

Atazhanova G.A., corresponding member of NAS RK, Dr. Chem. Sci., Professor, Head of Chemistry of Terpenoids Laboratory of JSC International Research and Production Holding “Phytochemistry”, Karaganda

Adekenov S.M., Academician of NAS RK, Dr. Chem. Sci., Professor, Chairman of JSC International Research and Production Holding “Phytochemistry”, Karaganda

Key words: *ultrasonic extraction; sesquiterpene lactones; Artemisia glabella; extractant*

We have carried out for the first time the ultrasonic extraction of air-dry raw material of the aerial parts of *Artemisia glabella* and meanwhile discovered that when using a mixture of water:ethanol as the extractant, the quantitative content of arglabin and argolid is higher than when using ethanol.

УДК: 615.322:543.42.062

ПРИМЕНЕНИЕ ЧИСЛОВЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СПЕКТРОВ ПОГЛОЩЕНИЯ ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ СВОЙСТВ ФИТОПРЕПАРАТОВ

Колдаев В.М., д. б. н., в.н.с. лаб. лекарственных растений Горнотаежной станции им. В.Л. Комарова ДВО РАН, п. Горно-Тажное, Россия

Ключевые слова: *лекарственные растения, экстракт, спектрофотометрия, сертификация*

Описана методика определения и применения спектрофотометрических числовых показателей, основанных на точках перегиба контура спектра поглощения, для оценки свойств и сертификации извлечений из лекарственных растений на конкретных примерах тысячелистника обыкновенного и хвоща полевого.

Методы спектрофотометрии применяются в анализе свойств, стандартизации растительного сырья, фитопрепаратов [1] и включены в Государственную фармакопею [2]. При спектрофотометрических фармакопейных испытаниях как основные числовые показатели спектров (ЧПС) используются длина волны λ_m и оптическая плотность A_m максимума поглощения [3], что не всегда достаточно для идентификации исследуемых проб, поскольку формы контуров спектров поглощения (СП) разных веществ могут значительно различаться даже при совпадении максимумов [4]. В связи с этим традиционно используются дополнительные ЧПС: ширина полосы поглощения (ПП) [5], интенсивность поглощения (S) и др., для определения которых берутся длины волн точек контура СП на уровне $0,5A_m$, что обычно без затруднений реализуется при колоколообразных формах контуров ПП (кривые Гаусса). Например (рисунок 1), для СП настойки плодов аниса обыкновенного (*Anisum vulgare* Gaerth., сем. Umbelliferae) точкам b и c контура на уровне $0,5A_m$ соответствуют длины волн λ_b , λ_c , используя значения которых, находят дополнительные ЧПС – ширину ПП, равную их разности, $\lambda_c - \lambda_b$, интенсивность поглощения как интеграл в пределах от b до c и др. [5].

Поскольку форма контура полосы СП зависит от условий экстракции, свойств сырья, растворителя [6], то, видимо, ЧПС, отображающие особенности контуров полос поглощения, можно применить в качестве характеристики извлечений из лекарственных растений. Однако использование указанных традиционных ЧПС затрудняется тем, что контуры полос СП фитопрепаратов, как правило, значительно отличаются от гауссианы [4]. Например, в контуре СП настоя цветочных корзинок ромашки аптечной (*Valeriana chamomilla* L., сем. Compositae) только одна точка на уровне $0,5A_m$ (точка d на рисунке 1), поэтому определить ЧПС в этом случае не возможно.

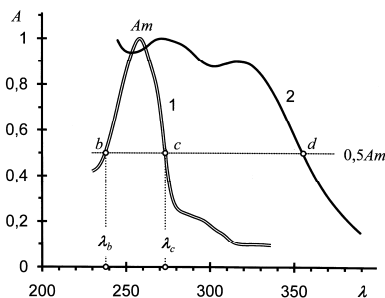


Рисунок 1. Спектры поглощения настойки плодов аниса обыкновенного (1) и настоя корзинок ромашки лекарственной (2).

Пояснения в тексте. По вертикали – оптическая плотность в отн. ед., по горизонтали – длина волны в нм

Таким образом, использование точек «половинного уровня» для определения традиционных ЧПС в спектрофотометрическом анализе фитопрепаратов ограничено, и, кроме того, совершенно не применимо для числовой характеристики выступов или ступенек, которые часто присутствуют в контурах СП (см., например, рисунок 2), а также для монотонных СП, что указывает на необходимость выбора иных реперных точек контура СП. Вероятно, наиболее подходящими могли бы служить точки перегибов линии контура ПП, но использование таких точек в фармацевтическом спектрофотометрическом анализе извлечений из растений недостаточно изучено. Восполнение этого пробела – разработка методики определения дополнительных ЧПС на основе точек перегиба и ее апробация на извлечениях из лекарственных растений, послужило поводом настоящей работы.

