

in stems is 3,07, in roots is 3,3, in flowers is 3,8 and in fruits is 3,23.

Keywords: aminoacids, Vaccinium uliginosum.

ЛИТЕРАТУРА

1. Липкан, Л. Н. Применение плодово – ягодных растений в медицине / Г. Н. Липкан. – Киев: Здоровье, 1988. – С. 48 – 49.
2. Лечебные свойства пищевых растений / Т. Л. Киселева [и др.] / Под общ. ред. Т. Л. Киселевой. – М.: Изд – во ФНКЭЦГМДЛ Росздрава, 2007. – 533с.
3. Лекарственные растения: Энциклопедия / Сост. И. Н. Путырский, В. Н. Прохоров. – Минск: Книжный дом, 2003. – 656 с.
4. Таланов, А. А. Выявление экологической чистоты и элементного состава листьев голубики / А.А. Таланов, Т.А. Горохова // Изыскание и создание природных лекарственных средств: Межвуз. сб. науч. тр. с междун. участием, посв. 25 – летию кафедры фармакогнозии и ботаники / под ред. Н. С. Фурсы. – Ярославль: ООО «Яр-МедиаГруп», 2009. – С. 44 – 50.

Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
Витебский государственный
медицинский университет,
кафедра фармакогнозии и ботаники
с курсом ФПК и ПК,
тел. раб.: 8 (0212) 37-09-29,
E-mail: kuzm_n-a@mail.ru

Кузьмичева Н.А.

Поступила 02.02.2010 г.

О.М. Шимко, О.М. Хишова

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ТРАВЫ ЛАПЧАТКИ БЕЛОЙ

Витебский государственный
медицинский университет

В статье представлены макро-скопические и микроскопические признаки травы лапчатки белой. Оценку качества травы лапчатки белой предложено проводить по содержанию основных биологически активных веществ - флавоноидов. Для идентификации флавоноидов предложена ТСХ-методика: в качестве стандарта использовали раствор ФСО рутина в спирте 40% Р с концентрацией 0,5 мг/мл. Количественное определение флавоноидов в пересчете на рутин проводили спектрофотометрическим методом, используя реакцию комплексообразования с раствором алюминия хлорида. Разработанные методики предлагаются для стандартизации травы лапчатки белой и лекарственных средств на ее основе.

Ключевые слова: лапчатка, трава, флавоноиды, рутин, стандартизация.

ВВЕДЕНИЕ

Разработка лекарственных средств (ЛС) на основе лекарственного растительного сырья (ЛРС) является важной задачей фармацевтической технологии.

ЛС на основе ЛРС обладают мягким фармакологическим действием, минимумом нежелательных эффектов, низкой токсичностью и высокой безопасностью.

Одним из лекарственных растений (ЛР), представляющим интерес для научной медицины, является лапчатка белая (*Potentilla alba* L.).

Лапчатка белая вошла в официальную медицину более 30 лет назад. Известно, что ЛС лапчатки белой оказывают влияние на щитовидную железу, регулируют ее функцию, ликвидируют диффузные изменения, снимают многочисленные токсические явления в организме.

Фармакологические эффекты лапчатки белой обусловлены химическим составом. Корневища с корнями лапчатки белой содержат углеводы (крахмал), иридоиды, сапонины, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды (кверцетин), дубильные вещества (галлотанин) до 17% [1]. Трава лапчатки белой содержит иридоиды, сапонины, фенолкарбоновые кислоты,

флавоноиды (рутин), дубильные вещества до 6%. В листьях обнаружены фенолкарбоновые кислоты и их производные (п-кумаровая и эллаговая кислоты), флавоноиды (кверцетин, кемпферол, цианидин) [1]. Установлено, что трава лапчатки белой кумулирует Mn, Zn, Cu, Se, Co, Fe, Si, Al, причем содержание Si, Al, Zn, Mn превышает критерий степени концентрирования минеральных элементов для ЛРС в 1,7; 2,5; 3,0; 4,0 раза, соответственно [1]. Следует отметить, что лапчатка белая содержит также элементарный йод и анион йодистой кислоты [1].

