

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЦВЕТКОВ ЛУКА МЕДВЕЖЬЕГО (*ALLIUM URSINUM* L.) (ЧЕРЕМШИ)

Айрапетова А.Ю.,¹ Манукян К.А.,² Хромцова Е.Н.,¹ Шаталова Т.А.¹

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения России, Пятигорск, Россия (357532, Пятигорск, пр. Калинина, 11), e-mail: asyapgf@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Пятигорский государственный научно-исследовательский институт курортологии», г. Пятигорск, Россия (357500, Пятигорск, бульвар Гагарина, 19)

Проведен фармакогностический анализ цветков лука медвежьего, в ходе которого выявлены диагностические признаки цветков, позволяющие проводить диагностику сырья. Для стандартизации цветков, собранных на Северном Кавказе, определены показатели влажности, золы общей, золы, нерастворимой в 10%-ной хлористоводородной кислоте, экстрактивных веществ. В порошке сырья идентифицировали с помощью химических качественных реакций флавоноиды и аминокислоты. Наличие серосодержащих соединений определяли спектрофотометрически после взаимодействия с сульфид-ион с *n*-амино-*N,N*-диэтиланилина сульфатом. Наличие флавоноидов устанавливали с помощью пробы Shinoda, а количественное содержание — спектрофотометрически по реакции комплексообразования с алюминия хлоридом в пересчете на лютеолин. Установлено, что образец сырья соответствовал требованиям ГФ по показателю «Микробиологическая чистота».

Ключевые слова: лук медвежий, цветки, ботаническая характеристика, биологические особенности, числовые показатели, флавоноиды, серосодержащие соединения, микробиологическая чистота

PHARMACOGNOSTIC CHARACTERISTICS OF BEAR'S GARLIC FLOWERS (*ALLIUM URSINUM* L.) (RAMSON)

Manukyan K.A.,² Ayrapetova A.Y.,¹ Chromtsova E.N.,¹ Shatalova T.A.¹

¹Pyatigorsk medical and pharmaceutical institute, Pyatigorsk branch of the SBEI of HPE Volgograd state medical university, Pyatigorsk, Russia, e-mail: asyapgf@mail.ru

²FSBI «Pyatigorsk Research Institute of balneology of the Federal Medico-Biological Agency», Pyatigorsk, Russia, e-mail: asgoodasitgets@mail.ru

Pharmacognostic analysis of bear's garlic flowers is carried out, during which flowers' diagnostic features that allow to diagnose plant material are revealed. Numerical indicators of moisture, total ash, ash insoluble in 10% hydrochloric acid, extractives are identified for standardization of the flowers collected in the North Caucasus. The plant material powder is identified by qualitative chemical reactions of amino acids and flavonoids. The presence of sulfur compounds is proved using spectrophotometry after reacting of sulfide ion with *n*-Amino-*N,N*-diethylaniline sulfate. The presence of flavonoids is proved by Shinoda test and the quantitative content - spectrophotometrically by complexation reaction with aluminum chloride in conversion to luteolin. It is found that the sample met the requirements of the State Pharmacopeia in terms of «Microbiological purity».

Keywords: bear's garlic, flowers, botanical characteristics, biological features, numerical indicators, flavonoids and sulfur-containing compounds, microbiological purity

Сырье лука медвежьего имеет разностороннее фармакологическое действие. В Канаде, Австралии, Англии в медицинской практике используют: капсулы с порошком высушенной травы лука медвежьего, настойки и экстракты, применяемые как антиоксидантное средство, влияющее на сердечно-сосудистую систему; а также имеющее антибактериальные и противогрибковые свойства для поддержания иммунной системы [3]. Однако в России растение нашло широкое применение только в народной медицине, не создано БАД и лекарственных средств с луком медвежьим, не разработаны методики анализа, позволяющие объективно оценивать качество свежего и высушенного сырья.

На основании анализа данных литературы можно заключить, что для листьев *Allium ursinum* отсутствуют сведения об углубленных исследованиях биологически активных соединений (БАС) сырья, произрастающего на территории России, а, следовательно, существует необходимость в проведении расширенного изучения состава этого растения с целью создания новых средств с антиоксидантной и антимикробной активностью.

