



Abbildung 1: Sennesstrauch (www.tapovan.tradeindia.com)

Extraktion von Sennosid A und B: Grundlagen zur Herstellung des Feigensirups nach Schweizer Pharmakopöe

J. Wüthrich, S. Peter, B. Meier

Zürcher Hochschule für angewandte Wissenschaften, Grüental Postfach 335, CH-8820 Wädenswil, Schweiz

Einleitung

Sennesblätter bzw. Sennesfrüchte gehören zu den Anthranoiddrogen und werden aufgrund ihrer laxierenden Wirkung gegen Obstipation eingesetzt. Die in der Droge enthaltenen Wirkstoffe werden Sennoside genannt. Die in der Ph. Helv. beschriebene Monographie CH61 „zusammengesetzter Feigensirup“ enthält einen Auszug aus Feige und Sennesfrüchten. Sie wurde bezüglich des Herstellungsprozesses untersucht. Dazu wurden Extraktionen der Sennoside mit Wasser bei unterschiedlichen Temperaturen und unterschiedlichen Extraktionszeiten durchgeführt. Anschliessend erfolgte die Feigensirupherstellung gemäss Vorschrift. Während des Herstellungsprozesses wurden Proben entnommen, um Aussagen zu machen über Faktoren, welche den Sennosidgehalt beeinflussen. Insbesondere wurde der Einfluss der Temperatur und der Zugabe von Feigen auf die Sennosidausbeute überprüft.

Wässrige Extraktionen von Senna Tinnevely fructus

Droge:
Senna Tinnevely fructus (Dixa Lot: 131351)

Temperaturabhängige Extraktionen zwischen 24-100°C:

- 7 g der geschnittenen Droge wurden in 70 g Wasser während 3 h in einem 100 ml Rundkolben unter Rückfluss extrahiert (Bewegungsmazeration mit Hilfe eines Magnetrührers).

- Die Mazerationen erfolgten bei 24, 30, 40, 50, 60, 70, 80 sowie 100°C.

Zeitabhängige Extraktionen zwischen 15-420 Minuten:

- 21 g der geschnittenen Droge wurden in 210 g Wasser bei Raumtemperatur (24°C) in einem 250 ml Rundkolben extrahiert (Bewegungsmazeration mit Hilfe eines Magnetrührers).

- In der ersten Stunde wurden alle 15 Minuten Proben gezogen, danach alle 30 Minuten. Die letzte Probenahme erfolgte nach 420 Minuten. 390 Minuten wurde ausgelassen

Herstellung „Zusammengesetzter Feigensirup“ nach Ph. Helv. [1]

- 120 g geschnittene Feigen (Hänseler AG, Batch Nr. 2013.07.0252) wurden mit 70 g Tinnevely-Sennesfrüchte (Dixa, Lot: 131351) in 700 g gereinigtem Wasser während 3 h mazeriert (Bewegungsmazeration mittels Rührwerk bei einer Umdrehungsgeschwindigkeit von 848 U/min).

- Anschliessend wurde koliert bis der Auszug nur noch „tröpfchenweise“ im Becherglas aufgefangen werden konnte → Erste Probenahme.

- Der erhaltene Auszug wurde zum Sieden erhitzen und über einen Kaffeefilter mit Hilfe der Vakuumpumpe heiss filtriert.

- Das Filtrat wurde mit gereinigtem Wasser bis zu 490 g ergänzen → Zweite Probenahme.

- Der gewonnene Extrakt wurde mit 450 g Zucker während 5 Minuten zu einem Sirup verkocht und mit gereinigtem Wasser bis zu 940 g ergänzt → Dritte Probenahme.

Analytik von Sennosid A und B [2]

Alle Proben mit Extraktionslösung (70% MeOH + 0.2% NaHCO₃ wässrig) verdünnen und mittels SPE aufbereiten und mittels HPLC messen.

