

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛИСТЬЕВ АЛОЭ ДРЕВОВИДНОГО (ALOE ARBORESCENS MILL.)

Т.К. Рязанова¹, В.А. Куркин¹, А.А. Шмыгарева², С.Н. Глущенко¹, А.И. Агапов¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия;

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Оренбург, Россия

Как цитировать: Рязанова Т.К., Куркин В.А., Шмыгарева А.А., Глущенко С.Н., Агапов А.И. Актуальные вопросы стандартизации листьев алоэ древовидного (*Aloe arborescens* Mill.) // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 78–86. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.78-86>

Поступила: 15.07.2021

Одобрена: 19.08.2021

Принята: 06.09.2021

■ **Обоснование.** Листья алоэ древовидного (*Aloe arborescens* Mill.) содержат в своем составе целый комплекс биологически активных соединений (производные антрахинона, антрона, пирона, биополимеры и др.), их широко применяют в медицинской практике в качестве сырья для получения противовоспалительных и ранозаживляющих средств. Наличие в составе листьев антраценпроизводных обуславливает слабительную активность сырья и препаратов, что подчеркивает особую значимость препаратов алоэ древовидного для внутреннего применения при воспалительных заболеваниях, сопровождающихся запорами и снижением секреторной активности. Другим биологически активным соединением, с которым может быть связана противовоспалительная активность листьев алоэ, является производное пирона — алоэнин. В то же время, несмотря на широкое применение в медицине и изученность химического состава, остаются актуальными проблемы в области стандартизации сырья и препаратов алоэ древовидного. Описанные в литературе методики определения количественного содержания антраценпроизводных многостадийны, предусматривают предварительный кислотный гидролиз в сочетании с окислением, жидкость-жидкостную экстракцию образовавшихся агликонов и комплексообразование с ацетатом магния. В утвержденной нормативной документации на сырье и препараты алоэ не предусмотрено количественное определение алоэнина.

Цель — разработка методов определения количественного содержания биологически активных соединений в сырье и препаратах свежих листьев алоэ древовидного с использованием спектрофотометрического метода и метода высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Материалы и методы. Объектами исследования были свежие листья *Aloe arborescens* Mill., полученный *ex tempore* сок из свежих листьев алоэ древовидного. Образцы сырья собирали летом и осенью 2020 г. в Зимнем саду кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии Самарского государственного медицинского университета. Индивидуальные вещества выделяли методом колоночной хроматографии. В исследовании использовали приборы Bruker DRX 500 (126,76 МГц) для определения спектров ЯМР ¹³C, Bruker AM 300 (300 МГц) — для определения спектров ЯМР ¹H. Масс-спектры снимали на масс-спектрометре Kratos MS-30, регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра Specord 40 (Analytik Jena). ВЭЖХ-анализ осуществляли с использованием хроматографа «Милихром-6» (НПАО «Научприбор»).

Результаты. В результате проведенных исследований из листьев алоэ древовидного методом колоночной хроматографии выделены алоэнин и смесь алоинов А и В (барбалоин). Разработана методика определения количественного содержания алоэнина методом микроколоночной обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектированием (306 нм), подвижная фаза — ацетонитрил: 1 % раствор уксусной кислоты в воде в соотношении 25 : 75, скорость элюирования — 100 мкл/мин. Разработана методика количественного определения суммы антраценпроизводных в свежих листьях алоэ древовидного (дифференциальная спектрофотометрия с щелочно-аммиачным раствором при 412 нм). Подобраны оптимальные условия экстракции: экстрагент — 40 % этилового спирта, экстракция в течение 60 мин при соотношении сырье/экстрагент 1 : 50. Валидационный анализ показал, что разработанные методики характеризуются удовлетворительными метрологическими показателями.

Закключение. Полученные результаты могут быть использованы при обновлении фармакопейной статьи «Алоэ древовидного листья свежие».

■ **Ключевые слова:** алоэ древовидное; *Aloe arborescens* Mill.; листья; алоэнин; антраценпроизводные; барбалоин; спектрофотометрия; хроматографический анализ.

THE CURRENT ISSUES OF STANDARDIZATION OF *ALOE ARBORESCENS* MILL. LEAVES

T.K. Ryazanova¹, V.A. Kurkin¹, A.A. Shmygareva², S.N. Glushchenko¹, A.I. Agapov¹

¹ Samara State Medical University, Samara, Russia

² Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

To cite this article: Ryazanova TK, Kurkin VA, Shmygareva AA, Glushchenko SN, Agapov AI. The current issues of standardization of *Aloe arborescens* Mill. leaves. *Aspirantskiy Vestnik Povolzh'ya*. 2021;(5-6):78–86. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.78-86>

Received: 15.07.2021

Revised: 19.08.2021

Accepted: 06.09.2021

■ **BACKGROUND:** *Aloe arborescens* Mill. leaves contain a whole complex of biologically active compounds (derivatives of anthraquinone, anthrone, pyrone, biopolymers, etc.) and are widely used in medical practice as raw materials for the production of anti-inflammatory, wound healing agents. The presence of anthracene derivatives in the leaves determines the laxative activity of raw plant materials and preparations. It emphasizes the importance of *Aloe arborescens* preparations for internal use in inflammatory diseases accompanied by constipation and decrease in secretory activity. Another biologically active compound with which the anti-inflammatory activity of aloe leaves may be associated with a pyrone derivative aloenin. At the same time, despite the widespread use in medicine and a well-studied chemical composition, the problems in the field of standardization of raw materials and preparations of *Aloe arborescens* are still urgent. The methods for determining the quantitative content of anthracene derivatives described in the literature are multistage, they provide for preliminary acid hydrolysis in combination with oxidation, liquid-liquid extraction of the formed aglycones and complexation with magnesium acetate. The approved regulatory documents for aloe raw materials and preparations does not provide for the assay of aloenin

AIM: The aim is to develop the methods for determining the quantitative content of biologically active compounds in the raw materials and preparations of fresh leaves of *Aloe arborescens* by using the spectrophotometric method and the high-performance liquid chromatography method.