Использование современных методов качественного и количественного анализа основных биологически активных веществ (БАВ) позволит дать научное обоснование возможности использования листьев лука медвежьего, произрастающего на Северном Кавказе, в медицинской практике, что является актуальной задачей фармации и основой для обоснования включения основных БАВ в качестве критериев нормирования качества изучаемого сырья [4].

Целью настоящей работы явилось определение морфолого-анатомических признаков, позволяющих проводить диагностику сырья, числовых показателей, товароведческого анализа, качественного и количественного состава биологически активных соединений (БАС) цветков черемши, с целью расширения арсенала лекарственных растительных средств с антиоксидантным и противомикробным действием [3, 5].

Материал и методика

Allium ursinum L. — лук медвежий, или черемша, многолетнее травянистое растение семейства луковые Alliaceae J. Agardh. *A. ursinum* зацветает на второй год жизни. Микроскопическому анализу были подвергнуты высушенные соцветия, собранные в период вегетации *A. ursinum*, собранные в регионе Ставропольского края в 2014 г., которые фиксировали спирто-водно-глицериновой смесью в соотношении 1:1:1. Микрообразцы изготавливались от руки лезвием и после соответствующей обработки заключались в глицериножелатиновую смесь. Анализ исследуем — с помощью фотоаппарата Sony-shot [5, 6].

Определение числовых показателей проводили согласно методикам ГФ [1]. Идентификацию основных действующих соединений цветков проводили с помощью цветных химических реакций, а основной группы серосодержащих соединений семейства Alliaceae — при помощи специфического реактива на сульфид-ион-*n*-амино-*N,N*-диэтиланилина сульфат в присутствии ионов Fe (III) [3]. Содержание флавоноидов устанавливали спектрофотометрически по реакции комплексообразования с алюминия хлоридом в пересчете на лютеолин. Регистрацию спектров проводили на приборе СФ-56 при длине волны 400 нм. Статистическую обработку результатов экспериментов проводили в соответствии с требованиями ГФ [1]. Расчеты проводили с помощью компьютерной программы Excel версии 2007 г. Определение микробиологической чистоты образца цветков

лука медвежьего проводили согласно требованиям ГФ XII, предъявляемым к качеству ЛРС [1].

Результаты

В результате морфолого-анатомического изучения цветков лука медвежьего были определены внешние признаки сырья [1, 2]. Во время цветения у растения образуется трехгранный безлистный цветоносный побег высотой 40–80 см, который на верхушке заканчивается зонтиковидным соцветием из 12–15 цветков. До цветения цветки заключены в пленчатый чехол (рис. 1А). Цветки актиноморфные обоополые. Околоцветник простой, состоит из 6 беловато-пленчатых свободных листочков 8–10 мм длиной и 2–4 мм шириной. Андроцей состоит из 6 свободных тычинок одинаковой длины. Гинецей ценокарпный и состоит из трех плодolistиков, которые образуют верхнюю трехгнездную завязь с несколькими семязачатками, столбик один (рис. 2Б).



Рис. 1. Внешний вид соцветия (А) и цветка (Б), чехол (В) *A. ursinum*

Стебель на поперечном разрезе имеет трехгранную форму (рис. 2А). Покровная ткань эпидерма с мощно развитой кутикулой. Кора состоит из 6–10-рядной тонкостенной хлоренхимы. Проводящая система пучкового типа. Тип стели — атактостель. Закрытые коллатеральные сосудисто-волокнистые проводящие пучки располагаются в паренхиме сердцевины, образованной паренхимными клетками с тонкой стенкой (рис. 2Б).

