А. Г. Котов

Проведен сравнительный анализ требований монографий «Centauru» Европейской фармакопеи (ЕФ 8.4) и «Tausendgüldenkraut» Немецкой фармакопей (DAB 10) к испытанию «Показатель горечи». Показано, что результаты исследования 21 серии золототысячника травы, собранной в разных регионах Украины, соответствуют регламентируемым требованиям монографии ЕФ 8.4 «Centauru» и характеризуются недостаточной сходимостью результатов.

Цель. Целью нашего исследования было сравнение требований к тесту «Показатель горечи» ЕФ 8.4 и DAB 10, обоснование выбора проведения методики в соответствии с требованиями ЕФ.

Методы. Испытание 2.8.15 «Показатель горечи», описанное в разделе 2.8 «Методы фармакогнозии» (ЕФ/ГФУ), которое позволяет определять общее содержание горечей в лекарственном растительном сырье.

Результаты. Экспериментально определено содержание горечей в 21 серии травы золототысячника. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что проанализированные образцы золототысячника травы соответствуют регламентируемым требованиям монографии ЕФ 8.4 «Показатель горечи».

Выводы. Проведено испытание отечественных образцов сырья золототысячника травы по «Показателю горечи» в соответствии с требованиями монографий ЕФ 8.4 «Centauru» и «Tausendgüldenkraut» DAB 10. Сравнительный анализ нормативных документов показал, что испытание «Показатель горечи» целесообразно проводить в соответствии с требованиями 2.8.15 «Показатель горечи» ЕФ 8.4/ГФУ. Данная методика основывается на субъективной оценке и чувствительности вкусовых рецепторов экспертов, что может приводить к недостаточной сходимости результатов определения содержания горечей разными экспертами

Ключевые слова: золототысячника трава, испытание «Показатель горечи», секоиридоидные гликозиды (горечи), Европейская фармакопея, Немецкая фармакопея, Государственная фармакопея Украины

A comparative analysis of European (PhEur 8.4) and «Tausendgüldenkraut» German (DAB 10) pharmacopoeias requirements to the "Bitterness value" test was carried out. It has been shown, that the results of research of 21 series of centaury herb, collected in different regions of Ukraine, meets the PhEur 8.4 requirements «Centauru» and are characterized by poor convergence of results.

Aim. The aim of our research was to compare PhEur 8.4 and DAB 10 requirements to the "Bitterness value" test, and to substantiate the choice of method according to the PhEur requirements.

Methods. 2.8.15. "Bitterness value" test, described in 2.8. "Pharmacognosy methods" chapter (PhEur/SPhU), which allows determining general bitters content in herbal material.

Results. Bitters content in 21 series of centaury herb was determined. Results of research show that the analyzed samples of centaury herb meet the requirements of PhEur 8.4. Monograph "Bitterness value".

Conclusion. National samples of centaury herb study in terms of "Bitterness value" according to the PhEur 8.4. «Centauru» and «Tausendgüldenkraut» DAB 10 Monographs requirements was carried out. A comparative analysis of the normative documents has shown that the "Bitterness value" test is rational to carry out in accordance to 2.8.15. "Bitterness value" PhEur 8.4/SPhU. The given method is based on subjective assessment and sensitivity of experts' taste receptors, which can lead to poor convergence of results of bitters content determination by different experts

Keywords: centaury herb, "Bitterness value" test, sekoiridoid glycosides (bitters), European pharmacopoeia, German pharmacopoeia, State Pharmacopoeia of Ukraine

1. Введение

В наше время для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта, почек и мочевыводящих путей все большее значение приобретают фитопрепараты, в состав которых входят биологически активные вещества (БАВ) травы золототысячника [1–3]. Контроль качества лекарственного растительного сырья (ЛРС) для фармацевтического применения является необходимой частью современных требований к производству качественной продукции [4]. Основной класс БАВ, который проявляет фармакологическую активность сырья золототысячника – секоиридоидные гликозиды, или

горечи [5–8]. Одним из актуальных методов количественного определения БАВ в траве золототысячника является «Показатель горечи» – метод фармакогнозии, описанный в статье 2.8.15 ЕФ/Государственная фармакопея Украины (ГФУ) [9, 10].

2. Постановка проблемы в общем виде, актуальность темы и ее связь с важнейшими научными и практическими вопросами

В связи с отсутствием национальной монографии на траву золототысячника, были изучены и использованы требования ведущих фармакопей: моно-

графіи «Centaury» ЕФ 8.4 [10] и монографіи «Tausendgüldenkrout» DAB 10 [11] для проведення количественного содержания БАВ, а именно: «Показатель горечи».