Исследования целесообразно провести на промышленных образцах фармакопейных растений. В качестве примера выбраны широко используемые в практике здравоохранения [7] трава тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L., сем. Asteraceae) и хвоща полевого (*Equisetum arvense* L., сем. Хвощевых – Equisetaceae)

производства ЗАО «Иван-Чай», из которых согласно фармакопее готовили водный настой [8] и настойку [9] в 40%-м этаноле соответственно.

Для извлечений каждого образца регистрировали по 15 спектров поглощения извлечений (3 пробы из пяти разных партий) на цифровом спектрофотометре UV-2501PC (Shimadzu, Япония) с шагом 1 нм. Спектры обрабатывали по специально разработанным компьютерным программам, зарегистрированным в Государственном реестре интеллектуальной собственности №№ 2009614442, 2010614072.

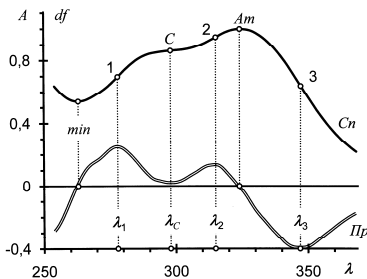


Рисунок 2. Нормированный спектр поглощения (C_n) и его производная (P_r) настоя тысячелистника. A_m – максимум, min – минимум; 1, 2, 3 – точки перегиба, C – ступенька, \square_1 , \square_2 , \square_3 и \square_C – соответствующие длины волн. Остальные обозначения см. рисунок 1.

В программах использовали алгоритмы численного дифференцирования и вычисления особых точек контуров ПП с учетом того, что первая производная (df) в максимуме функции меняет знак с «+» на «-», в минимуме наоборот с «-» на «+», в точках перегиба достигает максимальных, а в точках ступенек минимальных по абсолютной величине значений (на рисунках 2 и 3, масштабы производных по вертикальной оси приведены к масштабу A для наглядности). С помощью программ для спектров, имеющих максимумы, производили нормировку СП по наибольшему максимуму, вычисляли длины волн λ , оптические плотности A и значения производных в точках перегибов и ступенек контура ПП, крутизну ступенек, равную первой производной, а также интенсивности S поглощения как интеграл в пределах длин волн ближайших от максимума слева и справа точек перегиба. Монотонные спектры нормировали по оптической плотности первой ступеньки и определяли числовые показатели точек перегибов и ступенек. Статистическую обработку производили по методу малой выборки [10].

Диаграммы зарегистрированных спектров и значения ЧПС, представленные на рисунках 2, 3 и в таблицах 1, 2, показывают, что СП настоя травы тысячелистника включает один максимум в ультрафиолетовом диапазоне, с двумя слева и одной справа точками перегиба контура ПП и пологой ступенькой на левом склоне.

Таблица 1. Числовые показатели спектра поглощения настоя травы тысячелистника (номера точек перегиба по рисунку 2)

Показатель	Значение	
Максимум	Длина волны (нм)	324±1
	Оптическая плотность (отн. ед.)	1
Точка перегиба слева	Номер	1
	Длина волны (нм)	278±1
	Оптическая плотность (отн. ед.)	0,696±0,063
	Производная (отн. ед/нм)	0,0175±0,0016
Ступенька слева	Длина волны (нм)	298±1
	Оптическая плотность (отн. ед.)	0,861±0,082
	Крутизна (отн. ед/нм)	0,0019±0,0002
	Номер	3
Точка перегиба справа	Длина волны (нм)	347±1
	Оптическая плотность (отн. ед.)	0,637±0,058
	Производная (отн. ед/нм)	-0,0256±0,0021
	Ширина полосы поглощения (нм)	32±2,23
Интенсивность поглощения S (усл. ед.)	29,72±1,84	
Минимум	Длина волны (нм)	263±1
	Оптическая плотность (отн. ед.)	0,536±0,048

Спектр поглощения настойки хвоща полевого монотонный (без максимумов). Контур ПП имеет четыре точки перегиба и три ступеньки. Полученные значения ЧПС указывают на то, что крутизна первой ступеньки (253 нм) наибольшая, а 2-й и 3-й (294 и 314 нм) в 4,7 и 10,2 раза соответственно меньше.

