

УДК 543.422.3:615.322.073

В.М. Колдаев¹, В.В. Ващенко¹, Г.Н. Бездетко²¹ Владивостокский государственный медицинский университет (690950 г. Владивосток, пр-т Острякова, 2),² Горнотаежная станция ДВО РАН (692533 Приморский край, Уссурийский р-н, с. Горнотаежное, ул. Солнечная, 26)**ФОТОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ АБСОРБЦИОННЫХ СПЕКТРОВ ЭКСТРАКТОВ ИЗ РАСТЕНИЙ***Ключевые слова: абсорбционные спектры, экстракты, лекарственные растения.*

Описана авторская методика определения дополнительных фотометрических параметров абсорбционных спектров экстрактов из растений. Совокупность этих параметров может служить количественной характеристикой экстракта и использоваться в производственной практике при контроле производства лекарственных средств из растительного сырья.

В фармации для исследования свойств экстрактов из лекарственных растений широко используются оптические спектроскопические методы, включенные в Российскую и Международную фармакопеи [2, 3]. Благодаря своей относительной простоте наибольшее применение из них нашли методы абсорбционной спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой областях оптического спектра, основанные на поглощении веществом энергии света [1, 4].

В практической абсорбционной спектроскопии экстрактов, настоев и других жидких извлечений из растений на спектрофотометре обычно регистрируют зависимость оптической плотности раствора от длины волны света, т.е. кривую поглощения, которую принимают за спектр поглощения, или абсорбционный спектр (АС) [5–7].

Спектр поглощения растворов может иметь один или несколько максимумов. Для описания таких спектров используются стандартные фотометрические параметры:

- максимальная оптическая плотность, или спектрофотометрический максимум поглощения (D_m), и соответствующая ему длина волны (λ_m);
- ширина полосы поглощения ($\Delta\lambda$), равная разности длин волн справа (λ_b) и слева (λ_a) от максимума в точках (a , b) контура спектральной кривой, где оптическая плотность составляет половину максимальной – $D_m/2$;
- смещение максимума относительно середины полосы поглощения, или фактор асимметрии (ρ):

$$\rho = (\lambda_m - \lambda_a) : (\lambda_b - \lambda_m);$$
- интегральная интенсивность поглощения (S), численно равная площади под контуром спектра в пределах полосы поглощения (в отн. ед.) и некоторые другие.

Значения фотометрических параметров АС зависят от свойств сырья, а также от условий экстрагирования и могут использоваться на практике как количественные характеристики экстракта.

Колдаев Владимир Михайлович – д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой физики, математики и информатики ВГМУ; тел.: 8 (4232) 45-17-22; e-mail: physics@vgmu.ru.

Когда формы АС близки к колоколообразным кривым Гаусса, определение λ_a , λ_b и других связанных с ними фотометрических параметров основано на пересечении ветвей спектральной линии на уровне половины максимума (рис. 1) [6]. Однако зачастую спектры поглощения жидких извлечений из лекарственных растений значительно отличаются от гауссовских кривых; тогда восходящую и нисходящую ветви спектральной линии на уровне половины максимума пересечь нельзя (рис. 2) и, соответственно, невозможно определить такие стандартные фотометрические параметры АС, как λ_a , λ_b , $\Delta\lambda$, ρ , S . В этом случае для определения фотометрических параметров спектра требуются иные методические подходы, разработка которых и явилась целью нашей работы.

Материал и методы. Обработку АС жидких извлечений из растений предлагается проводить в следующем порядке. Прежде всего, зарегистрированные

