

Информация об авторе:

Напрасникова Елизавета Викторовна – к.б.н., ст.н.с., лаборатории геохимии ландшафтов и географии почв, доцент, тел. (3952) 42-70-89, e-mail:napev@irigs.irk.ru

Information About the Author:

Naprasnikova Elizabet V. – PhD, Senior Researcher Laboratory landscape geochemistry and soil geography, Associate Professor, tel. (3952) 42-70-89, e-mail:napev@irigs.irk.ru

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ РАСТЕНИЯ

© КОРНОПОЛЬЦЕВА Т.В., ПЕТРОВ Е.В. – 2017

УДК: 615

К ВОПРОСУ СТАНДАРТИЗАЦИИ ЭКСТРАКТА СУХОГО «ОБЛЕПИХА-5»

Татьяна Владимировна Корнопольцева, Евгений Васильевич Петров

(Института общей и экспериментальной биологии СО РАН, директор – д.б.н. Л.Л. Убугунов, лаборатория медико-биологических исследований, зав. – д.ф.н., проф. Т.А. Асеева)

Резюме. Доминирующими соединениями экстракта «Облепиха-5», состоящего из плодов облепихи крушиновидной, плодов перца длинного *Piper longum* L., корней солодки уральской, корней вздутоплодника сибирского, плодов яблони лесной, являются глицирризиновая кислота, содержание которой составило 27,4 мг/г; на долю кумаринов (виснадин), приходится 7,65 мг/г от массы сухого экстракта, на долю пиперина – 2,23 мг/г, соответственно и на долю катехина – 0,52 мг/г. Разработана методика количественного определения содержания глицирризиновой кислоты (24,15%) в полиэкстракте сухом, которая может быть использована для стандартизации данного объекта.

Ключевые слова: Облепиха-5; облепиха крушиновидная; перец длинный; солодка уральская; яблоня лесная; вздутоплодник сибирский; мордовник широколистный; полиэкстракт сухой; биологически активные вещества; стандартизация.

TO THE QUESTION OF STANDARDIZATION OF THE EXTRACT DRY «HIPPOPHAE-5»

T.V. Kornopoltseva, E.V. Petrov

(Institute of General and Experimental Biology, Ulan-Ude, Russia)

Summary. Dominant compounds of extract “Hippophae-5”, consisting Hippophae rhamnoides fruit, long pepper *Piper longum* fruit, *Glycyrrhiza uralensis* roots, *Phlojodicarpus sibiricus* roots, *Malus sylvestris* fruits are glycyrrhizic acid, the contents of which amounted to 27,4 mg/g; the share of coumarins (visnadin), have 7,65 mg/g by weight of dry extract, at a fraction of piperine – 2,23 mg/g, respectively, and the proportion of catechin – 0,52 mg/g. The developed method of quantitative determination of the content of glycyrrhizic acid (24,15%) in preextracted dry, which can be used to standardize the object.

Key words: Hippophae-5; *Hippophae rhamnoides* L.; *Piper longum* L.; *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.; *Phlojodicarpus sibiricus* (Stephan ex Spreng) Koso-Pol. Tausch; *Malus sylvestris* Mill.; biologically active substances; standardization.

В перечне фармакотерапевтических средств, используемых для лечения и профилактики заболеваний органов дыхания, значимое место принадлежит фитопрепаратам. Их влияние отличается широтой спектра фармакологического действия благодаря содержанию в них различных классов биологически активных веществ, доступностью, взаимозаменяемостью. Преимущественная фармакотерапевтическая эффективность многокомпонентных фитопрепаратов обусловлена не только их воздействием на патологический процесс, но и их регулирующим влиянием на различные функциональные системы организма с повышением резистентности организма в целом.

Сведения об использовании растений в народной и традиционной медицине являются надежным ориентиром для выбора направления поиска новых видов лекарственного сырья. В арсенале тибетской медицины при заболеваниях органов дыхания используются многокомпонентные препараты, в состав которых входят растения из флоры Забайкалья. Сбор (условное название «Облепиха-5») [7,8,9] включает следующие лекарственные растения: облепихи крушиновидной (*Hippophae rhamnoides* L.) (плоды), перца длинного *Piper longum*

L. (плоды), солодки уральской *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. (корни), вздутоплодника *Phlojodicarpus sibiricus* (Stephan ex Spreng) Koso-Pol. Tausch (корни), яблони лесной *Malus sylvestris* Mill. (плоды), взятых в соотношении массовых частей 2:2:1:1:1, соответственно.