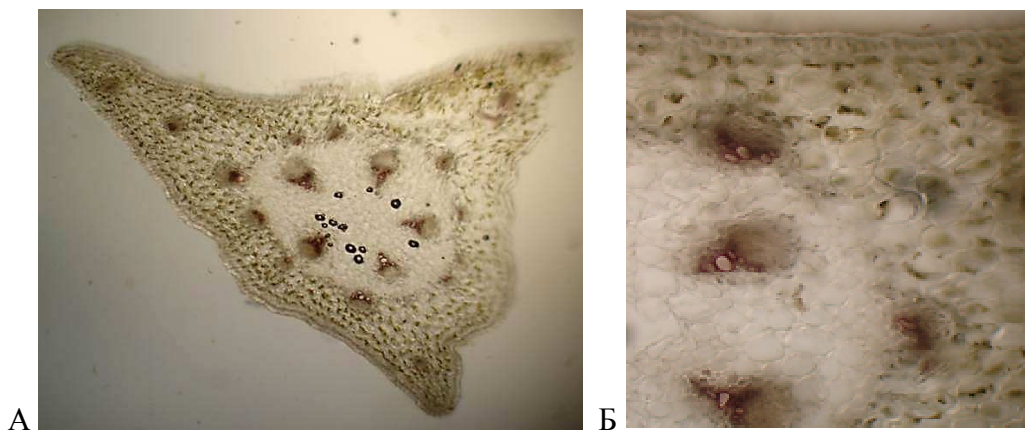


Рис. 2. Стебель *A. ursinum*: общий вид (А), проводящие пучки (Б)

Листочки образуют чехол. Основные клетки верхней эпидермы листочка вытянутые с прямыми антиклинальными стенками. Устьичный энцикл аномоцитного типа с 4–5 соседними клетками (рис. 3А). Устьица в очертании округлые. Основные клетки нижней эпидермы листочка вытянутые с прямыми антиклинальными стенками. Устьичный энцикл аномоцитного типа с 4–6 соседними клетками (рис. 3Б). Устьица в очертании округлые.

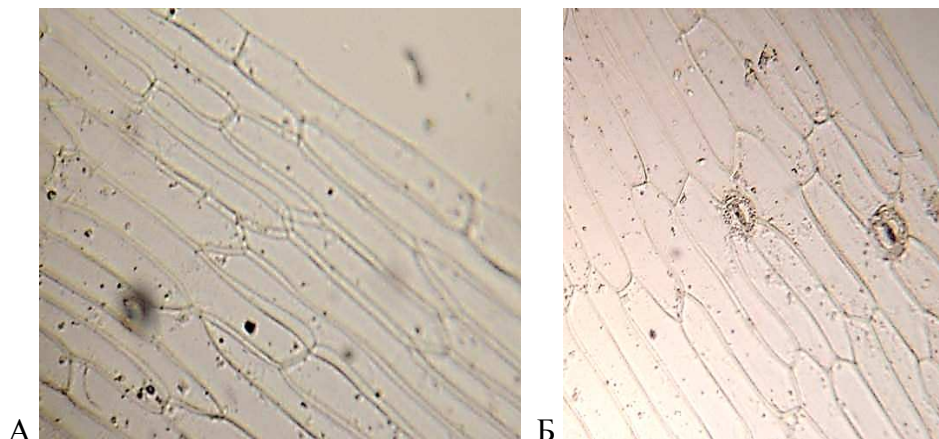


Рис. 3. Эпидерма листочка чехла *A. ursinum*: верхняя (А) и нижняя (Б)

В основных клетках верхней и нижней эпидермы листочка чехла содержатся мелкие алейроновые зерна (рис. 4А) и одиночные кристаллы (рис. 4Б).

Цветоножка на поперечном разрезе трехгранной формы. Покровная ткань эпидерма с мощно развитой кутикулой. Под эпидермой располагается несколько рядов тонкостенных паренхимных клеток с единичными хлоропластами. Проводящая система пучкового типа (рис. 5А, Б).

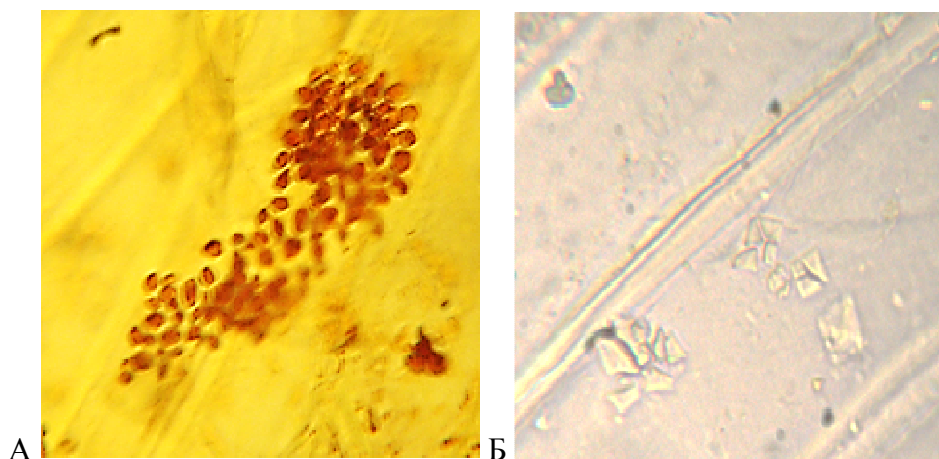


Рис. 4. Включения в основных клетках эпидермы листочка чехла *A. ursinum*: алейроновые зерна (А), кристаллы (Б)