MATERIALS AND METHODS: The objects of research were fresh leaves of *Aloe arborescens* Mill., and juice obtained *ex tempore* from fresh leaves of aloe. Samples of raw materials were collected in the summer and autumn of 2020 in the Winter Garden of the Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy at Samara State Medical University. Individual substances were isolated by column chromatography. In the study, the Bruker DRX 500 instrument (126.76 MHz) was used to determine ¹³C NMR spectra, and the Bruker AM 300 instrument (300 MHz) was used to determine ¹H NMR spectra. Mass spectra were recorded on mass spectrometer Kratos MS-30, UV spectra were recorded by means of the spectrophotometer Specord 40 (Analytik Jena). High-performance liquid chromatography analysis was carried out with the use of the chromatograph Milichrom-6 (Nauchpribor, Russia).

RESULTS: As a result of the study, aloenin and a mixture of aloins A and B (barbaloin) were isolated from the leaves of *Aloe arborescens* by with the use of column chromatography. The method for the determination of the quantitative content of aloenin by microcolumn reversed-phase high-performance liquid chromatography with UV detection (306 nm) was developed, the mobile phase was acetonitrile: 1% acetic acid solution in water in the ratio of 25:75, the elution rate is 100 µL / min. The method for the quantitative determination of the total amount of anthracene derivatives in *Aloe arborescens* fresh leaves (differential spectrophotometry with an alkaline-ammonia solution at 412 nm) was developed. The optimal conditions for the extraction were selected. They are extractant of 40% ethyl alcohol, extraction within 60 minutes at the ratio of “raw material – extractant” is 1:50. Validation analysis has shown that the developed methods are characterized by satisfactory metrological indicators.

CONCLUSIONS: The obtained results can be used to update the pharmacopoeial monograph “*Aloe arborescens* leaves fresh”.

■ **Keywords:** *Aloe arborescens* Mill.; leaves; aloenin; anthracene derivatives; barbaloin; spectrophotometry; chromatographic analysis.

Введение

Свежие листья алоэ древовидного (*Aloe arborescens* Mill. семейства *Asphodelaceae*) как фармакопейное сырье используют для получения лекарственных препаратов («Алоэ сок», «Алоэ экстракт жидкий, раствор для инъекций» и др.), обладающих противовоспалительной, ранозаживляющей активностью [1, 3–6, 8, 16, 20, 21]. В состав листьев

алоэ входят фенольные соединения (антроны, пироны, хромоны и др.), биополимеры (полисахариды, гликопротеины), липиды, каротиноиды, аминокислоты, органические кислоты и др. [4, 7–9, 13].

Ведущей группой биологически активных соединений листьев алоэ древовидного являются антраценпроизводные, среди которых доминирует барбалоин, или алоин (смесь диастереоизомеров, обозначаемых как алои-

ны А и В) (рис. 1) [12, 13, 15]. Содержание алоинов в разных видах алоэ может составлять от 0,1 до 10 % и более в пересчете на абсолютно сухое сырье [18, 19]. В организме человека алоины метаболизируются в более активное соединение — алоэ-эмодин-9-антрон, который, как было установлено в исследованиях биологической активности, обуславливает слабительный эффект препаратов алоэ [4]. Помимо слабительного действия для барбалоина продемонстрировано противогистаминное, противовоспалительное, противовирусное, антимикробное, противоопухолевое действие [18].

Другим важным биологически активным соединением сырья и препаратов алоэ древовидного является производное пирона — алоэнин (рис. 1). Присутствие алоэнина подтверждено во всех образцах коммерческой продукции, лекарственного сырья и препаратов [4]. Результаты экспериментальных исследований показывают, что это вещество обладает выраженными антигистаминными, противовоспалительными свойствами, оказывает ингибирующее влияние на секрецию желудочного сока [4, 9].

Стандартизацию видов алоэ в Британской, Японской, Европейской фармакопеях и Фармакопее США проводят по содержанию барбалоина (алоина А) спектрофотометрическим методом [2, 8, 11, 14, 17]. В Российской Федерации в фармакопейных статьях «Алоэ древовидного листья свежие» и «Алоэ древовидного листья» количественное определение также проводится спектрофотометрическим методом с пересчетом содержания суммы антраценпроизводных на алоэ-эмодин [2, 8]. Все описанные в литературе методики многостадийны, предусматривают предварительный кислотный гидролиз в сочетании с окислением, жидкость-жидкостную экстракцию образовавшихся агликонов и комплексообразование с ацетатом магния [2, 8, 14].

