

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ**БИОРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ****СТАНДАРТИЗАЦИЯ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ
ACONITUM ZERAVSCHANICUM В КАЧЕСТВЕ АЛКАЛОИДНОСНОГО СЫРЬЯ****Валиев Нейматжон Валижон ўгли**

*мл. науч. сотр. экспериментально-технологической лаборатории Института химии растительных веществ
Академии наук Республики Узбекистан,
Республика Узбекистан, г. Ташкент
E-mail: olov_ziyo@mail.ru*

Ботиров Рузали Анварович

*мл. науч. сотр. экспериментально-технологической лаборатории Института химии растительных веществ
Академии наук Республики Узбекистан,
Республика Узбекистан, г. Ташкент
E-mail: botiroovr@mail.ru*

Жураев Обиджон Тухлиевич

*мл. науч. сотр. экспериментально-технологической лаборатории Института химии растительных веществ
Академии наук Республики Узбекистан,
Республика Узбекистан, г. Ташкент*

Махмудова Бибиражаб Шарафовна

*мл. науч. сотр. экспериментально-технологической лаборатории Института химии растительных веществ
Академии наук Республики Узбекистан,
Республика Узбекистан, г. Ташкент*

Салимов Баходир Тахирович

*д-р хим. наук, вед. науч. сотр. лаборатории химии алкалоидов Института химии растительных веществ
Академии наук Республики Узбекистан,
Республика Узбекистан, г. Ташкент*

Садиков Алимджан Заирович

*д-р техн. наук, зав. экспериментально-технологической лабораторией Института химии растительных веществ
Академии наук Республики Узбекистан,
Республика Узбекистан, г. Ташкент*

Сагдуллаев Шамансур Шахсаидович

*д-р техн. наук, проф., завед. отделом технологии Института химии растительных веществ
Академии наук Республики Узбекистан,
Республика Узбекистан, г. Ташкент*

**STANDARDIZATION OF THE AERIAL PART OF ACONITUM ZERAVSCHANICUM
AS AN ALKALOID RAW MATERIAL*****Nematjon Valiev***

*junior researcher of the Experimental-technological laboratory of the Institute of chemistry of plant substances
Academy of sciences of the Republic of Uzbekistan,
Republic of Uzbekistan, Tashkent*

Ruzali Botirov

junior researcher of the Experimental-technological laboratory of the Institute of chemistry of plant substances
Academy of sciences of the Republic of Uzbekistan,
Republic of Uzbekistan, Tashkent

Obidjon Juraev

junior researcher of the Experimental-technological laboratory of the Institute of chemistry of plant substances
Academy of sciences of the Republic of Uzbekistan,
Republic of Uzbekistan, Tashkent

Bibirajab Makhmudova

junior researcher of the Experimental-technological laboratory of the Institute of chemistry of plant substances
Academy of sciences of the Republic of Uzbekistan,
Republic of Uzbekistan, Tashkent

Bakhodir Salimov

doctor of chemical sciences, leading researcher of the Laboratory of alkaloid chemistry of the Institute of chemistry
of plant substances Academy of sciences of the Republic of Uzbekistan,
Republic of Uzbekistan, Tashkent

Alimdjan Sadikov

doctor of technical sciences, head of the Experimental-technological laboratory of the Institute of chemistry
of plant substances Academy of sciences of the Republic of Uzbekistan,
Republic of Uzbekistan, Tashkent

Shamansur Sagdullaev

doctor of technical sciences, professor, head of the Technological department of the Institute of chemistry
of plant substances Academy of sciences of the Republic of Uzbekistan,
Republic of Uzbekistan, Tashkent

АННОТАЦИЯ

Разработан препарат дигидроатизина гидрохлорид на основе алкалоида атизина, выделяемого из надземной части *Aconitum zeravschanicum* – борца зеравшанского. Препарат дигидроатизина гидрохлорид обладает высокой противоаритмической активностью. Разработаны методы качественного и количественного анализа сырья. Стандартизация сырья проведена по алкалоиду атизина – основного алкалоида для получения дигидроатизина гидрохлорида. При проведении качественной реакции хлороформного извлечения из сырья с раствором кислоты кремневольфрамовой дает желтовато-белый осадок, что характерно свидетельствует о наличии алкалоидов. Установлено, что содержание атизина в траве борца зеравшанского в пересчете на абсолютно сухое сырье должно быть не менее 0,2%.