По данным литературы, в сборе присутствуют компоненты противовоспалительного действия солодка – яблоня, мордовник, облепиха; антиоксидантного – солодка, облепиха, перец, яблоня; иммуномодулирующего – солодка, яблоня; антибактериального – солодка, облепиха, способствующие повышению резистентности организма [4,5,6].

Указанные виды, за исключением перца длинного, произрастают на территории Бурятии и являются доступным для промышленных заготовок лекарственным сырьем.

Таким образом, БАВ плодов облепихи крушиновидной, плодов перца длинного, корней солодки уральской, корней мордовника широколистного и плодов яблони лесной по данным научной и народной медицины обладают выраженным противовоспалительным, антиоксидантным, антибактериальным и иммуномодулирующим действием, что указывает на целесообразность

применения данной композиции в качестве средства для лечения воспалительных заболеваний органов дыхания.

Цель работы – определение основных биологически активных веществ и разработка методики стандартизации для комплексного полиэкстракта, полученного из плодов облепихи крушиновидной, плодов перца длинного, корней солодки уральской, корней мордовника широколистного и плодов яблони лесной.

Материалы и методы

Растительный материал – плоды облепихи крушиновидной, корни и корневища солодки уральской, корни мордовника широколистного и плоды яблони лесной собраны на опытном стационаре «Горячинск» (Республика Бурятия) в 2016 году, плоды перца длинного приобретены в ООО «Старослав» (Бердск) в 2014 году. Методом ремацерации с учетом оптимальных параметров экстракции получен комплексный полиэкстракт, состоящий из сухих экстрактов плодов облепихи крушиновидной, плодов перца длинного, корней солодки уральской, корней мордовника широколистного и плодов яблони лесной, взятых в соотношении массовых частей 2:2:1:1:1, соответственно.

Оптимизацию процесса экстракции проводили с учетом выхода суммы сапонинов, в пересчете на глицирризиновую кислоту. Определение потери в массе при высушивании проводили на дериватографе Netzsch STA 449 C (Германия). Спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре Agilent-8453E (США) в кварцевых кюветках с толщиной поглощающего слоя 10 мм.

Количественное содержание маркерных компонентов определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Исследования проводили на микроколоночном жидкостном хроматографе Милихром А-02 (Эконова, Россия), снабженным автосемплером, УФ-детектором и колонкой с обращено-фазовым сорбентом ProntoSIL-120-5-C18 AQ (2×75 мм, 5 мкм; Metrohm AG, Швейцария). Подвижная фаза: элюент А – 0,2 М LiClO₄ в 0,006 М HClO₄, элюент В – ацетонитрил; режим элюирования – градиентный; программа градиента (%В): 0-20 мин. 5-10%; скорость подвижной фазы 200 мкл/мин.; температура колонки 35°C; длина волны детектора 270 нм. В работе использовались стандартные образцы глицирама; галловой кислоты; кверцетина, апигенина, рутина производства Extrasynthese (Франция). Идентификацию соединений осуществляли на основании данных о хроматографической подвижности, метода добавок, УФ- и МС-характеристиках отдельных соединений [11,12].

Методика количественного определения содержания глицирризиновой кислоты в полиэкстракте сухом.