Для количественного определения алоэнина в сырье и препаратах алоэ древовидного предлагаются различные методы [спектрофотометрия, высокоэффективная тонкослойная хроматография с последующим денситометрическим определением, высокоэффективная жидкостная хроматография с детекцией в УФ/видимой области, масс-спектрометрической детекцией, микроколонная высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), газовая хроматография с масс-спектрометрической детекцией и др.] [4, 8, 10, 17]. Д.Н. Олейников и соавт. [10] разработали методику количественного определения алоэнина с использованием микро-

колоночной ВЭЖХ в градиентном режиме, которая позволяет значительно сократить время анализа с 40–50 мин до 18 мин. Известно, что при градиентном режиме корректировка условий наиболее критична, может привести к некорректной идентификации пиков, их наложению или сдвигам, при которых интересующие вещества могут выйти после указанного времени регистрации [2].

Эти данные свидетельствуют о целесообразности и актуальности проведения исследований по совершенствованию подходов к стандартизации сырья и препаратов алоэ древовидного.

Цель исследования — разработка методов определения количественного содержания биологически активных соединений в сырье и препаратах свежих листьев алоэ древовидного с использованием спектрофотометрического метода и метода ВЭЖХ.

Материалы и методы исследования

Объектами исследования были свежие листья *Aloe arborescens* Mill. и полученный *ex tempore* сок из свежих листьев алоэ древовидного. Образцы сырья собирали летом и осенью 2020 г. в Зимнем саду кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии Самарского государственного медицинского университета. Для препаративного выделения индивидуальных соединений использовали полученный *ex tempore* сок из свежих листьев алоэ древовидного.

Выделение индивидуальных веществ из листьев алоэ древовидного проводили с использованием колоночной хроматографии на полиамиде в условиях градиентного элюирования смесями растворителей вода – этанол в различных соотношениях с последующей рехроматографией на силикагеле L 40/100 смесями растворителей хлороформ – этанол в разных соотношениях с постепенным увеличением концентрации этанола. Контроль за разделением веществ осуществляли с использованием хроматографии в тонком слое сорбента (тонкослойная хроматография, ТСХ) на пластинках Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ в системах хлороформ – этанол – вода (26 : 16 : 3).

Спектры ЯМР ^1H получали на приборе Bruker AM 300 (300 МГц), спектры ЯМР ^{13}C — на приборе Bruker DRX 500 (126,76 МГц), масс-спектры снимали на масс-спектрометре Kratos MS-30. Регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра Specord 40 (Analytik Jena). Содержание суммы антраценпроизводных в сырье и препаратах алоэ дре-

вовидного проводили методом дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 412 нм в пересчете на барбалоин и абсолютно сухое сырье.

ВЭЖХ-анализ осуществляли с использованием хроматографа «Миличром-6» (НПАО «Научприбор») в следующих условиях обращения-фазовой хроматографии в изократическом режиме: стальная колонка КАХ-6-80-4 (№ 2; 2 × 80 мм; Сепарон-С18 7 мкм), подвижная фаза — ацетонитрил: 1 % раствор уксусной кислоты в воде в соотношении 25 : 75, скорость элюирования — 100 мкл/мин, объемом элюента — 2000 мкл. Детекцию веществ осуществляли при длине волны 306 нм (соответствует максимуму поглощения алоэнина).

Результаты и обсуждение

По результатам проводимых нами хроматографических исследований из свежих листьев алоэ древовидного с использованием многократной колоночной хроматографии на силикагеле, полиамиде и различных элюентных смесях были выделены доминирующие вещества, идентифицированные с использованием УФ-, ^1H ЯМР-, ^{13}C ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии, барбалоин, известный как смесь изомеров алоина А (1а) и алоина В (1б) и алоэнин (2) (рис. 1).

Барбалоин (1). Кристаллы желтого цвета, $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$, т. пл. 147–149 °С (водный спирт). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 270, 299, 360 нм.

Спектр ЯМР ^1H (300 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м. д.): 4,57 (2H, д, $J = 7,5$ Гц, CH_2OH -группа), 4,63 (1H, д, $J = 7$ Гц, H-10), 3,0–4,7 (6H глюкопиранозы), 4,78 (1H, д, $J = 7,2$ Гц, H-1' глюкопиранозы), 7,22 (1H, д, $J = 2,0$ Гц, H-2), 7,32 (1H, т, $J = 7,5$ Гц, H-6), 7,69 (1H, д, $J = 2,0$ Гц, H-4), 7,80 (1H, дд, $J = 1,5$ и 8,0 Гц, H-7), 8,43, 7,87 (1H, дд, $J = 1,5$ и 8,0 Гц, H-5), 12,46 (1H, с, OH-группа при C-1), 12,58 (1H, с, OH-группа при C-8).

Спектр ЯМР ^{13}C (126,76 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м. д.): 52,08 (C-10), 61,23 (C-6' глюкозы), 62,01

(CH_2OH -группа при C-3), 70,03 (C-4' глюкозы), 73,21 (C-2' глюкозы), 78,57 (C-3' глюкозы), 80,36 (C-5' глюкозы), 82,76 (C-1' глюкозы), 114,36 (C-2), 116,88 (C-7), 118,35 (C-4), 119,76 (C-5), 137,98 (C-6), 151,05 (C-3), 161,52 (C-1), 161,69 (C-8), 193,35 (C-9).

Масс-спектр (HR-ESI-MS, 180 °С, m/z): 441,1908 $[M + \text{Na}]^+$.

Алоэнин (2). Светло-желтые игольчатые кристаллы, $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$, т. пл. 144–146 °С (водный спирт). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 229 пл., 306.