Festphasenextraktion (SPE)

- Oasis Max – Kartusche montieren

- Waschen mit Methanol

- Konditionieren mit NaHCO₃-Lösung (0.2 %)

- Beladen der Kartusche mit der Probe

- Waschen mit Wasser und Methanol und methanolischer Essigsäure (1%)

- Eluieren mit Freisetzungsgemisch aus MeOH, Wasser, Ameisensäure (70:30:2)

HPLC

Stationäre Phase: C18 TSKGel Säule (4.6 mm x 15 cm), Toshi Bioscience

Mobile Phase A (20%): Acetonitril + 0.1% H₃PO₄

Mobile Phase B (80%): Wasser + 0.1% H₃PO₄

Säulentemperatur: 40°C

Einspritzvolumen: 20 µl

Flussrate: 1.2 ml/min

Runtime: 10 min

Detektion: 380 nm

Material und Methoden

Resultate

Temperaturabhängige Extraktionen

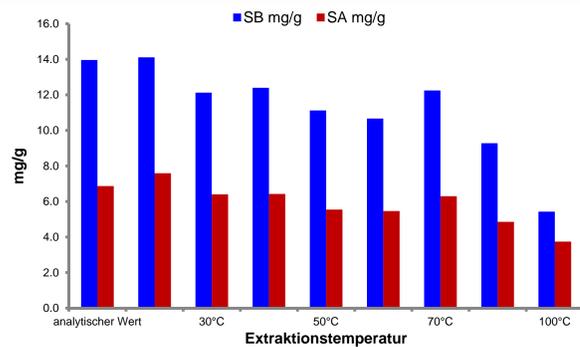


Abbildung 2: Darstellung der Ausbeute an Sennosiden bei verschiedenen Temperaturen im Vergleich zum analytisch ermittelten Wert. Extraktionsmittel Wasser, t = 3 h.

Die Erhöhung der Extraktionstemperatur bewirkt kein höherer Sennosidgehalt im Extrakt. (Siehe Abbildung 2) Nach der Extraktion bei Raumtemperatur (24°C) wurde der grösste Gehalt an Sennosid A (7.6 mg/g) und B (14.1 mg/g) gemessen. Zwischen der Extraktionstemperatur von 30°C und 70°C zeigten sich schwankende Resultate. Deutlich erkennbar ist, dass nach der Extraktion der Sennesfrüchte bei 80°C bis 100°C geringere Ausbeuten an SA und SB gemessen wurden. Möglicherweise zersetzten sich die Sennoside bei diesen Temperaturen unter der Einwirkungszeit von 3 h teilweise.

Aus den Resultaten in Abbildung 3 ist erkennbar, dass die grösste Sennosidausbeute bereits nach 45 min erfolgte. Der nach 45 min ermittelte Gehalt für Sennosid A lag bei 5.3 mg/g und für Sennosid B bei 9.9 mg/g.

Zeitabhängige Extraktionen

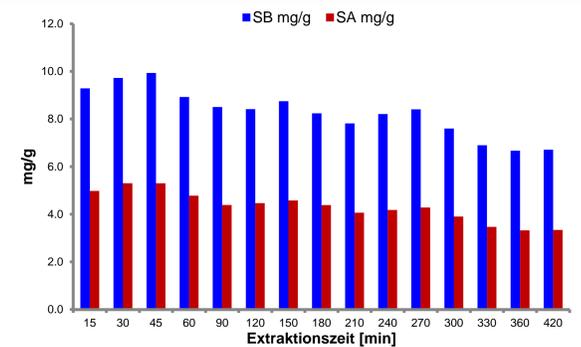


Abbildung 3: Darstellung der gemessenen Gehalte an Sennosiden in Abhängigkeit von unterschiedlichen Extraktionszeiten. Extraktionsmittel Wasser, 24°C.

Sennosidausbeute nach Extraktion mit Feigen und ohne Feigen

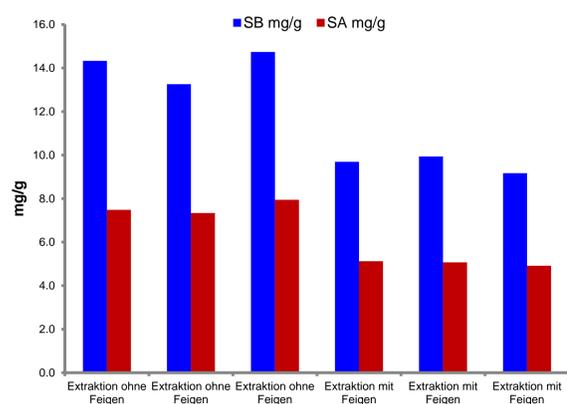


Abbildung 4: Darstellung der Ausbeuten an Sennosiden nach der Extraktion mit Feigen und Extraktion ohne Feigen (je 3 Versuche).