0,5 г (точная навеска) полиэкстракта помещают в колбу коническую со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 20 мл спирта 95% и перемешивают. Далее добавляют 50 мл 3% уксусного раствора кислоты трихлоруксусной и нагревают в течение 10 мин. После охлаждения полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр, колбу промывают двумя порциями 3% уксусного раствора кислоты трихлоруксусной по 10 мл, фильтруя через тот же фильтр. К полученному фильтрату прибавляют по каплям раствор аммиака концентрированный до появления обильного осадка (рН от 8,3 до 8,6 по универсальному индикатору). Раствор с осадком переносят на беззольный фильтр, помещенный в воронку Бюхнера. Колбу и фильтр промывают 50 мл ацетона в три приема. Осадок с фильтром переносят в колбу, в которой проводилось осаждение, растворяют в 50 мл воды, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 мл и доводят объем раствора водой до метки (раствор А). 1 мл раствора А помещают в мер-

ную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора водой до метки (раствор Б). Оптическую плотность раствора Б измеряют на спектрофотометре при длине волны 258 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения воду.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б ГСО глицирама. Содержание глицирризиновой кислоты в полиэкстракте в пересчете на глицирам в процентах (X) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{D \cdot m_o \cdot 250 \cdot 25 \cdot 5 \cdot 100}{m \cdot D_o \cdot 1 \cdot 50 \cdot 25}$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора (Б) при длине волны 258 нм; D_о – оптическая плотность раствора ГСО глицирама (Б) при длине волны 258 нм; m – масса сухого экстракта в г; m_о – масса ГСО глицирама в граммах.

Математическую обработку данных осуществляли с помощью программы Microsoft Excel 2003. После проверки распределения на нормальность, статистическую значимость различий сравниваемых величин определяли с использованием t-критерия Стьюдента. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез соответствовал p ≤ 0,05 [1].

Результаты и обсуждение

Полиэкстракт представляет собой мелкодисперсный порошок красно-коричневого цвета с приятным запахом и сладковатым вязущим вкусом, с содержанием влаги – не более 5%. Потеря в массе при высушивании не превышает 5%. Методом дифференциальной

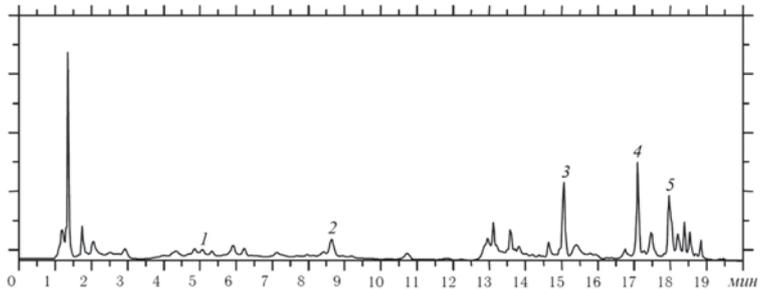


Рис. 1. Хроматограмма (ВЭЖХ) спиртового извлечения «Облепиха-5». Числами обозначены соединения: 1 – катехин, 2 – ликвиритин, 3 – глицирризиновая кислота, 4 – пиперин, 5 – виснадин.

сканирующей калориметрии установлено, что основное удаление влаги начинается при температуре 50°C, а при 150°C происходит разложение экстракта. Методом ВЭЖХ в полиэкстракте сухом установлено наличие шести маркерных компонентов, сырьевым источником которых является вздутоплодник сибирский (виснадин), перец длинный (пиперин), солодка уральская (ликвиритин, глицирризиновая кислота), яблоня лесная (катехин) (рис. 1, табл. 1).

Таблица 1

Количественное содержание биологически активных веществ в полиэкстракте сухом «Облепиха-5»

Соединение	Содержание, мг/г
Катехин	0,52 ± 0,01
Ликвиритин	1,69 ± 0,05
Глицирризиновая кислота	27,4 ± 0,06
Пиперин	2,23 ± 0,06
Виснадин	7,65 ± 0,20

Доминирующими соединениями экстракта являются глицирризиновая кислота, содержание которой со-

Метрологические характеристики методики количественного определения глицирризиновой кислоты в полиэкстракте.

f	S	P	%	t(P, f)	Δx	E, %
10	24,15	0,1746	95	2,23	$\pm 0,39$	$\pm 4,78$

ставило 27,4 мг/г. На долю кумаринов (виснадин), приходится 7,65 мг/г от массы сухого экстракта, на долю пиперина – 2,23 мг/г, соответственно и не долю катехина – 0,52 мг/г.