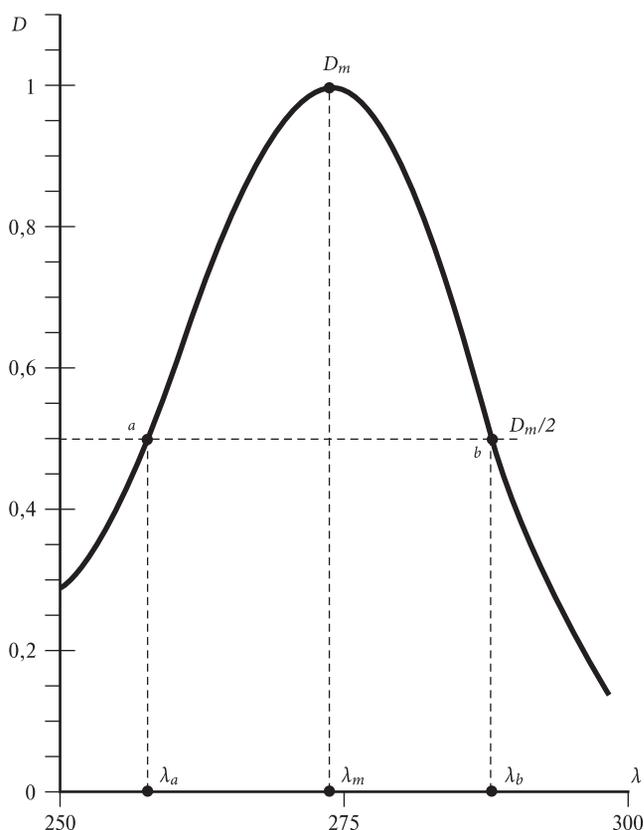


Рис. 1. Спектр поглощения 10% настойки корней бадана толстолистного (*Bergenia crassifolia*).

По горизонтали: λ – длина волны, нм; по вертикали: D – оптическая плотность, отн. ед.

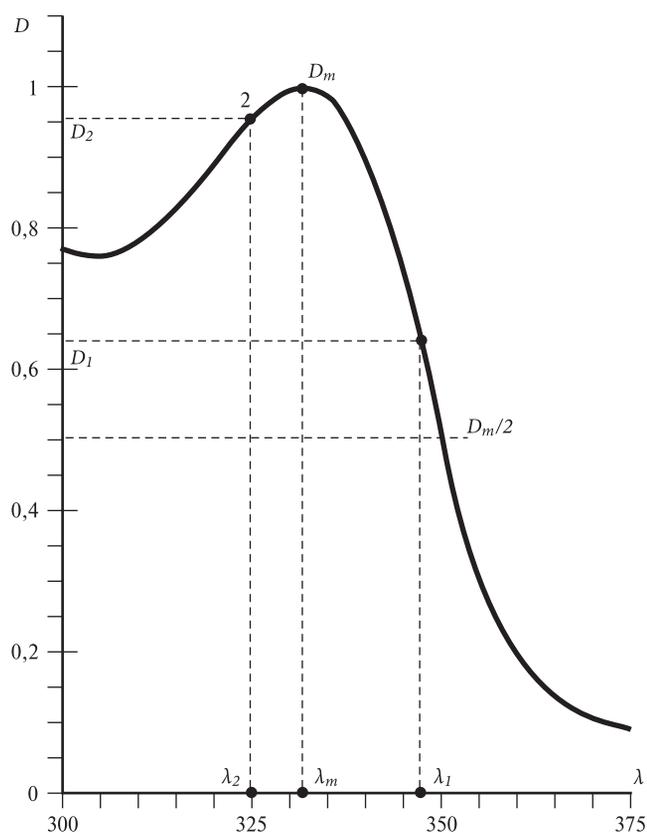


Рис. 2. Нормированный спектр поглощения экстракта корневищ солодки уральской (*Glycyrrhiza uralensis*).

По горизонтали: λ – длина волны, нм; по вертикали: D – оптическая плотность, отн. ед.

спектры для удобства их сравнения и сопоставления целесообразно нормировать по наибольшему из максимумов спектральной кривой. Для этого вычисляется коэффициент нормировки ($K_n = 1/D_m$) и спектр представляется в виде:

$$D_n(\lambda) = K_n D(\lambda),$$

где $D_{mn} = 1$ – нормированный максимум при соответствующей ему длине волны λ_m (рис. 2).

Важно отметить, что нормированный АС не зависит от концентрации экстрактивных веществ, которая на практике известна не всегда достаточно точно.