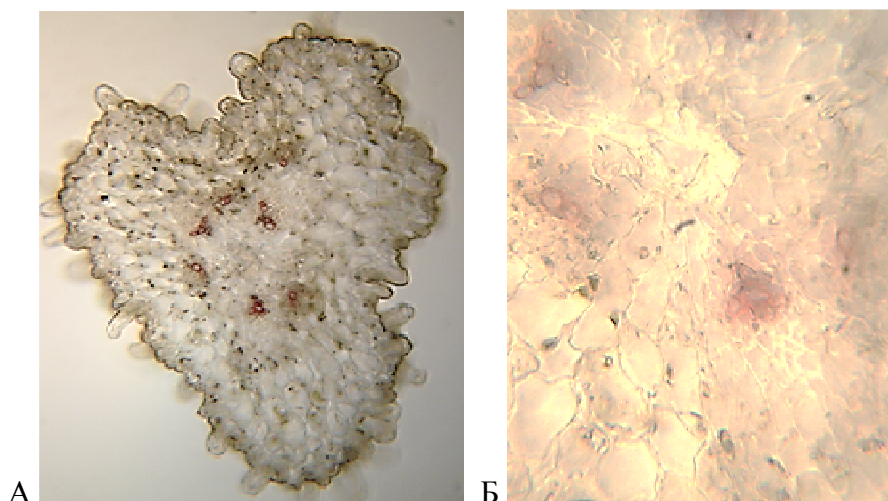


Рис. 5. Цветноожка *A. ursinum*: общий вид (А), проводящие пучки (Б)

В результате проведения товароведческого анализа были установлены показатели влаги ($6,53 \pm 0,41\%$), золы ($11,55 \pm 0,14\%$), золы, нерастворимой в растворе хлористоводородной кислоты ($2,30\% \pm 0,15\%$).

Определение содержания экстрактивных веществ проводили с помощью следующих экстрагентов: вода, спирт этиловый 40%-ный, спирт этиловый 70%-ный и спирт этиловый 96%-ный.

Таблица 1

Определение экстрактивных веществ в цветках

Экстрагент	Содержание экстрактивных веществ, %			
	1-й результат	2-й результат	3-й результат	Средний
Вода	43,90	44,12	43,86	43,96
Спирт этиловый 40%-ный	41,49	41,63	41,59	41,57
Спирт этиловый 70%-ный	38,34	38,56	38,48	38,46
Спирт этиловый 96%-ный	20,89	20,98	20,87	20,91

По результатам испытаний установлено, что наибольший выход экстрактивных веществ был получен при использовании воды, он составил 43,96% (табл. 1).

Для установления некоторых биологически активных соединений цветков лука медвежьего были проведены качественные реакции на флавоноиды и аминокислоты, дубильные вещества и терпеноиды [5, 6].

Таблица 2

Результаты качественного обнаружения некоторых групп биологически активных соединений представлены в таблице

БАС	Реактив	Результат реакции
Серосодержащие	n-амино-N,N-диэтиланилина	Сине-зеленое окрашивание

соединения	сульфат	
Флавоноиды	Цианидиновая проба Алюминия хлорид	Красно-оранжевое окрашивание Ярко-желтое окрашивание
Аминокислоты	Раствор нингидрина	Фиолетовое окрашивание
Дубильные вещества	Раствор железоммониевых квасцов	Черно-зеленое окрашивание
Терпеноиды	Раствор ванилина в 85%-ной серной кислоте	Малиновое окрашивание

Основываясь на данных литературы о том, что лук медвежий богат разнообразными полифенольными соединениями, нами было проведено количественное определение флавоноидов. Дифференциальный спектр поглощения совпадал по положению максимума с дифференциальным спектром лютеолина и находился в области 400 ± 2 нм (рис. 6).