Для количественного анализа полиэкстракта предложено использование содержания глицирризиновой кислоты [2,3]. Предложено использовать государственные стандартные образцы глицирама (моноаммониевая соль глицирризиновой кислоты), поскольку глицирризиновая кислота вещество нестабильное, что препятствует использованию данного соединения в качестве государственного стандартного образца.

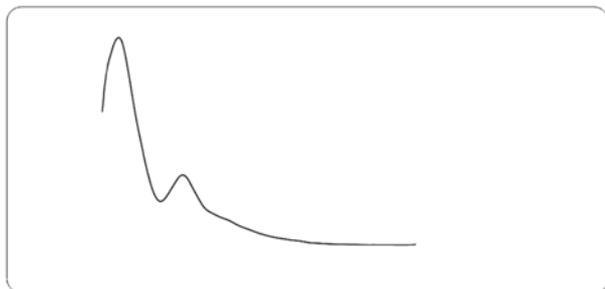


Рис. 2. Электронный спектр полиэкстракта. По оси абсцисс – оптическая плотность (у.е.), по оси ординат – длина волны (нм).

При количественном определении содержания глицирризиновой кислоты в электронном спектре полиэкстракта содержится один интенсивный максимум поглощения при длине волны 258 ± 2 нм (рис. 2), коррелирующий с таковым глицирризиновой кислоты и глицирама [2].

Проведено количественное определение содержания глицирризиновой кислоты в полиэкстракте сухом. Ошибка единичного определения с доверительной ве-

роятностью составляет 4,78 % (табл. 2).

Определено, что суммарное содержание сапонинов, в пересчете на глицирризиновую кислоту в полиэкстракте сухом при доверительной вероятности 95% составило 24,15%. Ошибка единичного определения не превышает 5%, результаты эксперимента можно считать удовлетворительными.

Таким образом, доминирующими соединениями экстракта «Облепиха-5» являются глицирризиновая кислота, содержание которой составило 27,4 мг/г; на долю кумаринов (виснадин), приходится 7,65 мг/г от массы сухого экстракта, на долю пиперина – 2,23 мг/г, соответственно и на долю катехина – 0,52 мг/г. Разработана методика количественного определения содержания глицирризиновой кислоты в полиэкстракте сухом (24,15%), которая может быть использована для стандартизации данного объекта.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Прозрачность исследования. Исследование не имело спонсорской поддержки. Исследователи несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и иных взаимодействиях. Все авторы принимали участие в разработке концепции и дизайна исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за исследование.

Работа поступила в редакцию: 20.12.2016 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея СССР. – XI изд. Ч. 2. – М., 1990. – С.364-365.
2. Егоров М.В., Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Быков В.А. Валидация методик качественного анализа сырья и препаратов солодки // Фармация. – 2005. – Т. 53. №1. – С.9-12.
3. Егоров М.В., Куркин В.А. Совершенствование методов стандартизации корней солодки // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2011. – Т. 13. №1. – С.1992-1995.
4. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. – В 6 т. Т.2. Семейства Actinidiaceae-Malvaceae, Euphorbiaceae-Haloragaceae / Сост. Л.М. Беленовская, Е.Е. Лесиовская, Н.С. Бобылева. – СПб. – М., 2009. – 513 с.
5. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. – В 6 т. Т.3. Семейства Fabaceae-Ariaceae / Сост. Л.М. Беленовская, Е.Е. Лесиовская, Н.С. Бобылева. – СПб. – М., 2010. – 601 с.
6. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. – В 6 т. Т. 5. 2. Семейства Asteraceae (Compositae). Часть 1. Роды Achillea-Youngia / сост. Беленовская Л.М., Лесиовская Е.Е., Бобылева Н.С. – СПб. – М., 2013. – 312 с.
7. Санчжай-чжамцо. Вайдурья-онбо (Гирлянда голубого берилла): комментарий к «Чжуд-ши» – украшению учения