ABSTRACT

The drug dihydroatisine hydrochloride on the basis of the alkaloid atisine, released from the aerial part of the plant *Aconitum zeravschanicum* – Zeravshan aconite. The drug dihydroatisine hydrochloride has a high antiarrhythmic activity. Methods for qualitative and quantitative analysis have been developed. Standardization of raw materials is carried out on the alkaloid of atisine, the main alkaloid for the production of dihydroatisine hydrochloride. When carrying out a qualitative reaction of chloroform extraction from the raw material with the silicotungstic acid solution gives a yellowish-white precipitate, which is characteristic of the presence of alkaloids. Found that the content of atisine in the grass in terms of absolutely dry raw materials should be at least 0.2%.

Ключевые слова: *Aconitum zeravschanicum*, растительное сырье, стандартизация, атизин, дигидроатизин, тонкослойная хроматография, спектрофотометрия.

Keywords: *Aconitum zeravschanicum*, plant material, standardization, atisine, dihydroatisine hydrochloride, antiarrhythmic preparation, spectrophotometer.

Введение.

Растение борец (или аконит) зеравшанский (*Aconitum zeravschanicum* Worosch., сем. *Ranunculaceae*) произрастает на каменистых альпийских лугах в высокогорной области, в арчевых рощах (2710-3070 м), вид является Памиро-Алайским эндемом. Многолетнее травянистое растение. Стебли высотой

20-100 см, прямые, простые, округлые. Листья в числе 4-10, на длинных (8-15 см) голых черешках; пластинка голая, в очертании круглая. Цветет в июле, плодоносит в августе [1]. Растение является алкалоидоносом, алкалоиды в котором относятся к классу дитерпеновых.

Из данного растения выделены алкалоиды тангутизин, зераконин, атизин-хлорид, изоатицин, гетизин, номинин, зеравшаницин, бензоилгетератицин, атидин, гетератицин, атизин-азометин и др. [4]. Содержание суммы алкалоидов в сырье колеблется от 1,6% до 3,0%, содержание алкалоида атизина (из которого получают дигидроатицин) – от 0,4% до 0,6% от массы воздушно-сухого сырья [3].

Проведенные сотрудниками (Джахангиров Ф.Н. и др.) отдела фармакологии и токсикологии Института химии растительных веществ Академии наук Республики Узбекистан исследования по изучению алкалоидов и их производных, выделенных из настоящего растения, показали, что все объекты исследований выявили противоаритмическую активность на разных уровнях. Наиболее высокая противоаритмическая активность проявлена дигидроатицином, который получен путем восстановления атизина [2].

Исходя из вышеизложенного, нами предлагается вести стандартизацию растительного сырья по целевому алкалоиду – атизину.

Целью настоящей работы является разработка методики качественного и количественного определения атизина в надземной части *Aconitum zeravschanicum*.

Полученные научные результаты и их обсуждение.

Для экспериментов использовали свежесобранные растения, произрастающие в Зеравшанской долине (Джизакская область, Республика Узбекистан). До появления бутонов собрали органы надземной части растения (стебли, черешки, листья и цветонос), порезали мелкими кусками по 5-10 см. Влажное сырье сушили на открытом воздухе, при этом избегая прямого попадания солнечных лучей.

Сырье для переработки представляет собой смесь кусочков стеблей, черешков и пластинок листьев травы. Кусочки стеблей и черешков листьев ребристые, опушенные, стебли полые от 3 до 10 см длины, 0,8 мм толщины. Кусочки листьев различной формы от 2 до 6 см, плотные. Цвет стеблей, черешков и листьев от светло-зеленого до темно-зеленовато-бурого. Имеет слабый запах.

В готовом сырье отсутствуют минеральные и органические примеси. Числовые показатели сырья изучали по общепринятым методикам (ГФ XI).

Выделение суммы алкалоидов для проведения качественных реакций. Аналитическую пробу измельченного сырья навеской в 10 г смачивали 5% раствором натрия карбоната, затем экстрагировали хлороформом в соотношении 1:100 при кипячении на водяной бане с обратным холодильником в течение 1 ч. За это время достигается полное извлечение суммы алкалоидов из сырья. Хлороформное извлечение суммы алкалоидов выпаривали досуха. Сухой остаток растворяли в 2 мл хлороформа. Полученный раствор использовали для проведения качественных реакций.

Качественные реакции. 1. Исходя из алкалоидного состава объекта, следует проводить реакцию на алкалоиды. Для этого к 1 мл хлороформного раствора суммы алкалоидов, полученного вышеизложенным

методом, прибавляли 2 мл 5% раствора кислоты серной, слегка встряхивали, прибавляли 2-3 капли раствора кислоты кремневольфрамовой – выпадал желтовато-белый осадок (алкалоиды).