Первые клинические исследования лапчатки белой были проведены украинскими исследователями Г.К. Смыком и В.В. Кривенко в начале 1970-ых годов [2]. В качестве объекта исследования использовали настой 1: 20 всего растения целиком, собранного во время цветения. Уже после месяца лечения пациенты отмечали резкое улучшение состояния здоровья, уменьшались явления тиреотоксикоза, экзофтальм, тахикардия, тремор рук [2]. После 2 – 3 курсов лечения значительно уменьшалась в размерах щитовидная железа от III до I стадии, а в некоторых случаях – до нормальных размеров. Кроме того, нормализовались показатели основного обмена и ЭКГ, уменьшалось содержание уровня глюкозы и холестерина в крови, снижалось артериальное давление [2].

По данным электрокардиографии, отмечалось замедление частоты пульса, улучшение обменных процессов миокарда, восстановление нормальной атриовентрикулярной проводимости [2].

Проведено лечение настоем лапчатки белой 45 разновозрастных больных тиреотоксикозом (38 женщин и 7 мужчин) [3]. В результате проведенного исследования все пациенты отметили улучшение состояния здоровья, уменьшение раздражительности и улучшение сна, снижение тахикардии и артериального давления, нормализацию веса. Щитовидная железа уменьшалась в размерах, исчезал тремор и экзофтальм [4].

Установлено, что настоем лапчатки белой является эффективным ЛС для лечения тиреотоксикоза, хорошо переносится

при длительном применении, не вызывает побочных эффектов [4].

Изучение фармакологической активности извлечений из лапчатки белой показало, что экстракты из корней и травы являются практически нетоксичными. Авторами [4] в эксперименте установлено, что внутрижелудочное введение настоя из подземной и надземной части растения (1:20) в максимально возможном количестве (0,5 мл) не вызывало гибель мышей самцов (весом 20-22 г) и изменения их поведения, массы и внешнего вида.

При внутрижелудочном введении мышам 0,5 мл лиофилизированного экстракта DL50 равна 4215 мг/кг. Это позволило отнести исследуемый лиофилизированный экстракт к группе малотоксичных. Признаки острого отравления мышей проявились через 3-4 часа после введения ЛС и характеризовались повышенной возбудимостью с последующим угнетением, непроизвольным мочеиспусканием, ограничением двигательной активности, сменяющейся тремором. Выжившие животные переносили ЛС относительно хорошо. При вскрытии погибших животных и исследовании внутренних органов обнаружены точечные кровоизлияния в подслизистом слое желудка и тонкого кишечника, отмечено увеличение размера надпочечников, печени и почек. Внутримышечное введение лиофилизированного экстракта лапчатки белой повышало его токсическое действие: все животные погибли на второй день (DL 50 была равна 2629 мг/кг) [4].

Описанные фармакологические эффекты лапчатки белой связывают с биологически активными веществами (БАВ) – флавоноидами как Р-витаминными средствами [2].

Сегодня, несмотря на значительные достижения научной медицины, включая оперативные методы, химио-, гормоно- и физиотерапию, проблема лечения многих заболеваний человека не стала менее актуальной. Особенно это относится к заболеваниям эндокринной системы и, в частности, щитовидной железы. Наиболее распространенным недугом «щитовидки» является тиреотоксикоз. Попытки многочисленных фармацевтических фирм создать

эффективное средство для лечения гипертиреоза до настоящего времени не увенчались успехом.

В связи с этим арсенал терапевтических средств, предназначенных для лечения заболеваний щитовидной железы, достаточно узок, и в последнее время он не расширяется, а наоборот, сокращается. Снято с производства такое ЛС, как дийодтирозин. Официальная медицина для лечения заболеваний щитовидной железы применяет главным образом ЛС гормонов щитовидной железы (левотироксин, тиреоидин, трийодтиронин и их аналоги), антитиреоидные средства (мерказолил) и ЛС, содержащие йод [4].

Однако они обладают рядом побочных отрицательных действий на организм. Тиреоидин и трийодтиронин противопоказаны при тиреотоксикозе, сахарном диабете, ишемической болезни сердца; мерказолил может вызывать развитие лейкопении и гранулоцитопении, противопоказан при беременности и наличии узлов в железе; ЛС йода противопоказаны при беременности, заболеваниях почек, аллергических заболеваниях, новообразованиях щитовидной железы [4].