- Царя медицины / Дэсрид Санчжай-чжамцо; пер. с тибетского, примеч., статьи Д.Б. Дашиева. – М.: Наука-Вост. лит., 2014. – 541 с.
8. Сумати Праджня. Кунпан-Дудзи (Полезный для всех экстракт амриты). Большой рецептурный справочник Агинского дацана. – Пер. с тибет., предисл., примеч., указ. Д.Б. Дашиева. – М.: Вост. лит., 2008. – 214 с.
9. Чжуд-ши: канон тибетской медицины – Пер. с тиб., предисл., примеч., указатели Д.Б. Дашиева. – М.: Изд-во «Восточная лит-ра РАН», 2001. – 230 с.
10. Choudhary R.K., Swarnkar P.L. Antioxidant activity of phenolic and flavonoid compounds in some medicinal plants of India // Natural Product Research. – 2011. – Т. 25. №11. – С.1101-1109.
11. Olennikov D.N., Kashchenko N.I., Chirikova N.K. A Novel HPLC-Assisted Method for Investigation of the Fe²⁺-Chelating Activity of Flavonoids and Plant Extracts // Molecules. – 2014. – Vol. 19. – P.18296-18316.
12. Olennikov D.N., Kashchenko N.I., Chirikova N.K., Kuz'mina S.S. Phenolic Profile of Potentilla anserina L. (Rosaceae) Herb of Siberian Origin and Development of a Rapid Method for Simultaneous Determination of Major Phenolics in P. anserina Pharmaceutical Products by Microcolumn RP-HPLC-UV // Molecules. – 2015. – Vol. 20. – P.224-248.
13. Han J., Borjihan G., Bai R., et al. Synthesis and anti-hyperlipidemic activity of a novel starch piperinic ester // Carbohydrate Polymers. – 2008. – Т. 71. №3. – С.441-447.

REFERENCES

1. State Pharmacopoeia of the USSR. – XI ed. Pt. 2. – Moscow, 1990. – P.364-365. (in Russian)
2. Egorov M.V., Kurkin V.A., Zapsochnaya G.G., Bykov V.A. method Validation for the qualitative analysis of raw licorice products // Farmatsia. – 2005. – Vol. 53. №1. – P.9-12. (in

- Russian)
3. Egorov M.V., Kurkin V.A. Perfection of methods of standardization of roots of licorice // Izvestija Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk. – 2011. – Vol. 13. №1. – С.1992-1995. (in Russian)

4. Plant resources of Russia: wild flowering plants, their component composition and biological activity. – In 6 vol. Vol. 2. Family Actinidiaceae-Malvaceae, Euphorbiaceae-Haloragaceae / Comp. L.M. Balanovska, E.E. Lesiovskaya, N.S. Bobylev. – St. Petersburg – Moscow, 2009. – 513 p. (in Russian)

5. Plant resources of Russia: wild flowering plants, their component composition and biological activity. – In 6 vol. Vol. 3. Family Fabaceae-Apiaceae. / Comp. L.M. Balanovska, E.E. Lesiovskaya, N.S. Bobylev. – St. Petersburg – Moscow, 2010. – 601 p. (in Russian)

6. Plant resources of Russia: wild flowering plants, their component composition and biological activity. – In 6 vol. Vol. 5. 2. Family Asteraceae (Compositae). Part 1. Genera Achillea-Youngia / Comp. L.M. Belanovsk, E.E. Lesiovskaya, N.S. Bobyleva. – St. Petersburg – Moscow, 2013. – 312 p. (in Russian)

7. Sanjay-jamco. Vaidurya-about (Garland blue beryl): comment on “chzhud-Shi” – the decoration of the teachings of the King of medicine / Desired Sanji-jamco; transl. from Tibetan, note., the article D.B. Dashiev. – Moscow: Nauka-East. lit., 2014. – 541 p. (in Russian)

8. Sumati Prajna. Kunpan-Douji (Useful for all extract Amrita). Large drug Handbook AGINSKY datsan / Sumati

Prajna. Translated from Tibet., Pref., note., decree. D.B. Dashiev. – Moscow: Vost. lit., 2008. – 214 p. (in Russian)

9. Chzhud-Shi: Canon of Tibetan medicine / translation from TIB., Pref., note., pointers D.B. Dashiev. – Moscow: Publishing house «Eastern literature RAS», 2001. – 230 p.

10. Choudhary R.K., Swarnkar P.L. Antioxidant activity of phenolic and flavonoid compounds in some medicinal plants of India // Natural Product Research. – 2011. – T. 25. №11. – C.1101-1109.