3. Анализ последних исследований и публикаций, в которых начато решение данной проблемы

Несмотря на то, что стремительно развиваются физико-химические методы исследования, не теряет актуальность органолептический метод определения горечей. Одним из преимуществ данного эксперимента является легкость в проведении.

Показатель горечи представляет собой величину, обратную разведению смеси, жидкости или экстракта, при котором еще ощущается горький вкус. Данное испытание построено на индивидуальной чувствительности экспертом горького вкуса специально приготовленных растворов и определяется путем сравнения с раствором хинина гидрохлоридом, показатель горечи которого равен 200 000. В данном испытании вкусовая экспертиза проводится с участием не менее 6 экспертов [9].

4. Выделение не решенных ранее частей общей проблемы, которой посвящена статья

Для решения поставленной проблемы необходимо было провести сравнительный анализ требований методик ЕФ 8.4/ГФУ и DAB 10, а также экспериментально подтвердить целесообразность проведения данного теста по требованиям выбранной методики.

5. Формулирование целей (задачи)

Целью нашего исследования являлось сравнение требований к тесту «Показатель горечи» ЕФ 8.4/ГФУ и DAB 10 и оценка сходимости результатов определения горечей в траве золототысячника.

6. Изложение основного материала исследования (методов и объектов) с обоснованием полученных результатов

В монографиях ЕФ 8.4 и DAB 10 на золототысячника траву предлагают проводить количественное определение горечей, как наиболее специфических БАВ этого вида ЛРС. Регламентированные значения показателя горечи в обоих документах одинаковые (не менее 2000), но условия проведения испытания «Показатель горечи» в указанных фармакопеях отличаются.

Первый этап по требованиям ЕФ 8.4/ГФУ и DAB 10 заключается в коррекции индивидуальных различий при определении горечи среди экспертов путем определения коэффициента корреляции для каждого. Для этого готовят основной раствор хинина гидрохлорида: 1 мл 1,0 % хинина гидрохлорида разбавляют водой до получения 100 мл раствора. Из этого основного раствора производится следующий ряд разбавлений: начиная с 4,2 мл основного раствора с градацией от 0,2 до 5,8 мл, основной раствор разбавляется водой до 10 мл.

После дегустации растворов, рассчитывают для каждого из экспертов коэффициент корреляции k по формуле. ЕФ 8.4/ГФУ предлагает такую формулу:

$$k = \frac{n}{5.00},$$

где n – количество миллилитров основного раствора в разведении наименьшей концентрации, в котором был определен горький вкус. DAB 10 предлагает несколько другую формулу:

$$k = \frac{5.00}{n}.$$

Эксперты, которые не чувствуют горький вкус при испытании раствора сравнения, приготовленного с 5,8 мл основного раствора, исключаются из комиссии.

Следующий этап заключается в приготовлении образцов с использованием порошка ЛРС, который просеивают через сито 710.

В ЕФ 8.4/ГФУ начальный объем кипящей воды, которым обрабатывается образец – 100 мл. DAB 10 описывает аналогичную методику проведения с начальным объемом воды – 1000 мл. Приготовление испытуемого раствора, таким образом, заключается в следующем: к 1,0 г образца добавляют (100 мл – по ЕФ 8.4/ГФУ, 1000 мл – по DAB 10) кипящей воды P и нагревают на водяной бане в течение 30 мин при постоянном перемешивании. Охлаждают, доводят водой P до объема 100 мл (DAB 10 – 1000 мл), энергично встряхивают и фильтруют, отбрасывая первые 2 мл (DAB 10 – 20 мл) фильтрата.

DAB 10 не дает подробных указаний дальнейшего разведения исследуемого раствора, который получают из ЛРС. Указано лишь то, что, учитывая коэффициент корреляции k , аликвотная часть фильтрата должна быть разбавлена до определенной концентрации, соответствующей минимальным требованиям к данному показателю горечи. Следующие 10 мл этого раствора должны иметь более горький вкус.

В методике ЕФ 8.4/ГФУ (2.8.15) четко определен порядок разведений испытуемого раствора: полученный фильтрат (С-1) имеет фактор разведения (ФР) – 100. Проводят разведения по таблице до раствора С-4.

Испытуемые растворы готовят в соответствии с табл. 1.