Спектр ЯМР ^1H (300 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м. д.): 2,12 (3H, с, ароматическая CH_3 при C-2'), 3,1–5,0 (6H глюкопиранозы), 3,83 (3H, с, OCH_3 при C-4), 4,82 (1H, д, $J = 7$ Гц, H-1'' глюкопиранозы), 5,58 (1H, $J = 2$ Гц, H-3), 6,24 (1H, $J = 2$ Гц, H-5), 6,35 (1H, $J = 2$ Гц, H-5), 6,48 (1H, $J = 2$ Гц, H-5'), 10,87 (1H, с, OH-группа при C-4').

Спектр ЯМР ^{13}C (126,76 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м. д.): 19,80 (C-2', CH_3), 56,25 (C-4, CH_3O), 60,62 (C-6'' глюкозы), 69,49 (C-4'' глюкозы), 73,23 (C-2'' глюкозы), 76,67 (C-3'' глюкозы), 77,08 (C-5'' глюкозы), 87,87 (C-5), 101,23 (C-3), 100,78 (C-1'' глюкозы), 104,28 (C-5'), 110,77 (C-3'), 113,37 (C-1'), 138,96 (C-1'), 156,59 (C-6), 157,91 (C-4'), 159,49 (C-4), 164,09 (C-6'), 171,01 (C-2).

Масс-спектр (HR-ESI-MS, 180 °С, m/z): 411,1282 $[M + \text{H}]^+$, 433,1105 $[M + \text{Na}]^+$, 449,0845 $[M + \text{K}]^+$.

При использовании метода ТСХ алоины на хроматограмме при просматривании в УФ-свете (366 нм) проявляются в виде пятна с ярко-желтой флуоресценцией с $R_f \approx 0,52$, алоэнин в УФ-свете при 366 нм обнаруживается в виде пятна с ярко-голубой флуоресценцией с $R_f \approx 0,45$.

С целью подтверждения качественного состава листьев алоэ древовидного нами использовался метод ВЭЖХ.

С целью проведения ВЭЖХ-анализа был осуществлен подбор системы растворителей (смесь ацетонитрил – 1 % водный раствор уксусной кислоты в различных соотношениях).

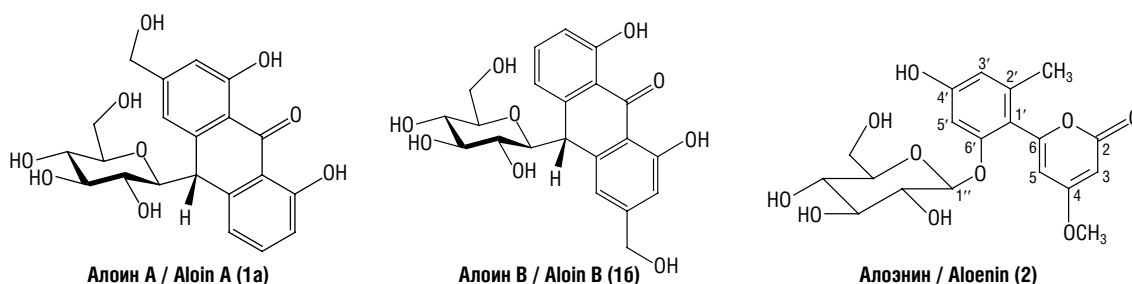


Рис. 1. Фенольные компоненты листьев алоэ древовидного

Fig. 1. Phenolic compounds of Aloe arborescens leaves

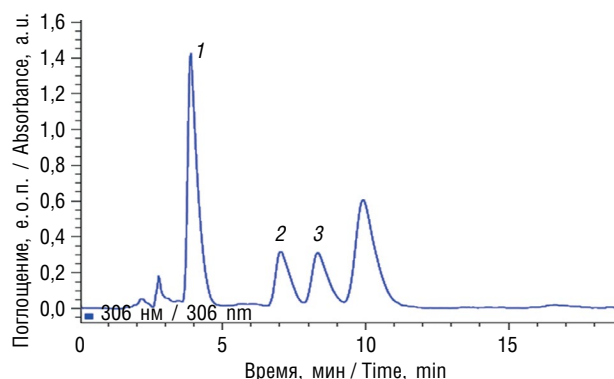


Рис. 2. Высокоэффективная жидкостная хроматограмма сока листьев алоэ древовидного: 1 — алоэнин; 2, 3 — алоины А и В

Fig. 2. HPLC chromatogram of juice from *Aloe arborescens* leaves: 1 — aloenin; 2, 3 — aloins A and B

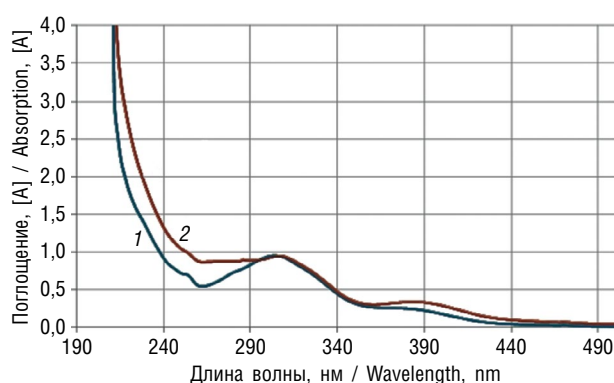


Рис. 4. Электронные спектры водно-спиртового извлечения из свежих листьев алоэ древовидного: 1 — водно-спиртовое извлечение из свежих листьев алоэ древовидного; 2 — водно-спиртовое извлечение в щелочно-аммиачной среде