Наиболее распространенным остается оперативный метод лечения, который часто сопровождается осложнениями, дающими около 10 процентов инвалидности. «Менее» существенными недостатками хирургического удаления щитовидной железы являются: пожизненная заместительная гормонотерапия, развитие состояния гипотиреоза, высокие риски повреждения паращитовидной железы при проведении операции [4].

Все это вынуждает сегодня искать альтернативные способы лечения больных и создавать новые ЛС.

Цель данной работы – изучение диагностических признаков травы лапчатки белой, а также ее стандартизация по содержанию основной группы БАВ – флавоноидов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлась высушенная трава лапчатки белой трех серий:

- серия I – трава лапчатки белой, собранная в Центральном Ботаническом Саду Национальной Академии Наук Республики Беларусь (ЦБС НАН РБ) (г. Минск) в 2007 году;
- серия II – трава лапчатки белой, собранная в ЦБС НАН РБ (г. Минск) в 2008 году;
- серия III – трава лапчатки белой, собранная в Витебской области, в деревне Ранино в 2008 году.

Макроскопический анализ ЛРС является очень важным в общем комплексе фармакогностического исследования. Его основная задача - определение подлинности сырья.

Главная цель для определения подлинности ЛРС – найти в общей картине морфологических признаков специфичные, особенные, присущие исследуемому объекту, отличающие его от других.

Микроскопический анализ зависит от морфологической группы исследуемого объекта, а также от состояния сырья - цельного, измельченного или порошкообразного. При исследовании цельного сырья берут кусочки пластинки с краем и жилкой. При исследовании резанного сырья берут по несколько различных кусочков.

Микропрепараты готовили по методике, приведенной в Государственной Фармакопее Республики Беларусь [5].

В качестве метода исследования для идентификации флавоноидов использовали тонкослойную хроматографию (ТСХ). В качестве стандарта использовали раствор фармакопейного стандартного образца (ФСО) рутин в спирте 40% Р с концентрацией 0,5 мг/мл.

Испытуемый раствор: к 1,0 г измельченного сырья травы лапчатки белой прибавляли 30 мл спирта (40 %, об/об) Р, нагревали с обратным холодильником на водяной бане в течение 45 мин, охлаждали в течение 30 мин и фильтровали.

Раствор сравнения: 5 мг рутин Р растворяли в 10 мл спирта 96 % Р.

Пластинка: ТСХ пластинка со слоем силикагеля Р.

Подвижная фаза: бутанол Р – уксусная кислота ледяная Р – вода Р (4:1:2 об/об/об).

Наносимый объем пробы: по 10 мкл в виде полос.

Фронт подвижной фазы: не менее 10 см от линии старта.

Высушивание: на воздухе в течение 10-15 мин.

Проявление: пластинку опрыскивали 30г/л спиртовым раствором алюминия хлорида *P* в 95% спирте *P* и просматривали в ультрафиолетовом свете при длине волны 365 нм.

Количественное определение флавоноидов в траве лапчатки белой в пересчете на рутин проводили спектрофотометрическим методом, используя реакцию комплексообразования с раствором 30 г/л алюминия хлорида *P*.

Для выбора оптимальных условий экстракции флавоноидов из травы лапчатки белой было проведено исследование по определению влияния на полноту извлечения следующих факторов: природы экстрагента (вода очищенная, спирт этиловый 40 %, 60 %, 70 %, 95%); степени измельчения (100 – 250 мкм, 250 -500 мкм, 500 – 1000 мкм, 1000 – 2000 мкм); соотношения сырья: экстрагент (0,5:50; 1:50; 1,5 :50; 2:50); время экстракции, мин (15 + 15, 30 + 15, 45 + 15, 60 + 15) [5].

В ходе проведенных исследований нами подобраны оптимальные условия экстракции флавоноидов травы лапчатки белой: экстрагент *спирт 40% P*, измельченность сырья 100 -250 мкм, соотношение сырья: экстрагент 1:30, время экстракции 45 мин, температура экстракции 85-90° С.

1,000 г измельченного сырья помещали в колбу вместимостью 50 мл со шлифом, прибавляли 30,0 мл *спирта (40%, об/об) P*. Колбу закрывали, взвешивали с точностью до 0,01 г и кипятили с обратным холодильником на водяной бане в течение 45 мин. Затем колбу с содержимым охлаждали в течение 30 мин, взвешивали, доводили массу колбы до первоначальной *спиртом (40%, об/об)* и фильтровали (раствор А).