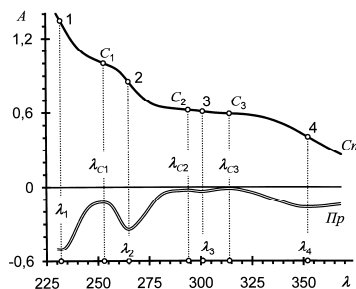


Рисунок 3. Монотонный нормированный спектр поглощения (C_n) и его производная (Pr) настойки хвоща полевого. 1, 2, 3, 4 – точки перегиба и C_1, C_2, C_3 – ступеньки, $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3, \lambda_4$ и $\lambda_{C1}, \lambda_{C2}, \lambda_{C3}$ – соответствующие им длины волн. Остальные обозначения см. рисунок 1

Таблица 2. Числовые показатели монотонного спектра поглощения настойки травы хвоща полевого (номера точек перегиба и ступенек по рис.3)

Показатель		Значение			
Точки перегиба	Количество	4			
	Номер	1	2	3	4
	Длина волны	232±1	265±1	301±1	352±1
	Оптическая плотность	1,345 ±0,124	0,853 ±0,072	0,609 ±0,054	0,404 ±0,036
	Производная (отн. ед/нм)	-0,0501 ±0,0046	-0,0342 ±0,0031	-0,0036 ±0,0032	-0,0164 ±0,0012
	Количество	3			
Ступенька	Номер	1		3	
	Длина волны	253±1		314±1	
	Оптическая плотность	1±0,024		0,622 ±0,058	
	Крутизна (отн. ед/нм)	-0,0123 ±0,0009		-0,0026 ±0,0003	
				0,592 ±0,052	

Таблицы 1 и 2 являются по существу распечатками указанных выше компьютерных программ обработки спектров поглощения.

Результаты проведенного исследования с использованием точек перегибов контура ПП вместо традиционных точек половинного уровня демонстрируют расширение возможностей спектрофотометрии в анализе извлечений из лекарственных растений – применимостю разработанной методики как для СП, имеющих максимумы, так и для монотонных.

Получение числовых показателей для одного спектра, включая регистрацию, обработку с помощью компьютерной программы и распечатку результатов на принтере, занимает около 8 мин, не требует предварительной подготовки извлечения и дополнительных реактивов, кроме экстрагента, при сравнительно низких погрешностях цифрового спектрофотометра: от ±0,002 до ±0,0044 [11]. Учитывая быстроту получения результата, малую затратность и высокую точность, описанную методику получения цифровых показателей СП целесообразно использовать в спектрофотометрическом фармацевтическом экспресс-анализе при оценке свойств фитопрепаратов.

Совокупность предлагаемых числовых показателей составляет спектрофотометрический паспорт или сертификат извлечения, который (в форме таблиц 1, 2) в перспективе может включаться в нормативную документацию на лекарственные препараты растительного происхождения.

Литература

- Колдаев В.М. Абсорбционная оптическая спектроскопия в фармации // Тихоокеанский медицинский журнал. 2014. № 1. – С. 19 – 23.
- Государственная фармакопея Российской Федерации. Вып. 12. Ч. 1. / Научный центр экспертизы средств медицинского применения. – М., 2008. – 704 с.
- Беликов В.Г. Анализ лекарственных веществ фотометрическими методами. Опыт работы отечественных специалистов // Российский химический журнал. 2002. Т. XLVI, № 4. – С. 52 – 56.
- Колдаев В.М. Спектры поглощения экстрактов из лек. растений Приморья. М.: Спутник+. 2013. 128 с.
- Пиняжко Р.М., Каленюк Т.Г. Методы УФ-спектрофотометрии в фармацевтическом анализе. – Киев, «Здоров'я». 1976. – 136 с.
- Колдаев В.М., Зориков, П.С., Бездетко Г.Н. Физико-химические свойства настоек на свежих и высушенных листьях лекарственных растений // Тихоокеанский медицинский журнал. 2013. № 2. – С. 94 – 96.
- Машковский М.Д. Лекарственные средства. – М., Новая волна, 2014. – 1216 с.
- Настои и отвары // Государственная фармакопея СССР, 11 издание, Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. – М., Медицина, 1990. – С. 147 – 148.
- Настойки // Государственная фармакопея СССР, 11 издание, Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. – М., Медицина, 1990. – С. 148 – 149.
- Лакин Г.Ф. Биометрия. – М., Высшая школа. 1980. – 293 с.