Fig. 4. Electronic spectra of aqueous-alcoholic extract from *Aloe arborescens* fresh leaves: 1 — water-alcohol extract from *Aloe arborescens* fresh leaves; 2 — water-alcohol extract in the alkaline-ammonia solution

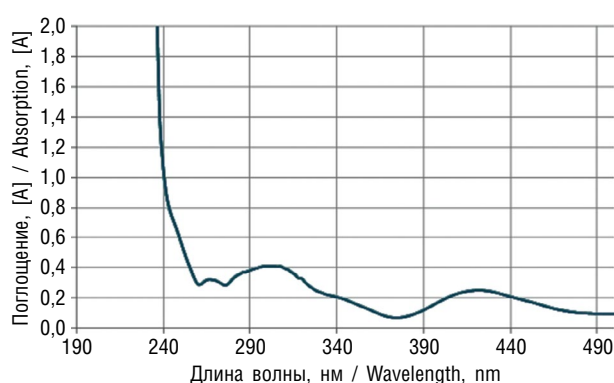


Рис. 5. Электронный спектр водно-спиртового извлечения из свежих листьев алоэ древовидного (дифференциальный вариант)

Fig. 5. Electronic spectra of aqueous-alcoholic extract from *Aloe arborescens* fresh leaves (differential version)

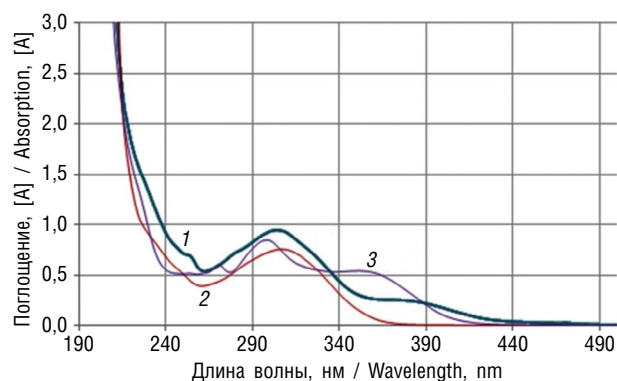


Рис. 3. Электронные спектры водно-спиртового извлечения из свежих листьев алоэ древовидного и выделенных из листьев алоэ соединений: 1 — водно-спиртовое извлечение из свежих листьев алоэ древовидного; 2 — 0,003 % раствор барбалоина; 3 — 0,003 % раствор алоэнина

Fig. 3. Electronic spectra of aqueous-alcoholic extract from *Aloe arborescens* fresh leaves and compounds isolated from aloe leaves: 1 — water-alcohol extract from *Aloe arborescens* fresh leaves; 2 — barbalooin solution, 0.003%; 3 — aloenin solution, 0.003%

Результаты подбора системы растворителей показали, что оптимальной системой, в которой наблюдается хорошее разделение веществ как индивидуальных, так и в извлечении, является смесь ацетонитрила и воды в соотношении 25 : 75.

Сравнение значений времени удерживания пиков веществ (пики 1–3) на ВЭЖХ-хроматограмме сока из свежих листьев алоэ древовидного (рис. 2) и времени удерживания пиков индивидуальных веществ позволило идентифицировать три соединения.

С использованием ВЭЖХ разработана методика количественного определения содержания алоэнина в сырье. Зависимость высоты хроматографического пика от концентрации алоэнина описывали линейной регрессией в диапазоне концентраций от 115 до 1400 мкг/мл ($r^2 = 0,9995$), предел количественного определения составил 110 мкг/мл. Точность методики составила 96,54–103,28 %. Ошибка единичного определения содержания алоэнина в листьях алоэ древовидного с доверительной вероятностью 95 % составила +4,00 %. Сравнительное изучение экстракционной способности спиртов разных концентраций (20, 40, 60, 70, 80, 95 %) показало, что наиболее высокой экстракционной способностью обладают водно-спиртовые смеси с концентрацией этанола 40–70 %.

При изучении электронных спектров сока водно-спиртовых извлечений листьев алоэ древовидного обнаружен вклад в кривую

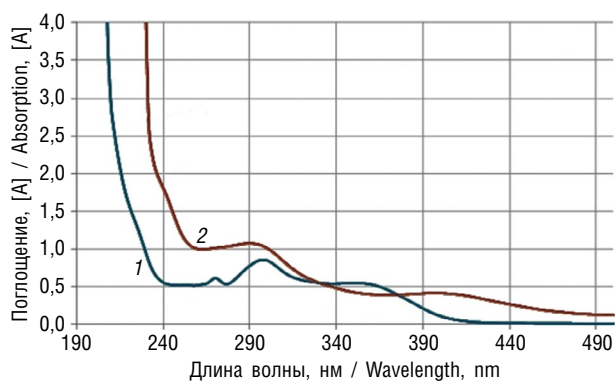


Рис. 6. Электронные спектры 0,003 % раствора барбалоина: 1 — 0,003 % раствор барбалоина; 2 — 0,003 % раствор барбалоина в щелочно-аммиачной среде

Fig. 6. Electronic spectra of 0.003% barbaloin solution: 1 — 0.003% barbaloin solution; 2 — 0.003% barbaloin solution in the alkaline-ammonia solution

поглощения алоэзина в области 300–310 нм и барбалоина в области 290–310 и 350–390 нм (рис. 3). Вклад антраценпроизводных в спектр лекарственного растительного сырья подтверждается bathochromным сдвигом длинноволновой полосы в щелочно-аммиачной среде, а также данными дифференциальных спектров с максимумом поглощения в области 412–416 нм (рис. 4–7). При этом важно отметить, что в случае алоэзина не наблюдается bathochromный сдвиг длинноволновой полосы в щелочно-аммиачной среде, это свидетельствует о возможности определения суммы антраценпроизводных в присутствии данного вещества, несмотря на его относительно высокое содержание.