Таблица 1

Приготовление испытуемых растворов

Раствор	Приготовление
С-2	10.0 мл С-1 доводят водой P до 100 мл (ФР=1000)
С-3	10.0 мл С-2 доводят водой P до 100 мл (ФР=10 000)
С-3А	20.0 мл С-3 доводят водой P до 100 мл (ФР=50 000)
С-4	10.0 мл С-3 доводят водой P до 100 мл (ФР=100 000)

Начиная с разведения С-4, каждый эксперт определяет разведение, при котором ощущается горький вкус. Этот раствор обозначают как D. Для раствора D определяют фактор разведения (Y).

Начиная с раствора D, готовят разведения в последовательности, которая представлена в 2.8.15 ДФУ, табл. 2 [9]:

Таблица 2

Разведения растворов

Раствор D (мл)	1,2	1,5	2,0	3,0	6,0	8,0
Вода P (мл)	8,8	8,5	8,0	7,0	4,0	2,0

Определяют количество миллилитров (X) раствора D, которые доводят водой P до объема 10,0 мл и при этом раствор будет иметь горький вкус.

Рассчитывают показатель горечи по формуле:

$$\left(\frac{Y \times k}{X \times 0.1} \right).$$

Показатель горечи испытуемого образца рассчитывают как среднее значение показателей горечи, определенных всеми членами комиссии. Данный метод является органолептическим и субъективным, который основывается на чувствительности рецепторов экспертов, в связи с чем, погрешность эксперимента может достигать до 20 % [12].

Сравнительный анализ требований ведущих фармакопей, регламентирующих качество травы золототысячника по показателю горечи, показал, что в монографии ЕФ 8.4 приведены более подробные уточнения (таблица разведения фильтрата испытуемого раствора) в проведении данной методики, которые либо отсутствуют в DAB 10, или даны не четко. Это касается как самого приготовления испытуемого раствора, так и его разведения, что в данном случае является не менее важной составляющей при проведении анализа исследуемого сырья. Важным аспектом является то, что в ГФУ требования по проведению методики гармонизированы с ЕФ 8.4. Поэтому целесообразно проводить исследования «Показатель горечи» травы золототысячника в соответствии с требованиями ЕФ 8.4.

В качестве исследуемых объектов были выбраны 21 серия ЛРС травы золототысячника, собранные в разных регионах Украины в течение 2012–2014 годов. Результаты исследования представлены в табл. 3.

Таблица 3

Результаты определения «Показатель горечи» травы золототысячника

№ серии	Область, год	Значения показателя горечи каждого из экспертов							Среднее значение	RSD, %
		1	2	3	4	5	6			
1	Харьковская, 2012	38000	25333	40000	28000	13333	32000	29444	33	
2	Полтавская, 2012	50667	25333	26667	28000	40000	32000	33778	29	
3	Сумская, 2012	25333	25333	13333	14000	10000	16000	17333	37	
4	Днепропетровская, 2012	25333	25333	40000	42000	13333	12000	26333	48	
5	Львовская, 2012	38000	25333	13333	10500	13333	12000	18750	58	
6	Киевская, 2012	50667	25333	26667	10500	26667	16000	25972	53	
7	Волынская, 2012	38000	25333	13333	10500	26667	16000	21639	48	
8	Харьковская, 2013	50667	25333	40000	26667	13333	29333	30889	42	
9	Киевская, 2013	26667	40000	14667	26667	13333	28000	24667	40	
10	Львовская, 2013	38000	40000	38000	13333	26667	28000	30667	33	
11	Полтавская, 2013	50667	40000	38000	26667	13333	29333	33000	39	
12	Сумская, 2013	50667	26667	38000	25333	13333	29333	30556	41	
13	Днепропетровская, 2013	13333	25333	40000	26667	13333	14667	22222	48	
14	Волынская, 2013	25333	40000	38000	26667	13333	29333	28778	34	
15	Львовская, 2014	3600	5200	3600	9333	7733	9667	6522	42	
16	Харьковская, 2014	7105	6933	7200	9333	145000	1933	10734	48	
17	Полтавская, 2014	3600	5200	3600	1867	3867	1933	3345	38	
18	Днепропетровская, 2014	3600	5200	5400	9333	7733	1933	5533	49	
19	Ивано-Франковская, 2014	5400	8667	3600	3733	9667	7733	6467	40	
20	Ровенская, 2014	9000	8667	3600	3733	1933	3867	5133	58	
21	Волынская, 2014	3600	5200	3600	1867	14500	1450	5036	42	

Результаты исследования, приведенные в табл. 3, свидетельствуют о недостаточной сходимости результатов, так как значение погрешности (RSD) превышает 20 %. Такое расхождение может свидетельствовать о субъективной оценке, неточности экспертов при дегустации, различной чувствительности вкусовых рецепторов и особенности сырья.