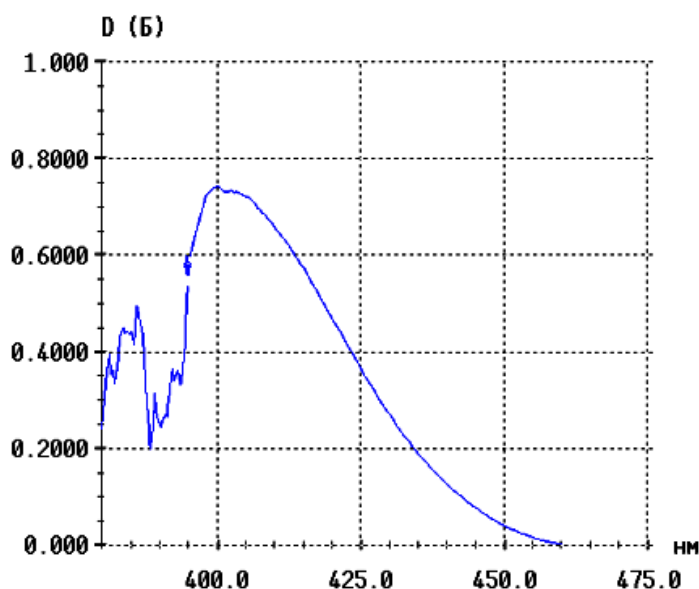


Рис. 6. Дифференциальный спектр поглощения флавоноидов черемши

Это дало возможность вести пересчет содержания флавоноидов на лютеолин, удельный показатель поглощения которого с алюминия хлоридом при длине волны 400 нм равен 549,41 [1, 3].

Определение микробиологической чистоты позволило отнести сырье к категории 4Б «Лекарственные растительные средства или растительное сырье “ангро”, приготовленные без использования кипящей воды».

Таблица 3

Результаты анализа микробиологической чистоты

Показатели	Результат (среднее из 3 определений)
Общее число аэробных микроорганизмов — не более	10^3

10 ⁵ КОЕ в 1 г;	
Общее число грибов – не более 10 ⁴ КОЕ в 1 г;	Отсут.
Энтеробактерий, устойчивых к желчи, — не более 10 ³ КОЕ в 1 г	Отсут.
Отсутствие <i>Escherichia coli</i> – в 1 г;	Отсут.
Отсутствие бактерий рода <i>Salmonella</i> в 25 г;	Отсут.

Как видно из данных таблицы 3, образец соответствовал требованиям ГФ по показателю «Микробиологическая чистота» [1].

Выводы

1. Определены основные морфолого-анатомические характеристики цветков лука медвежьего. Результаты исследований позволяют подтвердить подлинность сырья независимо от региона произрастания и заготовки.
2. Установлена совокупность микродиагностических признаков, необходимых для идентификации цветков лука медвежьего.
3. Предложены качественные реакции на некоторые БАС сырья; установлены числовые показатели цветков.
5. Проведено количественное содержание флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии, которое составило 1,14±0,03%.
6. Проведено определение микробиологической чистоты сырья.

Список литературы

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. Изд. 12-е. М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. — Ч. 1. — С. 160–180.
2. Жизнь растений: в 6 т. / Под ред. А.Л. Тахтаджяна. — М.: Просвещение, 1982. — Т. 6. — С. 94–102.
3. Манукян К.А. Изучение биологически активных веществ листьев лука медвежьего (*Allium ursinum* L.) и создание лекарственного средства на их основе: Автореф. дис. канд.фармац. наук. — Пятигорск, 2014. — 24 с.
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства: справочное издание. Изд. 15-е, перераб., испр. и доп. — М.: Новая волна, 2006. — С. 962.

5. Разработка технологии и анализ экстракта листьев кизила жидкого / Т.А. Шаталова, Е.Н. Хромцова, И.С. Луговой и др. // Известия Самарского науч. Центра РАН. — 2013. — Т. 15. № 3(6). — С. 2004–2007.

6. Фитохимическое исследование и разработка технологии жидкого экстракта из листьев лимонника китайского / А.М. Темирбулатова, Э.Ф. Степанова, В.А. Садоян и др. // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. — 2010. — Т. 22. — № 12-2. — С. 141–144.

Рецензенты:

Коновалов Д.А., д.фарм.н., профессор, заместитель директора по научной работе, заведующий кафедрой фармакогнозии Пятигорского медико-фармацевтического института филиала ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Пятигорск;

Шевченко А.М., д.фарм.н., профессор кафедры технологии лекарств Пятигорского медико-фармацевтического института филиала ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Пятигорск.