2. На линию старта пластинки «Merck» F₂₅₄ (10×15 см) полосой длиной 2,5 см микропипеткой наносили 0,05 мл хлороформного раствора суммы алкалоидов. Рядом в качестве свидетеля наносили длиной 2,5 см 0,03 мл спиртового раствора алкалоида атизин-хлорида. Пластинку с нанесенными пробами высушивали на воздухе до удаления запаха растворителей в течение 10-15 мин. и помещали в ненасыщенную камеру с системой растворителей хлороформ-бензол-диэтиламин в соотношении 10:40:3 и хроматографировали восходящим способом.

Когда фронт растворителей доходил до конца пластинки, ее вынимали из камеры и высушивали на воздухе до удаления запаха растворителей в течение 20-30 мин. Пластинку рассматривали в УФ-свете (254-нм). На хроматограмме из суммы наблюдали проявление 10 пятен в виде полос, на уровне из точки свидетеля проявилось пятно атизина-хлорида.

Выделение суммы алкалоидов для проведения количественного определения. Аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 5 мм. Пробу точной навеской в 20 г измельченного сырья помещали в фарфоровую чашку, смачивали 20 мл 5% раствора натрия карбоната, перемешивали, оставляли стоять в течение 60 мин. Затем количественно переносили в бумажный патрон, который помещали в аппарат Сокслета, и исчерпывающе извлекали алкалоиды хлороформом на водяной бане в течение 5 часов (объем раствора 350 мл, 20 сливов) до отрицательной реакции с кислотой кремневольфрамовой. Хлороформное извлечение собирали в колбу вместимостью 500 мл, упаривали на водяной бане до объема около 25 мл, количественно переносили в делительную воронку вместимостью 200 мл, и алкалоиды последовательно извлекали 20, 15, 15, 10 мл 5% раствора кислоты серной до отрицательной реакции с кислотой кремневольфрамовой. Сернокислое извлечение подщелачивали 20% раствором натрия карбоната до pH 9-10, и алкалоиды извлекали последовательно 20, 15, 15 и 10 мл хлороформа до отрицательной реакции с кислотой кремневольфрамовой. К объединенному хлороформному извлечению прибавляли 5 г натрия сульфата безводного, встряхивали и фильтровали через бумажный фильтр, предварительно смоченный хлороформом, в колбу для отгонки. Фильтр промывали 4 раза хлороформом порциями по 5 мл и присоединяли их к основному извлечению. Хлороформ отгоняли на водяной бане досуха. Получали сухой остаток.

Количественное определение. Сухой остаток, полученный вышеизложенным методом, растворяли в 2 мл хлороформа. Пластинку «Силуфол УФ-254» (размером 20×20 см) делили на три равные полосы. Первую полосу оставляли в качестве контрольной; на стартовую линию второй полосы наносили в виде полосы длиной 4 см 0,1 мл испытуемого хлороформного раствора; на третью полосу – такой же длины

0,05 мл раствора стандартного образца атизина-хлорида.

Пластинку с нанесенными пробами подсушивали на воздухе в течение 15 мин. и помещали в камеру с системой растворителей хлороформ-бензол-диэтиламин (10:40:3,5). Когда фронт растворителей доходил до конца пластинки, ее вынимали из камеры, подсушивали на воздухе в течение 10 мин., затем в сушильном шкафу при температуре 100°C в течение 10 мин. Хроматографическую пластинку отмечали в УФ-свете (254 нм) зоны, содержащие атизина-хлорида в стандартном образце и в испытуемом хлороформном растворе ($R_f \approx 0.25$). Зоны сорбента с двух полос и такой же по площади участок с контрольной полосы количественно переносили в колбы вместимостью 100 мл, приливали 10 мл 95% спирта, встряхивали в течение 2,5 ч., фильтровали через стеклянный фильтр пор 16.

Оптическую плотность полученных элюатов измеряли на спектрофотометре при длине волны 220 нм, в кюветках с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения использовали элюат с зоны контрольной полосы.