11. Olennikov D.N., Kashchenko N.I., Chirikova N.K. A Novel HPLC-Assisted Method for Investigation of the Fe²⁺-Chelating Activity of Flavonoids and Plant Extracts // Molecules. – 2014. – Vol. 19. – P.18296-18316.

12. Olennikov D.N., Kashchenko N.I., Chirikova N.K., Kuz'mina S.S. Phenolic Profile of Potentilla anserina L. (Rosaceae) Herb of Siberian Origin and Development of a Rapid Method for Simultaneous Determination of Major Phenolics in P. anserina Pharmaceutical Products by Microcolumn RP-HPLC-UV // Molecules. – 2015. – Vol. 20. – P.224-248.

13. Han J., Borjihan G., Bai R., et al. Synthesis and anti-hyperlipidemic activity of a novel starch piperinic ester // Carbohydrate Polymers. – 2008. – T. 71. №3. – C.441-447.

Информация об авторах:

Корнопольцева Татьяна Владимировна – к.ф.н., научный сотрудник лаборатории, 670047, г.Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6, ИОЭБ СО РАН, тел. (3012) 434743, e-mail: tv-kornopol@mail.ru; Петров Евгений Васильевич – к.ф.н., старший научный сотрудник лаборатории, e-mail: petrov.bur@mail.ru.

Information About the Authors:

Kornopol'tseva Tatiana Vladimirovna – PhD (Pharmacy), research associate of the laboratory, 670047, Russia, Ulan-Ude, Sakhyanova str., 6, Institute of Computational Technologies SB RAS, tel. (3012) 434743, e-mail: tv-kornopol@mail.ru; Petrov Evgeny Vasilievich – PhD (Pharmacy), senior research fellow of the laboratory, e-mail: petrov.bur@mail.ru.

СЛУЧАИ ИЗ ПРАКТИКИ

© АГЗАМОВАТ.А., КУРБАНОВА Г.Ш., АБДУРАХИМОВ А.А., НАБИЕВА У.П. – 2017
УДК: 616.36-002.2-022.6-085

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ ЛЕЙКОЗА В ПРАКТИКЕ ИНФЕКЦИОНИСТА

Турсунной Абдулхаевна Агзамова¹, Гульноза Шукуровна Курбанова²,
Абдулазиз Абдугаффарович Абдурахимов², Умида Пулатджановна Набиева³

(¹Ташкентский педиатрический медицинский институт; ²1-Городская клиническая инфекционная больница;
³Республиканский научный центр иммунологии, Республика Узбекистан)

Резюме. В статье представлено клиническое наблюдение из практики инфекциониста о проведении комплекса клинических и лабораторных мероприятий для дифференциальной диагностики заболевания, протекающего с геморрагическим синдромом и менингеальным симптомокомплексом.

Ключевые слова: дифференциальная диагностика, менингит, острый лейкоз.

CLINICAL CASE OF LEUKEMIS IN INFECTIST PRACTICE

T.A. Agzamova¹, G.Sh. Kurbanova², A.A. Abdurahimov², U.P. Nabieva³

(¹Tashkent Pediatric Medical Institute; ²1-City clinical infectious diseases hospital;
³Republican Scientific Center of Immunology of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan)

Summary. The article presents a clinical case from an infectiologist practice about conducting a complex of clinical and laboratory measures for the differential diagnosis of a disease that occurs with a hemorrhagic syndrome and a meningeal symptomatic complex.

Key words: differential diagnosis; meningitis; acute leukemia.

Острый лейкоз – опухолевое заболевание, субстратом которого являются опухолевые лимфообласты, накапливающиеся в костном мозге, крови и других органах. При этом малигнизация происходит на уровне стволовой (или полустволовой) клетки, которая сначала нормально развивается, но потом ее дифференциров-

ка останавливается на стадии лимфообластов, которые продолжают бесконтрольно делиться.

В практической работе инфекционистам иногда приходится сталкиваться с различными формами лейкозов и проводить дифференциальную диагностику с различными инфекционными заболеваниями [1,3].