Испытуемый раствор. К 1,0 мл раствора А прибавляли 2,0 мл раствора 30 г/л алюминия хлорида *P* в 96 % спирте *P* и доводили *спиртом (95%, об/об) P* до объема 25,0 мл.

Раствор сравнения. 0,050 г ФСО рутина растворяли при нагревании на водяной бане в 50 мл *спирта (40%, об/об) P*. Охлаждали и доводили *спиртом (40%, об/об) P* до объема 100,0 мл (раствор В). К 1,0 мл раствора В прибавляли 2,0 мл раствора 30 г/л алюминия хлорида *P* в 96 % спирте *P* и доводили *спиртом (95 % , об/об) P* до объема 25,0 мл.

Компенсационный раствор (а). К 1,0 мл раствора А прибавляли 2-3 капли *раствора кислоты уксусной P* и доводили *спиртом (95 % , об/об) P* до объема 25,0 мл.

Компенсационный раствор (b). К 1,0 мл раствора В прибавляли 2-3 капли *раствора кислоты уксусной P* и доводили *спиртом (95 % , об/об) P* до объема 25,0 мл.

Измеряли оптическую плотность испытуемого раствора и раствора сравнения при 412 нм через 30-40 мин, используя компенсационный раствор (а) и компенсационный раствор (b), соответственно.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, в процентах, рассчитывали по формуле, на абсолютно сухое сырье (X):

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 30}{A_0 \cdot m},$$

где А – оптическая плотность испытуемого раствора;

А₀ – оптическая плотность раствора ФСО рутина;

m – масса навески испытуемого сырья, г;

m₀ – масса навески ФСО рутина, г.

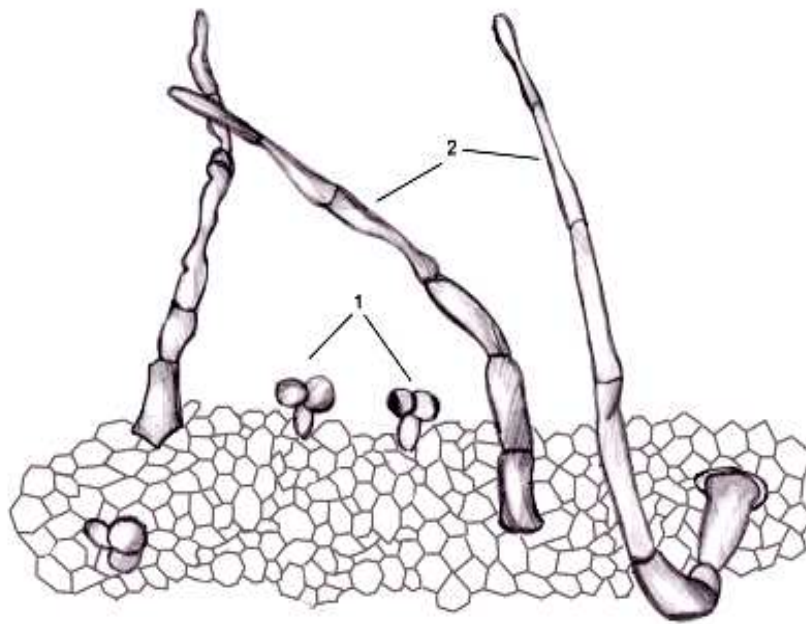
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Макроскопические признаки травы лапчатки белой. Внешние признаки. Цельные или частично измельченные олиственные цветоносные стебли длиной до 20 см с листьями чешуевидными, прикорневые листья на длинных черешках, пальчато-сложные, состоят из 5 обратно-ланцетных листочков, сверху темно-зеленые, снизу шелковистые, с темно-бурыми прилистниками. Стеблевые листья

небольшие, чешуевидные, в числе 1-2, с маленькими яйцевидно-ланцентными прилистниками. Все растение покрыто прижатыми шелковистыми серебристыми волосками. Цветки белые, до 3 см в диаметре, на длинных цветоносах, собраны по 2-5 в верхушечные полузонтики. Венчик из 5 свободных лепестков, чашечка с подчашием опушена, пятинадрезанные. Тычинок и пестиков много.