Для определения других параметров спектра необходимо выбрать соответствующие опорные точки, характерные для спектральной кривой (точки на уровне половины максимума не годятся, как указано выше). Наиболее подходящими, на наш взгляд, являются точки перегиба спектральной линии справа и слева от максимума (точки 1 и 2 на рис. 2). Координаты правой (λ_1 ; D_1) и левой (λ_2 ; D_2) от максимума точек перегиба определяются методами математического анализа, а затем вычисляются следующие фотометрические параметры:

1) наклон или крутизна правой (df_1) и левой (df_2) ветвей спектральной линии ($\delta\lambda$ – шаг спектрометрии):

$$df_1 = \frac{D(\lambda_1 - \delta\lambda) - D(\lambda_1 + \delta\lambda)}{2\delta\lambda}, \quad df_2 = \frac{D(\lambda_2 - \delta\lambda) - D(\lambda_2 + \delta\lambda)}{2\delta\lambda};$$

2) ширина ($\Delta\lambda$) полосы поглощения:

$$\Delta\lambda = \lambda_1 - \lambda_2;$$

3) коэффициент горизонтальной асимметрии (KGA), характеризующий сдвиг максимума поглощения в сторону больших или меньших длин волн:

$$KGA = \frac{2\lambda_m - (\lambda_1 + \lambda_2)}{\lambda_1 - \lambda_2};$$

4) коэффициент вертикальной асимметрии (KBA), показывающий соотношение ординат точек перегиба:

$$KBA = \frac{D_2 - D_1}{D_m};$$

5) интегральная интенсивность поглощения (S), численно равная площади, ограниченной спектральной линией в пределах полосы поглощения.

Кроме того, вычисляется удельное поглощение ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$), которое является фармакопейным показателем поглощения для растворов лекарственных веществ [2].

Безусловно, предлагаемый способ определения фотометрических параметров требует кропотливой вычислительной работы. Но, учитывая, что программное обеспечение современных цифровых спектрофотометров [8] совместимо с компьютерными операционными системами, в частности с Windows, вычисления можно автоматизировать. Для этого нами разработана специальная прикладная программа, в которой использованы стандартные алгоритмы численного дифференцирования и интегрирования для нахождения максимумов, точек перегиба, крутизны и площади S , а также операторы вычисления коэффициентов горизонтальной и вертикальной асимметрии и ширины полосы поглощения. Полученные на спектрофотометре данные достаточно транслировать в электронную таблицу и, запустив программу, получить значения всех предлагаемых фотометрических параметров менее чем за 1 секунду.

Результаты исследования и обсуждение полученных данных. Для апробации предлагаемой методики обработки АС готовили стандартные настои и настойки из растений согласно фармакопейным прописям [2], регистрацию спектров проводили на цифровом спектрофотометре UV2051PC (Shimadzu, Япония). Различие между соответствующими фотометрическими параметрами для разных АС считали значимым, когда оно составляло не менее 5%.

Абсорбционные спектры настоев и настоек из разных частей растений различных семейств мало отличались по стандартному параметру λ_m , но по предлагаемым параметрам отмечалось заметное различие. Так, настои и настойки почек березы маньчжурской по горизонтальной и вертикальной асимметрии отличались на 21–23%, а по интегральной интенсивности поглощения S – на 8,6%.

Примерно такие же результаты получены и для аналогичных извлечений из веток. Фотометрические параметры абсорбционного спектра настойки

Таблица
Фотометрические параметры спектров поглощения извлечений из разных частей лекарственных растений различных семейств (обозначения в тексте)

Семейство	Вид	Сырье, форма	D_m	K_n	$E_{1,cm}^{1\%}$	λ_m	Точка перегиба						$\Delta\lambda$	КГА	КВА	S
							правая			левая						
							D_1	λ_1	df_1	D_2	λ_2	df_2				
Березовые (<i>Betulaceae</i>)	Береза маньчжурская (<i>Betula mandshurica</i>)	Почки, настой	1,022	0,978	10,43	268	0,788	290	-0,0181	0,995	264	0,0031	26	-0,692	0,207	24,27
		Почки, настойка	1,319	0,758	26,91	266	0,808	288	-0,0173	0,976	260	0,0052	28	-0,571	0,168	26,36
		Ветки, настой	1,051	0,951	1,05	276	0,719	286	-0,0554	0,871	268	0,0232	18	-0,111	0,151	16,51
Бобовые (<i>Fabaceae</i>)	Донник лекарственный (<i>Melilotus officinalis</i>)	Ветки, настойка	1,787	0,559	3,57	276	0,753	286	-0,0512	0,920	270	0,0192	16	-0,250	0,168	14,85
		Листья, настойка	2,412	0,414	25,09	268	0,948	272	-0,0191	0,955	262	0,0141	10	0,200	0,006	9,82
Зонтичные (<i>Ariaceae</i>)	Укроп пахучий (<i>Anethum graveolens</i>)	Листья, настой	0,958	1,044	9,77	264	0,871	272	-0,0291	0,868	250	0,0141	22	0,273	-0,002	20,93
		Семена, настой	0,598	1,672	1,31	236	0,831	250	-0,0254	0,996	234	0,0024	16	-0,750	0,165	15,14
		Семена, настойка	2,327	0,429	14,42	238	0,624	252	-0,0435	0,813	228	0,0287	24	-0,167	0,189	21,23
Лютиковые (<i>Ranunculaceae</i>)	Адонис амурский (<i>Adonis amurensis</i>)	Листья, настойка	0,670	1,492	6,97	324	0,595	360	-0,0208	0,912	308	0,0108	52	-0,384	0,317	46,29
		Листья, настой	0,434	2,302	4,43	320	0,664	352	-0,0223	0,902	308	0,0133	44	-0,454	0,238	39,74
		Семена, настой	0,808	1,236	1,17	274	0,652	286	-0,0511	0,978	270	0,0086	16	-0,500	0,325	14,19
	Калужница лесная (<i>Caitha silversiris</i>)	Семена, настойка	1,725	0,579	6,90	276	0,675	286	-0,0706	0,858	270	0,0327	16	-0,250	0,183	14,51