Die Hypothese, dass durch die gleichzeitige Extraktion von Feigen und Sennesfrüchten die Sennosidausbeute verringert wird, hat sich bestätigt, siehe Abbildung 4. Die Feigen halten viel Wasser zurück, womit auch Sennoside zurückgehalten werden. Bei einem Einsatz von 70 g Sennesblättern und 120 g Feigen verblieb nach dem Koliere eine Masse von 383.6 g. Der wässrige Anteil beträgt demnach ca. 190 g. Die Sennosidausbeute könnte bei der Herstellung grösserer Mengen durch bessere Auspressverfahren (z.B. Schneckenpresse) verbessert werden.

In Abbildung 5 sind die ermittelten Sennosidgesamtmenge dargestellt, die während der Feigensirupherstellung gemessen wurden. Die Verluste an Sennosiden während der Herstellung von Sirup 1 lagen bei 14%, von Sirup 2 bei 33.4 % und von Sirup 3 bei 17.7 %. Den Ausgangswert lieferte die nach dem Koliere gewonnene Probe, die danach gemäss Vorschrift zum Sieden erhitzt und mit Zucker verkocht wurde. Die dabei beobachteten Verluste waren gering.

Gemessene Gesamtsennosidmenge während der Feigensirupherstellung

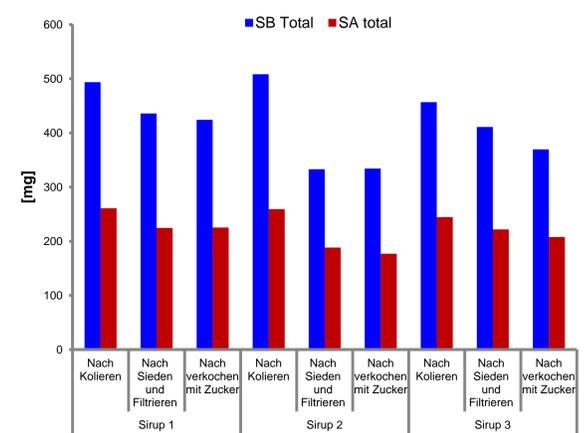


Abbildung 5: Gesamtsennosidmenge in mg, die während des Herstellungsprozesses des Feigensirups ermittelt wurden.

Diskussion

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass bei wässriger Extraktion weder lange Extraktionszeiten noch hohe Temperaturen erforderlich sind, um hohe Ausbeuten an Sennosiden zu erreichen. Dies erlaubt Zeit- und Energieersparnis. Die optimalen Extraktionsbedingungen sind bei 24°C und 45 Minuten.

Nachdem die Feigensirupherstellung gemäss der Monographie CH61 überprüft wurde, sind einige Optimierungsvorschläge zu diskutieren:

- Die Herstellungsmenge sollte für einen grösseren Massstab ausgelegt werden. Die derzeit vorgesehene Menge an Sirup beträgt nur 1000 ml. Dies ergibt lediglich eine Charge von 5-10 Flaschen. Dafür kann in Zukunft keine weitergehende Analytik verlangt werden.
- Das Auspressen der Feigen muss optimiert werden. Dies geschieht in der Monographie mit einem Koliertuch. Heutzutage stellt jedoch das Koliere von Hand eine veraltete Methode dar. Allein schon die Beschaffung eines Koliertuchs ist schwierig. Der Begriff „Koliertuch“ erwies sich in Labormaterialfirmen, Apotheken oder Filterfirmen als unbekannt. Das widerspiegelt die Tatsache, dass heutzutage kaum mehr koliert wird.
- Um die Ausbeute zu erhöhen, ist ein mechanisches Auspressen der Drogenmasse z.B. mit einer Schneckenpresse erforderlich. Dazu bedarf es ebenfalls einer erweiterten Chargengrösse. Damit ergibt sich voraussichtlich auch eine bessere Reproduzierbarkeit. Dementsprechend lassen sich auch GMP-Anforderungen einhalten, was bei der in der Monographie vorgesehenen Koliermethode nicht der Fall ist.

Referenz:

- Schweizerischen Pharmakopöe (2012) Ausgabe 11 Monographie CH61 Zusammengesetzter Feigensirup S. 287.
- Rosenthal I. (2013) Improved HPLC Analyses of Anthranoid Containing Drugs, Masterthesen, ZHAW

Kontakt:

- Samuel Peter, samuel.peter@zhaw.ch
- Prof. Dr. Beat Meier, beat.meier@zhaw.ch
- Wir danken Swissmedic, Abteilung Pharmakopöe für die finanzielle Unterstützung.