С использованием метода дифференциальной спектрофотометрии со щелочно-аммиачным раствором при длине волны 412 нм нами разработана методика количественного определения суммы антраценпроизводных в свежих листьях алоэ древовидного. Для этого сравнивали экстракционную способность спиртов различных концентраций, соотношения сырье/экстрагент и времени экстрагирования. В ходе разработки методики определено, что важными параметрами являются: 40 % этиловый спирт, соотношение сырье/экстрагент — 1 : 50, время экстракции — 60 мин.

Валидационную оценку разработанной методики проводили по показателям: специфичность, линейность, правильность и воспроизводимость. Специфичность методики определяли по соответствию максимумов поглощения в спектрах поглощения извлечения, сока и препаратов из листьев алоэ древовидного и выделенного из листьев барбалоина в щелочно-аммиачной среде. Линейность

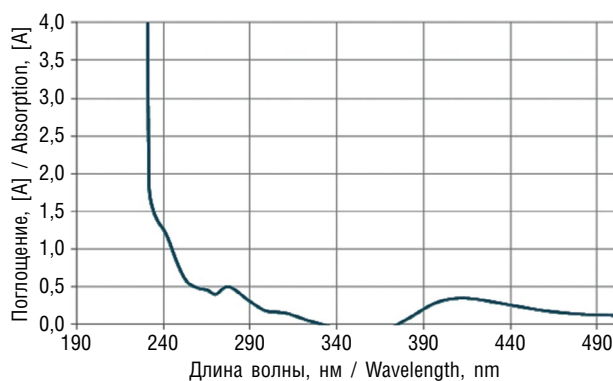


Рис. 7. Электронный спектр 0,003 % раствора барбалоина (дифференциальный вариант)

Fig. 7. Electronic spectra of 0.003% barbaloin solution (differential version)

методики определяли для серии растворов барбалоина (с концентрациями в диапазоне от 0,01572 до 0,03816 мг/мл). Коэффициент корреляции составил 0,99995. Ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в свежих листьях алоэ древовидного с доверительной вероятностью 95 % составила $\pm 3,36$ %.

Правильность методики определяли методом добавок раствора выделенного вещества с известной концентрацией (25, 50 и 75 %) к испытуемому раствору. При этом средний процент восстановления составил 98 %.

В связи с тем что и в случае антраценпроизводных, и производных пирона (алоэнин) 40 % этанол обладал удовлетворительной экстракционной способностью, в дальнейшем при разработке обновленной редакции фармакопейной статьи рекомендуется получение общего извлечения из свежих листьев алоэ древовидного с использованием в качестве экстрагента 40 % этанола для определения количественного содержания алоэзина (метод ВЭЖХ) и суммы антраценпроизводных в пересчете на барбалоин (дифференциальная спектрофотометрия со щелочно-аммиачным раствором).

Заключение

В результате проведенных исследований из листьев алоэ древовидного методом колонной хроматографии выделены алоэнин и смесь алоинов А и В. С использованием ВЭЖХ проанализированы полученный *extempore* сок и водно-спиртовые извлечения из листьев алоэ древовидного и идентифицировано присутствие выделенных соединений на ВЭЖХ-хроматограмме, в связи с чем этот

метод в подобранных нами условиях можно рекомендовать для подтверждения подлинности лекарственного растительного сырья «Алоэ древовидного листья свежие».

Разработана методика определения количественного содержания алоэина методом микроколоночной обращенно-фазовой ВЭЖХ с УФ-детектированием (306 нм) с применением колонки КАХ-6-80-4 (№ 2; 2×80 мм; Сепарон-С18 7 мкм), подвижная фаза — ацетонитрил: 1 % раствор уксусной кислоты в воде в соотношении 25 : 75, скорость элюирования — 100 мкл/мин, объем элюента — 2000 мкл. Валидационный анализ показал, что методика характеризуется удовлетворительными метрологическими показателями.

Разработана методика количественного определения суммы антраценпроизводных в свежих листьях алоэ древовидного, подобраны оптимальные условия экстракции: экстрагент — 40 % этиловый спирт, экстракция в течение 60 мин при соотношении сырье/экстрагент 1 : 50.

Полученные результаты позволяют рекомендовать 40 % этанол в качестве экстрагента для получения общего извлечения, используемого в дальнейшем для определения количественного содержания алоэина (метод ВЭЖХ) и суммы антраценпроизводных в пересчете на барбалоин (дифференциальная спектрофотометрия с щелочно-аммиачным раствором).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Глушенко С.Н., Шмыгарева А.А., Саньков А.Н. Разработка суппозиторий на основе сока алоэ древовидного // Аспирантский вестник Поволжья. 2020. № 1–2. С. 126–130. DOI: 10.17816/2072-2354.2020.20.1.126-130
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. М., 2018. Т. 4. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://femb.ru/record/pharmasopea14>. Дата обращения: 20.02.2021.
3. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>. Дата обращения: 01.02.2021.
4. Зилфикаров И.Н., Оленников Д.Н., Ибрагимов Т.А. и др. Современные аспекты фармакогностического и биохимического изучения суккулентного сырья алоэ древовидного и каллизии душистой. Щелково, 2013.
5. Инструкции по медицинскому применению лекарственных препаратов «Алоэ экстракт жидкий» разных производителей [Электронный ресурс] //

Государственный реестр лекарственных средств. Режим доступа: <https://grls.rosminzdrav.ru>. Дата обращения: 01.02.2021.

6. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата «Алоэ сок» [Электронный ресурс] // Государственный реестр лекарственных средств. Режим доступа: <https://grls.rosminzdrav.ru/>. Дата обращения: 01.02.2021.
7. Кудрицкая С.Е., Фишман Г.М., Загородская Л.М., Чиковани Д.М. Каротиноиды *Aloe arborescens* // Химия природных соединений. 1985. № 4. С. 573.
8. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов. 4-е изд., перераб. и доп. Самара, 2019.
9. Оленников Д.Н., Зилфикаров И.Н., Ибрагимова Т.А. Исследование химического состава алоэ древовидного (*Aloe arborescens* Mill.) // Химия растительного сырья. 2010. № 3. С. 77–82.
10. Оленников Д.Н., Зилфикаров И.Н., Пензина Т.А. Применение микроколоночной ВЭЖХ для анализа алоэина в сырье и препаратах алоэ древовидного // Химико-фармацевтический журнал. 2013. Т. 47, № 9. С. 42–45.
11. Сергунова Е.В., Сорокина А.А. Изучение показателей качества листьев алоэ древовидного различными способами консервации // Фармация. 2019. Т. 68, № 7. С. 21–25. DOI: 10.29296/25419218-2019-07-04
12. Beppu H., Kawai K., Shimpo K. et al. Studies on the components of *Aloe arborescens* from Japan – monthly variation and differences due to part and position of the leaf // Biochemical Systematics and Ecology. 2004. Vol. 32, No. 9. 783–795. DOI: 10.1016/j.bse.2004.01.001
13. European medicines agency. Assessment report on *Aloe barbadensis* Mill. and on Aloe (various species, mainly *Aloe ferox* Mill. and its hybrids), folii succus siccatus. 22 November 2016. EMA/HMPC/759585/2015. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/final-assessment-report-aloe-barbadensis-mill-aloe-various-species-mainly-aloe-ferox-mill-its_en.pdf. Дата обращения: 01.02.2021.
14. European Pharmacopoeia, 9th ed., EDQM, European Pharmacopoeia, Council of Europe, B.P. 907, F - 67029, Strasbourg, France, 2017.
15. Groom Q.J., Reynolds T. Barbaloin in aloe species // Planta. Med. 1987. Vol. 53, No. 4. P. 345–348. DOI: 10.1055/s-2006-962735
16. Hamman J.H. Composition and applications of *Aloe vera* leaf gel // Molecules. 2008. Vol. 13, No. 8. P. 1599–1616. DOI: 10.3390/molecules13081599
17. Olennikov D.N., Rokhin A.V., Zilfikarov I.N. Method for determining content of phenolic compounds in *Aloe arborescens* // Chemistry of Natural Compounds. 2008. Vol. 44, No. 6. P. 715–718. DOI: 10.1007/s10600-009-9192-6
18. Patel D.K., Patel K., Tahilyani V. Barbaloin: a concise report of its pharmacological and analytical aspects //