THE EMPLOYMENT OF NUMERICAL INDEX OF ABSORPTION SPECTRUMS TO DISCRIBE QUALITY OF PHYTOPREPARATS

Koldaev V.M. doctor of biological science, leading research worker laboratory of medical plants Mountain-Taiga station named V.L. Komarov FEB RAS, Gornotaezhnoe, Russia

Keywords: medicinal herbs, extract, spectrophotometry, certification

The paper describes procedure of determination and employment photometrical numerical index, based on inflection point of absorption spectrum's contour for appreciation of quality and certification of extracts of medical herbs as specific examples of *Achillea millefolium* and *Equisetum arvense*.

УДК 582.681:581.2:57.082

ИЗУЧЕНИЕ АНАТОМИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ ТРАВЫ ЗЮЗНИКА ВЫСОКОГО (*LYCOPUS EXALTATUS* L.)

Коняева Е.А., старший научный сотрудник отдела стандартизации и сертификации ФГБНУ ВИЛАР, Москва
Алентьева О.Г., старший научный сотрудник отдела стандартизации и сертификации ФГБНУ ВИЛАР, Москва
Ключевые слова: зюзник высокий, трава, микроскопия, анатомическое строение.

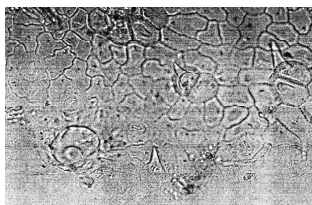
Зюзник высокий (*Lycopus exaltatus* L.) – многолетнее травянистое растение семейства яснотковые (*Lamiaceae*) с четырехгранным, прямым, реже ветвистым стеблем, в верхней части негусто покрытым полуприжатыми волосками и редко рассеянными мелкими железками. Листья продолговато яйцевидные, короткочерешковые или почти сидячие, глубоко, иногда почти до средней жилки перисто рассеченные на ланцетные или продолговато ланцетные, остроконечные, цельнокрайние или с немногими зубцами доли, точно железистые, сверху голые или коротко волосистые, по жилкам (особенно средней) покрыты более длинными волосками. Цветки многочисленные, по 15-20 в плотных мутовках, расположенных в пазухах листьев. Цветет в июне-августе. Зюзник высокий широко распространен в Европейской части России, на Кавказе, в Западной и Восточной Сибири, произрастает на песчано-галечных отмелях, по берегам рек и озёр, в зарослях приречных кустарников, канавах, на лесных опушках [1]. В народной медицине экстракты из травы зюзника высокого используют при приступах тахикардии, бессоннице, для лечения малярии, поноса, болей в желудке, маточных кровотечений и невралгий [2, 3].

Целью исследования является изучение анатомического строения надземной части зюзника высокого для определения его подлинности.

Объектом исследования служила высушенная трава зюзника высокого (*Lycopus exaltatus* L.), заготовленная сотрудниками ВИЛАР на территории Липецкой области РФ.

Изучение анатомического строения травы зюзника высокого проводили в соответствии с указаниями статьи “Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов” ГФ XIII [4]. Для получения микрофотографий использовался биологический микроскоп “Альтами БИО 2 LED” с цифровой насадкой фирмы ООО “Альтами” (Россия). Фотографии были обработаны на компьютере в программе “Adobe Photoshop 7.0”.

При рассмотрении микропрепарата листа с поверхности (Рисунок 1) было установлено, что клетки верхнего эпидермиса имеют слабоизвилистые, местами четковидноутолщенные стенки, заметна складчатость кутикулы; клетки нижнего эпидермиса мельче, их стенки сильноизвилистые. Устьица на нижней стороне листа многочисленные, на верхней – редкие; слегка погруженные, овальные, окружены двумя околоустьичными клетками, расположенными перпендикулярно устьичной щели (диацидный тип), также встречаются устьица, окруженные 3-4 клетками эпидермиса. Лист опушен простыми и головчатыми волосками, особенно многочисленными с нижней стороны.



а



б



в

Рисунок 1. Фрагменты эпидермиса листа зюзника высокого: а – верхний (увел. 400х); б – нижний (увел. 400х); в – простые волоски на нижнем эпидермисе (увел. 100х).