Как видно из данных табл. 3, все проанализированные образцы удовлетворяли регламентируемым требованиям ЕФ 8.4 – не менее 2000. Результаты, полученные в процессе исследования различных серий сырья, колебались в пределах от 5100 до 33000. Это может объясняться целым рядом причин, включая недостаточную объективность результатов, полученных по описанной методике, так и тем, что содержание БАВ в растениях одного вида не всегда постоянно и под влиянием различных причин может отличаться. На состав БАВ могут влиять такие факторы окружа-

ющей среды, как температура воздуха, осадки, световой режим места произрастания, химический состав почвы, механические повреждения и болезни растений, паразиты, и т. д. Так же он может изменяться и в процессе хранения ЛРС. Так же он может изменяться и в процессе хранения ЛРС, и из-за несоблюдения правил и особенностей сбора ЛРС золототысячника травы [13, 14].

7. Выводы

1. Проведен сравнительный анализ требований методик, описанных в фармакопеях ЕФ 8.4 и DAB 10, к испытанию «Показатель горечи», и обоснована целесообразность выбора методики по ЕФ 8.4.

2. Проведено испытание отечественных образцов сырья золототысячника травы по «Показателю горечи» в соответствии с требованиями монографий «Centaury» ЕФ 8.4 и «Tausendgoldkraut» DAB 10.

3. На основании полученных результатов можно сделать вывод, что *испытание 2.8.15* «Показатель горечи» основывается на субъективной оценке и чувствительности вкусовых рецепторов экспертов, что приводит к завышенной погрешности результатов, поэтому для объективного количественного определения БАВ в золототысячника траве рекомендуются дополнительные исследования более точными и современными методами анализа.

Литература

1. Синякова, Л. А. Профилактика рецидивов инфекций мочевых путей [Текст] / Л. А. Синякова, И. В. Косова // Урология. – 2009. – № 2. – С. 22–25.
2. Перепанова, Т. С. Растительный препарат Канефрон®Н в лечении и профилактике инфекций мочевых путей [Текст] / Т. С. Перепанова, П. Л. Хазан // Врачебное сословие. – 2005. – № 5. – С. 44–46.
3. Калинина, С. Н. Роль Канефрона®Н при лечении хронического пиелонефрита и профилактике его осложнений [Текст] / С. Н. Калинина, О. Л. Тиктинский, В. А. Семенов и др. // Урология. – 2006. – № 1. – С. 22–25.
4. Kunle, O. F. Standardization of herbal medicines – A review [Text] / O. F. Kunle // International Journal of Biodiversity and Conservation. – 2012. – Vol. 4, Issue 3. – P. 101–112. doi: 10.5897/ijbc11.163
5. Ahmed, E. New secoiridoid ester of swertiamarin and secoxyloganic acid with hepatoprotective activity from Centaurea spicata L [Text] / E. A. Ahmed, M. N. Alaa, A. E. Mohamed et al // Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research. – 2015. – Vol. 3, Issue 3. – P. 69–76.
6. Munir, A. Enicostema littorale: A new source of swertiamarin [Text] / A. Munir, A. Mansoor, A. Muhammad et al // Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. – 1996. – Vol. 9, Issue 1. – P. 29–35.
7. Jerković, I. Volatile Organic Compounds from Centaurea erythraea Rafn (Croatia) and the Antimicrobial Potential of Its Essential Oil [Text] / I. Jerković, D. Gašo-Sokač, H. Pavlović, Z. Marijanović, M. Gugić, I. Petrović, S. Kovač // Molecules. – 2012. – Vol. 17, Issue 12. – P. 2058–2072. doi: 10.3390/molecules17022058
8. Aberhama, A. Analysis of iridoids, secoiridoids and xanthenes in Centaurea erythraea, Fraxina carolinensis and Gentiana lutea using LC–MS and RP–HPLC [Text] / A. Aberham, V. Pieri, E. M. Croom, E. Ellmerer, H. Stuppner // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2011. – Vol. 54, Issue 3. – P. 517–525. doi: 10.1016/j.jpba.2010.09.030
9. Показник гіркоти (2.8.15). Державна Фармакопея України. Т. 1 [Текст] / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Х.: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – С. 384.
10. European Pharmacopoeia [Text]. – 8.4-th ed. – Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2015.