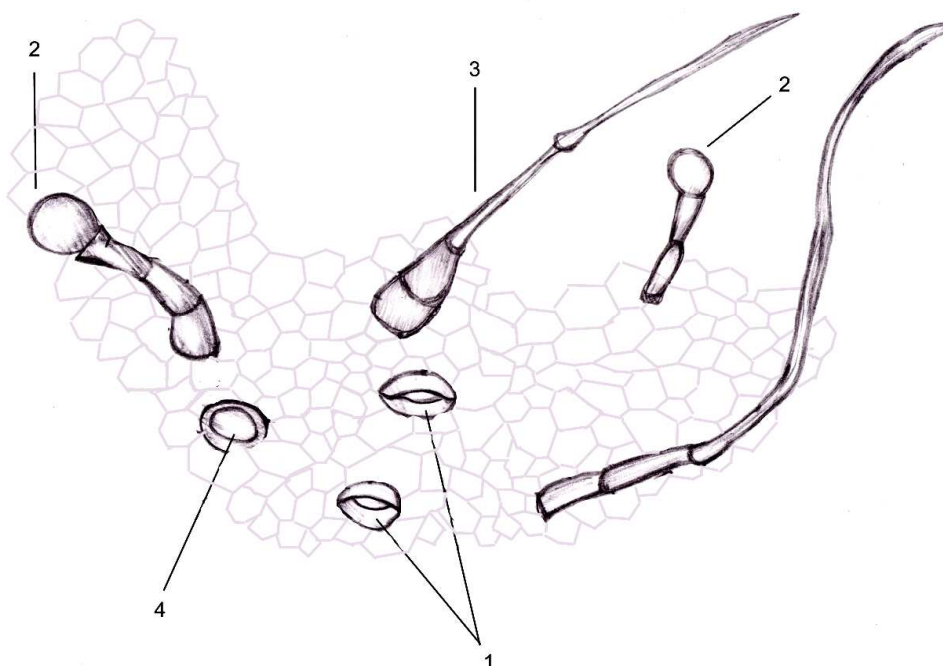
Микроскопические признаки травы лапчатки белой. При рассмотрении листа с поверхности видны клетки

эпидермиса в очертании многоугольные, с прямыми стенками. Устьица только на нижней стороне листа с 4-7 околоустьичными клетками (аномотный тип). На нижней стороне листа присутствуют многочисленные длинные простые волоски с толстыми стенками, иногда перекрученные или согнутые. Реже встречаются головчатые волоски двух типов: с одноклеточной ножкой и двухклеточной головкой и многоклеточной ножкой и одноклеточной головкой. В клетках мезофилла многочисленные друзы оксалата кальция (рис. 1,2.)



1 –головчатые волоски с одноклеточной ножкой и двухклеточной головкой;
2 –простые волоски.

Рисунок 1 – Лист лапчатки белой



1 – устьица;
 2 – головчатые волоски с многоклеточной ножкой и одноклеточной головкой;
 3 – простые волоски;
 4 – место прикрепления волоска.
 Рисунок 2 – Лист лапчатки белой

На рисунке 3 приведена последовательность зон хроматограмм раствора сравнения и испытуемого раствора.

Верх хроматографической пластинки	
Рутин: флуоресцирующая зона желто-зеленого цвета.	Флуоресцирующая зона синего цвета Флуоресцирующая зона желто-зеленого цвета (рутин)
Раствор сравнения	Испытуемый раствор

Рисунок 3 – Последовательность зон хроматограмм раствора сравнения и испытуемого раствора

Результаты качественного обнаружения флавоноидов травы лапчатки белой представлены в таблице 1.

На всех хроматограммах испытуемых серий травы лапчатки белой имеется

полоса, значение R_f которой совпадает со значением R_f ФСО рутина (таблица 1).

Результаты количественного определения флавоноидов травы лапчатки белой в пересчете на рутин представлены в таблице 2.