- Asian Pac. J. Trop. Biomed. 2012. Vol. 2, No. 10. P. 835–838. DOI: 10.1016/S2221-1691(12)60239-1
19. Salehi B., Albayrak S., Antolak H. et al. Aloe genus plants: from farm to food applications and phytopharmacotherapy // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. Vol. 19, No. 9. P. 2843. DOI: 10.3390/ijms19092843
 20. Singab A.N.B., El-Hefnawy H.M., Esmat A. et al. A systemic review on *Aloe arborescens* pharmacological profile: Biological activities and pilot clinical trials // *Phytother. Res.* 2015. Vol. 2, No. 12. P. 1858–1867. DOI: 10.1002/ptr.5483
 21. Yamamoto M., Masui T., Sugiyama K. et al. Anti-inflammatory active constituents of *Aloe arborescens* Miller // *Agric. Biol. Chem.* 1991. Vol. 55. P. 1627–1629. DOI: 10.1080/00021369.1991.10870794
 10. Olennikov DN, Zilfikarov IN, Penzina TA. Use of micro-column HPLC for analysis of aloenin in aloe arborescens raw material and related drugs. *Pharm Chem J.* 2013;47:494–497. DOI: 10.1007/s11094-013-0988-0
 11. Sergunova EV, Sorokina AA. Study of the quality indicators of arborescent aloe (*aloe arborescens*) leaves subjected to different preservation procedures. *Farmatsiya.* 2019;68(7):21–25. (In Russ.). DOI: 10.29296/25419218-2019-07-04
 12. Beppu H, Kawai K, Shimpo K, et al. Studies on the components of *Aloe arborescens* from Japan – monthly variation and differences due to part and position of the leaf. *Biochemical Systematics and Ecology.* 2004;32(9):783–795. DOI: 10.1016/j.bse.2004.01.001
 13. European medicines agency. Assessment report on *Aloe barbadensis* Mill. and on Aloe (various species, mainly *Aloe ferox* Mill. and its hybrids), folii succus siccatus. 22 November 2016. EMA/HMPC/759585/2015. [Internet]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/final-assessment-report-aloe-barbadensis-mill-aloe-various-species-mainly-aloe-ferox-mill-its_en.pdf. Accessed: 01.02.2021.
 14. European Pharmacopoeia, 9th ed., EDQM, European Pharmacopoeia, Council of Europe, B.P. 907, F - 67029, Strasbourg, France; 2017.
 15. Groom QJ, Reynolds T. Barbaloin in aloe species. *Planta Med.* 1987;53(4):345–348. DOI: 10.1055/s-2006-962735
 16. Hamman JH. Composition and applications of *Aloe vera* leaf gel // *Molecules.* 2008;13(8):1599–1616. DOI: 10.3390/molecules13081599
 17. Olennikov DN, Rokhin AV, Zilfikarov IN. Method for determining content of phenolic compounds in *Aloe arborescens*. *Chemistry of Natural Compounds.* 2008;44(6):715–718. DOI: 10.1007/s10600-009-9192-6
 18. Patel DK, Patel K, Tahilyani V. Barbaloin: a concise report of its pharmacological and analytical aspects. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2012;2(10):835–838. DOI: 10.1016/S2221-1691(12)60239-1
 19. Salehi B, Albayrak S, Antolak H, et al. Aloe genus plants: from farm to food applications and phytopharmacotherapy. *Int J Mol Sci.* 2018;19(9):2843. DOI: 10.3390/ijms19092843
 20. Singab ANB, El-Hefnawy HM, Esmat A, et al. A systemic review on *Aloe arborescens* pharmacological profile: Biological activities and pilot clinical trials. *Phytother Res.* 2015;2(12):1858–1867. DOI: 10.1002/ptr.5483
 21. Yamamoto M, Masui T, Sugiyama K, et al. Anti-inflammatory active constituents of *Aloe arborescens* Miller. *Agric Biol Chem.* 1991;55:1627–1629. DOI: 10.1080/00021369.1991.10870794

References

1. Glushchenko SN, Shmygareva AA, Sankov AN. Razrabotka suppozitoriev na osnove soka aloe drevovidnogo. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya.* 2020;(1–2):126–130. (In Russ.). DOI: 10.17816/2072-2354.2020.20.1.126-130
2. Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossijskoj Federacii. XIV ed. Moscow; 2018. Vol. 4. [Internet]. Available from: <https://femb.ru/record/pharmacopea14>. Accessed: 20.02.2021. (In Russ.)
3. Gosudarstvennyj reestr lekarstvennykh sredstv [Internet]. Available from: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>. Accessed: 01.02.2021. (In Russ.)
4. Zilfikarov IN, Olennikov DN, Ibragimov TA, et al. Sovremennye aspekty farmakognosticheskogo i biokhimičeskogo izučeniya sukkulentnogo syr'ya aloe drevovidnogo i kallizii dushistoy. Shchelkovo; 2013. (In Russ.)
5. Instruksii po meditsinskomu primeneniyu lekarstvennykh preparatov "Aloeh ehkstrakt zhidkil" raznykh proizvoditelei [Internet]. Gosudarstvennyj reestr lekarstvennykh sredstv. Available from: <https://grls.rosminzdrav.ru>. Accessed: 01.02.2021. (In Russ.)
6. Instruksiya po meditsinskomu primeneniyu lekarstvennogo preparata "Aloeh sok" [Internet]. Gosudarstvennyj reestr lekarstvennykh sredstv. Available from: <https://grls.rosminzdrav.ru/>. Accessed: 01.02.2021. (In Russ.)
7. Kudritskaya SE, Fishman GM, Zagorodskaya LM, Chikovani DM. Carotenoids of *Aloe arborescens*. *Chemistry of natural compounds.* 1985;(4):573. (In Russ.)
8. Kurkin VA. Farmakognoziya: uchebnik dlya studentov farmatsevticheskikh vuzov. 4th ed. Samara; 2019. (In Russ.)
9. Olennikov DN, Zilfikarov IN, Ibragimova TA. Investigation of the chemical composition of *Aloe arborescens* Mill. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya.* 2010;(3):77–82. (In Russ.)

Информация об авторах

Татьяна Константиновна Рязанова — кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры управления и экономики фармации. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: t.k.ryazanova@samsmu.ru

Information about the authors

Tatyana K. Ryazanova — Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Department of Management and Economics in Pharmacy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: t.k.ryazanova@samsmu.ru

■ Информация об авторах

Владимир Александрович Куркин — доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Анна Анатольевна Шмыгарева — доктор фармацевтических наук, профессор кафедры управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии. ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России, Оренбург, Россия. E-mail: a.shmygareva@mail.ru

Светлана Николаевна Глущенко — соискатель кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: v.svetik2315@mail.ru

Альберт Иванович Агапов — доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры медицинской химии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: a.i.agapov@samsmu.ru

■ Information about the authors

Vladimir A. Kurkin — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Anna A. Shmygareva — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Department of Management and Economics in Pharmacy, Pharmaceutical Technology and Pharmacognosy. Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia. E-mail: a.shmygareva@mail.ru

Svetlana N. Glushchenko — Postgraduate student, Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: v.svetik2315@mail.ru

Albert I. Agapov — Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor of the Chair of Medical Chemistry. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: a.i.agapov@samsmu.ru