Губарь Светлана Николаевна, кандидат фармацевтических наук, заведующая лабораторией, Государственная научно-исследовательская лаборатория по контролю качества лекарственных средств, Национальный фармацевтический университет, ул. Пушкинская, 53 г. Харьков, Украина, 61002
E-mail: labcq@ukr.net

Проскурова Яна Александровна, ассистент, кафедра ботаники, Национальный фармацевтический университет, ул. Пушкинская, 53 г. Харьков, Украина, 61002
E-mail: Proskurik@rambler.ru

Котов Андрей Георгиевич, доктор фармацевтических наук, старший научный сотрудник, Начальник отдела ГФУ, ГП «УНФЦЯЛЗ», ул. Астрономическая, 33, г. Харьков, Украина, 61085

Котова Елена Эдуардовна, кандидат фармацевтических наук, старший научный сотрудник, заведующий сектором, Сектор экспериментальной поддержки разработки монографий на ЛРС, ГП «УНФЦЯЛЗ», ул. Астрономическая, 33 м. Харьков, Украина, 61085

11. Tausendgüldenkraut. DAB 10. Kommentar [Text]. – Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 1991. – 152 p.
12. Kommentar zum DAB 10 [Text]. – V.4.4.N1 Bestimmung des Bitterwertes». Grundlfg, 1991.
13. Сур, С. Проблеми та перспективи розробки і впровадження сучасних лікарських засобів рослинного походження [Текст] / С. Сур, О. Гриценко // Ліки України. – 2002. – № 4. – С. 47–49.
14. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals [Text]. – Medpharm Scientific Publishers. – Stuttgart, 1994. – 566 p.

References

1. Sinjakova, L. A., Kosova, I. V. (2009). Profilaktika recidivov infekcij mochevyh putej. Urologija, 2, 22–25.
2. Perepanova, T. S., Hazan, P. L. (2005). Rastitel'nyj preparat Kanefron®N v lechenii i profilaktike infekcij mochevyh putej. Vrachebnoe soslovie, 5, 44–46.
3. Kalinina, S. N., Tiktinskij, O. L., Semenov, V. A. et al (2006). Rol' Kanefrona®N pri lechenii hronicheskogo pielonefrita i profilaktike ego oslozhenij. Urologija, 1, 22–25.
4. Kunle, O. F. (2012). Standardization of herbal medicines – A review. International Journal of Biodiversity and Conservation, 4 (3), 101–112. doi: 10.5897/ijbc11.163
5. Ahmed, E., Alaa, M. N., Mohamed, A. E. et al (2015). New secoiridoid ester of swertiamarin and secoxyloganic acid with hepatoprotective activity from Centaurea spicata L. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research, 3 (3), 69–76.
6. Munir, A., Mansoor, A., Muhammad, A. et al (1996). Enicostema littorale: A new source of swertiamarin. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 9 (1), 29–35.
7. Jerković, I., Gašo-Sokač, D., Pavlović, H., Marijanović, Z., Gugić, M., Petrović, I., Kovač, S. (2012). Volatile Organic Compounds from Centaurea erythraea Rafn (Croatia) and the Antimicrobial Potential of Its Essential Oil. Molecules, 17 (12), 2058–2072. doi: 10.3390/molecules17022058
8. Aberhama, A., Pieri, V., Croom, E. M., Ellmerer, E., Stuppner, H. (2011). Analysis of iridoids, secoiridoids and xanthenes in Centaurea erythraea, Fraxina carolinensis and Gentiana lutea using LC–MS and RP–HPLC. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 54 (3), 517–525. doi: 10.1016/j.jpba.2010.09.030
9. Pokaznyk girkyoty (2.8.15). Derzhavna Farmakopeja Ukrainy. Vol. 1 (2015). Kharkiv: DP «Ukrain's'kyj naukovyj farmakopejnyj centr jakosti likars'kyh zasobiv», 384.
10. European Pharmacopoeia (2015). Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines.
11. Tausendgüldenkraut. DAB 10. Kommentar (1991). Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 152.
12. Kommentar zum DAB 10 (1991). V.4.4.N1 Bestimmung des Bitterwertes». Grundlfg.
13. Sur, S., Grycenko, O. (2002). Problemy ta perspektyvy rozrobky i vprovadzhennja suchasnyh likars'kyh zasobiv roslynnoho pohodzhennja. Liky Ukrainy, 4, 47–49.
14. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals (1994). Medpharm Scientific Publishers. Stuttgart, 566.

Дата надходження рукопису 17.03.2016