Таблица 1 – Результаты качественного обнаружения флавоноидов в траве лапчатки белой

Серия	R _f ФСО рутина	R _f извлечения из травы лапчатки белой
1	0,75±0,01	0,75±0,01
2	0,75±0,02	0,75±0,02
3	0,75±0,01	0,75±0,01

Таблица 2 – Количественное содержание флавоноидов в траве лапчатки белой

Серия	\bar{X}	S ²	S	S _x	$\Delta\bar{X}$	ε, %	$\bar{\epsilon}$, %
1	3,37	0,0066	0,0814	0,0448	0,23	6,71	2,98
2	2,61	0,0043	0,0652	0,0359	0,18	6,94	3,08
3	3,50	0,0022	0,0472	0,0260	0,13	3,85	1,71

Содержание флавоноидов в траве лапчатки белой составило от 2,61% до 3,50%. Предложенная методика легка в исполнении и хорошо воспроизводится (таблица 2).

Полученные результаты исследования легли в основу Фармакопейной статьи «Лапчатки белой трава» Государственной Фармакопеи Республики Беларусь [6].

ВЫВОДЫ

1. Изучены диагностические (макроскопические и микроскопические) признаки травы лапчатки белой. Микроскопические признаки: длинные простые волоски с толстыми стенками, иногда перекрученные или согнутые. Реже - головчатые волоски двух типов: с одноклеточной ножкой и двухклеточной головкой и многоклеточной ножкой и одноклеточной головкой. Основные макроскопические признаки: цельные или частично измельченные олиственные цветоносные стебли длиной до 20 см с листьями чешуевидными, прикорневые листья на длинных черешках, пальчато-сложные, состоят из 5 обратноланцетных листочков, сверху темно-зеленые, снизу шелковистые, с темно-бурыми прилистниками.

2. Подобраны оптимальные условия экстракции флавоноидов травы лапчатки белой. В качестве экстрагента предложено использовать спирт 40 % Р, измельченность сырья – 100 - 250 мкм, соотношение сырья: экстрагент – 1: 30, время экстрак-

ции – 45 мин, температура экстракции – 85 - 90° С.

3. Для идентификации флавоноидов лапчатки белой предложено использовать тонкослойную хроматографию. В качестве стандарта использовали раствор ФСО рутина в спирте 40 % с концентрацией 0,5 мг/мл.

4. Разработана спектрофотометрическая методика определения флавоноидов в траве лапчатки белой в пересчете на рутин. Данная методика может быть использована для стандартизации травы лапчатки белой и лекарственных средств на ее основе.

SUMMARY

O.M. Shymko, O.M. Khishova STANDARDIZATION OF GRASS POTENTILLA ALBA

In the article macroscopic and microscopic attributes of grass *Potentilla alba* are submitted. The estimation of quality of a grass *Potentilla alba* for carrying out under the contents of basic biologically active substances - flavonoids is offered. For identification of flavonoids is thin-layer chromatography offered. As the standard a solution PSO routine in *spirit 40 % R* with concentration 0,5 mg/ml was used. Quantitative definition of flavonoids in recalculation on routines spectrophotometric methods have carried out, using reaction of formations of complex with a solution of *aluminums chlorides R*. The developed techniques for standardization of a

grass *Potentilla alba* and medicinal means on its basis are offered.

Keywords: *potentilla alba*, grass, flavonoids, routine, standartization.

ЛИТЕРАТУРА

1. Семенова, Е.Ф. Химический состав лапчатки белой и применение ее с лечебной целью / Е.Ф. Семенова, Е.В. Преснякова // Химия и компьютерное моделирование. Бутлеровские сообщения. – 2001. – № 5. – С. 32 – 34.
2. Смик, Г.К. Перстач білий – ефективний засіб для лікування захворювань щитовидної залози / Г.К. Смик, В.В. Кривенко. – Фармацевтический журнал, №2, 1975. – с. 58-62
3. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Том 1. – Минск, 2006 – С.268.
4. Приходько, Е.И. Лечение больных тиреотоксикозом травой перстач белый / Е.И. Приходько / Врачебное дело, № 6. – 1976. – С.14.
5. Шимко, О.М. Количественное определение флавоноидов в траве лапчатки белой

/ О.М. Шимко, О.М. Хишова // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации. Материалы 64-ой юбилейной научной сессии университета, посвященной 75-летию его образования. – Витебск, 2009 – С. 110- 112

6. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Том 3. – Минск, 2009. – С.710.

Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
Витебский государственный
медицинский университет,
кафедра фармацевтической технологии
с курсом ФПК и ПК,
тел. раб.: 8 (0212) 37-00-13

Шимко О.М.

Поступила 03.03.2010 г.
