|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Количественное определение сапонинов в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения** |  | **ОФС**  **Вводится впервые** |
|  |  |  |

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на методы и общие принципы определения содержания сапонинов в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения.

Сапонины – природные гликозиды, производные стероидов или тритерпеноидов, обладающие высокой поверхностной активностью, состоящие из агликона (сапогенина) и сахарной части, в состав которой могут входить такие сахара, как: D-глюкоза, L-рамноза, L-арабиноза, D-ксилоза, L-фруктоза, D-глюкуроновая и D-галактуроновая кислоты.

Сапонины в зависимости от строения агликона могут быть разделены на два типа: тритерпеновые сапонины, которые от количества циклов подразделяются на: тетрациклические (дамарандиол, панаксозиды, ланостан и др.) и пентациклические (α-амирин, β-амирин, урсоловая кислота, олеаноловая кислота, глицирретиновая кислота, глицирризиновая кислота и др.); стероидные сапонины, (производными циклопентанпергидрофенантрена), которые подразделены по характеру кольца на: замкнутые, производные спиростанола (диосцин, париллин и др.) и открытые, производные фуростанола (фуростаноловый гликозид и др.).

По физико-химическим свойствам сапонины подразделяются на: нейтральные сапонины (группа стероидных сапонинов) и кислые сапонины (группа уроновых кислот – глицирризиновая кислота и др., карбоксильная группа сапогенина – олеаноловая кислота, глицирретиновая кислота и др.).

Гликозиды сапонинов, как правило, растворимы в воде, мало растворимы в метаноле и этаноле, нерастворимы в ацетоне, хлороформе и других органических растворителях.

Агликоны (сапогенины) хорошо растворимы в органических растворителях: хлороформе, ацетоне и диэтиловом эфире, хуже в этаноле и метаноле, нерастворимы в воде.

Кислые сапонины растворимы в водных растворах щелочей и выпадают в осадок при подкислении (например, глицирризиновая кислота).

Химические свойства сапонинов обусловлены структурой агликона, наличием отдельных функциональных групп, а также присутствием гликозидной связи.

Сапонины под действием кислот и ферментов гидролизуются с образованием агликонов, которые дают окрашенные продукты с кислотными реагентами (серной кислотой концентрированной, фосфорно-молибденовой кислотой, пара-диметиламинобензальдегида кислотно-спиртовым раствором и др.), осаждаются из водных растворов (солями тяжелых металлов, дубильными веществами гидроксидом магния и др.) и спиртовых растворов (этилацетатом, диэтиловым эфиром, липидами и др.), обладают способностью к поглощению света в УФ-области спектра (тритерпеновые сапонины кислой группы).

В соответствии с указанными свойствами содержание сапонинов в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения может быть определено следующими методами:

- высокоэффективная жидкостная хроматография в соответствии с требованиями ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»;

- спектрофотометрия в УФ- и видимой областях спектра в соответствии с требованиями ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»;

- титриметрия (потенциометрическое титрование) в соответствии с требованиями ОФС «Потенциометрическое титрование».

Методике определения содержания сапонинов с помощью выбранного аналитического метода предшествует пробоподготовка, заключающаяся в разрушении комплекса сапонинов со стеринами, белками и фенольными соединениями, получении суммы сапонинов, очистке от соизвлекаемых веществ и разделении суммы сапонинов на индивидуальные соединения, при необходимости.

Во многих схемах выделения сапонинов предусмотрена форэкстракция (предварительная экстракция) малополярными органическими растворителями (гексан, петролейный эфир, хлорметилен и др.). Необходимость этой операции обусловлена тем, что сапонины находятся в сырье в виде комплексов с различными стеринами, высшими спиртами, белками.

Экстракция сапонинов осуществляется с использованием метанола, этанола, воды, слабых раствором щелочей – в зависимости от химического строения веществ.

В отличие от стероидных сапонинов, содержащих в составе до 5 (пяти) моносахаридов, тритерпеновые сапонины имеют в своем составе более 10 (десяти) моносахаридов, что обуславливает различие в процессе гидролиза (многоступенчатость, выбор реактивов и их концентрация, условия процесса) с последующим образованием анализируемого агликона (сапогенина).

С целью очистки и предварительного разделения сапонинов полученные суммарные извлечения подвергают фракционированию хлороформом, диэтиловым эфиром, н-бутанолом и др. Также может быть использована очистка и разделение сапонинов хроматографическими методами (колоночная хроматография на силикагеле, ионообменных смолах и др.).

Подготовку аналитической пробы лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения (вплоть до стадии получения испытуемого раствора) должна быть приведена в фармакопейной статье и/или нормативной документации.

Выбор аналитического метода определения должен быть обоснован, а используемая методика валидирована в соответствии с требованиями ОФС «Валидация аналитических методик».

Условия проведения испытания выбранным аналитическим методом с применением соответствующего оборудования, а именно:

- наименование неподвижной фазы, размер ее частиц, геометрические размеры колонки, отсутствие / наличие предколонки, детектор, состав подвижной фазы, скорость потока подвижной фазы, режим элюирования, температура колонки, объем вводимой пробы; параметры теста "Проверка пригодности хроматографической системы" и критерии их оценки (в случае высокоэффективной жидкостной хроматографии) приводят в фармакопейной статье и/или нормативной документации;

- аналитическую длину волны, толщину слоя используемой кюветы, состав раствора сравнения (в случае спектрофотометрии в УФ- и видимой областях) приводят в фармакопейной статье и/или нормативной документации;

- выбор титранта и электрода, концентрацию и состав титруемого раствора, индикацию точки эквивалентности по изменению потенциала электрода (в случае потенциометрического титрования) приводят в фармакопейной статье и/или нормативной документации.

В случае определения суммы сапонинов расчет их содержания осуществляют в пересчете на преобладающее в данном лекарственном растительном сырье или лекарственном средстве растительного происхождения соединение с использованием соответствующего стандартного образца, приведенного в фармакопейной статье и/или нормативной документации.

Возможность применения значения удельного показателя поглощения как альтернативного способа расчета содержания индивидуального соединения или суммы сапонинов при определении их методом спектрофотометрии в УФ- и видимой областях должна быть обоснована.

Нормы содержания сапонинов в лекарственном растительном сырье, лекарственных средствах растительного происхождения должны быть указаны в фармакопейных статьях и/или нормативной документации.

В получаемых из данного лекарственного растительного сырья: фармацевтических субстанциях растительного происхождения, лекарственных препаратах растительного происхождения используют ту же методику.

Для определения содержания сапонинов могут быть использованы и другие валидированные в соответствии с требованиями ОФС "Валидация аналитических методик" методики на основе других физико-химических методов.