Содержание атизина в абсолютно сухом сырье в процентах (x) вычисляли по формуле:

$$x = \frac{D \cdot m_0 \cdot 0,05 \cdot 2 \cdot 10 \cdot 0,906 \cdot 100 \cdot 100 \cdot C_0}{D_0 \cdot 2,5 \cdot 10 \cdot m \cdot 0,1 \cdot (100 - W) \cdot 100} = \frac{D \cdot m_0 \cdot 36,2 \cdot C_0}{D_0 \cdot m \cdot (100 - W)}$$

Где D – оптическая плотность элюата испытуемого раствора; D_0 – оптическая плотность элюата раствора стандартного образца атизина; m_0 – масса атизин-хлорида в граммах; m – масса сырья в граммах; W – влажность сырья в процентах; C_0 – содержание основного вещества в стандартном образце атизина в процентах; 0,906 – коэффициент пересчета, равный отношению молекулярных масс атизина основания и атизина хлорида:

$$\frac{343}{378,5} = 0,906$$

Содержание атизина (с сопутствующими алкалоидами) в траве борца зеравшанского в пересчете на абсолютно сухое сырье должно быть не менее 0,2%.

Примечание. Приготовление раствора стандартного образца атизина-хлорида. Около 0,025 г (точная навеска) стандартного образца атизина-хлорида, предварительно высушенного до постоянной массы, растворяли в 2,5 мл этилового спирта 96% в колбе вместимостью 25 мл. Раствор использовали свежеприготовленным.

При проведении качественной реакции хлороформного извлечения из сырья с раствором кислоты кремневольфрамовой выпадает желтовато-белый осадок – явный признак алкалоидов.

В тонкослойной хроматографии наблюдается совпадение R_f значений из зон сорбций испытуемого и стандартного образца.

Метрологические характеристики метода анализа по количественному определению атизина в сырье из 5 определений показывает, что ошибка единичного определения не превышает допустимого. Исходя из этого, разработанная методика по количественному определению суммы алкалоидов и количественному определению алкалоида атизина может быть использована для оценки качества изучаемого растительного сырья.

Для переработки с целью производства субстанции препарата дигидроатизина гидрохлорида рекомендуем использовать растительное сырье с содержанием атизина не менее 0,2% от воздушно-сухой массы сырья.

Методика количественного определения апробирована на 5 сериях надземной части борца зеравшанского при изучении стабильности сырья методом «естественного старения». Сырье хранилось в складских неотопляемых помещениях при температуре от 10 до 28°.

Изучение стабильности содержания атизина в сырье при хранении проводили в течение 3 лет и 6 месяцев. Снижение содержания атизина за этот период было незначительным и оставалось в пределах установленной нормы (табл. 1).

Таблица 1.

Результаты исследования стабильности качества травы борца зеравшанского при хранении

Сроки хранения	Содержание атизина в образцах сырья, %				
	Серия №1	Серия №2	Серия №3	Серия №4	Серия №5
Свежесобранное сырье	0,28	0,32	0,24	0,27	0,33
6 мес.	0,28	0,32	0,24	0,26	0,33
1 год	0,28	0,32	0,23	0,26	0,33
1 год 6 мес.	0,27	0,32	0,23	0,26	0,33
2 года	0,27	0,31	0,23	0,25	0,32
2 года 6 мес.	0,27	0,31	0,22	0,25	0,32
3 года	0,27	0,30	0,22	0,25	0,32
3 года 6 мес.	0,26	0,29	0,21	0,24	0,31

Также по числовым и другим показателям значительные отклонения от нормы не наблюдались. Срок годности рекомендуем установить 3 года.

Выводы.

Разработан метод качественного и количественного определения атизина в надземной части борца

зеравшанского. Изучены условия спектрофотометрического анализа. Рекомендуется использовать растительное сырье для переработки с содержанием атизина не менее 0,2% от воздушно-сухой массы сырья.

Собранное сырье можно хранить в течение 3 лет, т. к. за этот период снижение содержания атизина в нем незначительно.

Список литературы:

1. Валиев Н.В., Юсупова Д.М., Салимов Б.Т. Aconitum Zeravschanicum – сырье для производства препарата дигидроатизина гидрохлорида и анатомо-морфологическое строение его надземных органов // Фармацевтический журнал. – Ташкент, 2016. – № 3. – С. 24-27.
2. К фармакологии дитерпеноидного алкалоида дигидроатизина / Ф.Н. Джахангиров и др. // Актуальные проблемы химии природных соединений: Тез. докл. научн.-практ. конф. (18-19 марта 2009, Ташкент). – Ташкент, 2009. – С. 233.
3. Нигматуллаев А.М., Салимов Б.Т. Метод выделения и разделения индивидуальных алкалоидов из надземной части Aconitum zeravschanicum Steinb. // Растительные ресурсы. – Санкт-Петербург, 2000. – Т. 36. – Вып. 4. – С. 118-121.
4. Natural Compounds. Alkaloids. Plant Sources, Structure and Properties. Under correction Sh.S. Azimova, M.S. Yunusov. New York.: Springer Sciences + Business Media New York, 2013. 762 p.