и настоя из листьев донника лекарственного различались по крутизне в правой точке перегиба и КГА на 10–52%, а по ширине полосы поглощения, КВА и S – в 2–3 раза. Для абсорбционного спектра настоя и настойки семян укропа пахучего различие по крутизне в правой и левой точках перегиба, ширине полосы поглощения, КВА и S составляло от 14 до 71%, а по КГА – в 4,5 раза. Параметры КГА и КВА спектров поглощения извлечений из листьев адониса амурского и семян калужницы даурской отличались на 18–77% (табл.).

Таким образом, использование предлагаемых фотометрических параметров (кроме стандартных D_m и λ_m) позволяет установить достоверное различие спектральных характеристик экстрактов в зависимости от способа их приготовления, что расширяет информационные возможности абсорбционной спектроскопии в видимой и ультрафиолетовой областях.

Совокупность предлагаемых параметров в целом составляет спектрофотометрический паспорт жидких извлечений из лекарственных растений, который можно использовать как сравнительно простой тест контроля лекарственных средств из растительного сырья в процессе их производства.

Литература

1. Беликов В.Г. Анализ лекарственных веществ фотометрическими методами // Российский химический журнал. 2002. № 4. С. 52–56.
2. Государственная фармакопея СССР. Общие методы анализа. Вып. 1. М.: Медицина, 1987. 334 с.
3. Международная фармакопея. Т. 1. Женева: ВОЗ, 1981. 386 с.
4. Овчинников М.М., Подгорный Г.Н., Балаховский И.С. Количественный спектрофотометрический анализ в ультрафиолетовой, видимой и ближней инфракрасной областях // Клиническая лабораторная диагностика. 2002. № 2. С. 6–11.
5. Плиев Т.Н. Молекулярная спектроскопия. Т. 1. Владикавказ: Иростон, 2001. С. 59–72.
6. Пиняжко Р.М., Каленюк Т.Г. Методы УФ-спектрофотометрии в фармацевтическом анализе. Киев: Здоров'я, 1976. 158 с.
7. Спектрофотометры УФВИДбЛИК: UV-2501PC. URL: <http://www.loim.vrn.ru> (дата обращения 12.01.2009).

Поступила в редакцию 14.01.2009.

PHOTOMETRICAL PARAMETERS OF ABSORPTION SPECTRA OF PLANT-DERIVED EXTRACTS

V.M. Koldaev, V.V. Vaschenko, G.N. Bezdetko
Vladivostok State Medical University (2 Ostryakova Av.
Vladivostok 690950 Russia), Gornotayozhnoye Station of FEB
RAS (26 Solnechnaya St. Gornotayozhnoye Settlement Ussuriisk
District 692533 Primorskiy Krai, Russia)

Summary – The authors describe their own methods of identifying additional photometrical parameters of absorption spectra of plant-derived extracts. The set of these parameters can serve as quantitative indicator of extract and be used for production purposes to supervise manufacture of plant-derived medicines.

Key words: absorption spectra, extracts, medicinal plants.