

комерційного 0.2 М трис-гідрохлорид буферного розчину. Встановлено, що застосування буферного розчину ефективно нейтралізує рН реакційної суміші при проведенні випробування на бактеріальні ендотоксини лікарських засобів, що мають екстремальні для ЛАЛ-тесту значення рН. Розроблено методики корекції рН із використанням буферних розчинів, що передбачають розчинення ліофілізованого лізату у буфері або додавання останнього до лікарського препарату. Запропоновано застосування 0.2 М трис-гідрохлорид буферного розчину із рН 7.4 для усунення несприятливого впливу заважаючих ЛАЛ-реакції факторів, що обумовлені функціональними або хімічними властивостями досліджуваних речовин.

#### Summary

Merkulova Yu.V., Chaika L.A., Gomon O.N.

#### Use of buffer solutions in "Bacterial endotoxins" test

Data of experimental study of pH profile of reaction mixture on conditions of the use of commercial 0.2 M Tris HCl were given. It was established that the use of buffer solution efficiently neutralized pH of reaction mixture at the test for bacterial en-

dotoxins of drugs with extreme for LAL-test pH values. Methods of pH correction with the use of buffer solutions with the dissolution of frozen – dried lysate in buffer or its addition to drug were developed. The use of 0.2 M Tris HCl pH 7.4 for the elimination of adverse impact of interfering to LAL – reaction factors, which were provided by functional or chemical characteristics of analyzed substances, was proposed.

**Меркулова Юлія Вадимовна.** Ст. науч. сотр. (2003) лабораторії фармакопейного аналізу ГП УНФЦКЛС. Ст. науч. сотр. (2002) лабораторії общей фармакології ГП ГНЦЛС. К.б.н. (2002).

**Чайка Леонід Александрович.** Зав. лабораторією общей фармакології ГП ГНЦЛС (1990). К.мед.н. (1981).

**Гомон Ольга Николаевна.** Ст. науч. сотр. (1997) лабораторії фармакопейного аналізу ГП УНФЦКЛС. К.б.н. (1997).

УДК 582.9.49.22:581.8

Попова Н.В., Литвиненко В.И., Кичимасова Я.С.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции»

Национальный фармацевтический университет

## Морфолого-анатомическая стандартизация листа розмарина лекарственного

Проведено морфолого-анатомическое исследование листа розмарина лекарственного. Установлено, что отечественное лекарственное сырье этого вида соответствует требованиям Европейской Фармакопеи по макроскопическим и микроскопическим признакам.

Розмарин лекарственный *Rosmarinus officinalis* L. из сем. *Lamiaceae* — вечнозеленый ветвистый кустарник (или полукустарник), достигающий до 1 м и более в высоту, с беловато — голубыми цветками и узкими листьями. Розмарин в диком виде растет от побережья Средиземноморья до Гималаев. В культуре с давних времен в Англии, Германии, Франции, России, Украине, Скандинавских странах, Центральной и Южной Америке [2, 5, 8].

Розмарин можно отнести к наиболее известным культивируемым растениям, традиционно используемым в церемониях, связанных с рождением, свадьбами и похоронами [2, 5].

Издавна розмарин культивировали для получения эфирного масла, жидкости со специфическим запахом, которое входит в состав многих одеколонов, лосьонов для волос, косметических кремов. Лист розмарина используют как специю. В составе эфирного масла идентифицированы борнеол, цинеол, пинен, камфен и другие терпеноиды [5, 9].

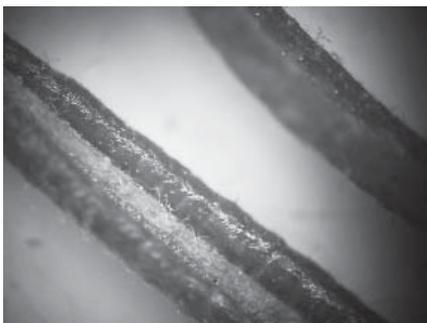
В медицине розмарин используют как антиспастическое средство при коликах, дис-

менореи, при респираторных инфекционных заболеваниях, как анальгезирующее, антиревматическое, желчегонное, отхаркивающее, антиэпилептическое средство. Рекомендуют как тонизирующее средство при физических и умственных нагрузках, а также как инсектицид и гербицид. Наружно препараты розмарина оказывают местнораздражающее действие, их используют при экземах, для лечения нарывов и ран [6, 8, 9].

Внимание исследователей привлекает не только эфирное масло, но и фенольные соединения. Одной из первых из этого полукустарника была выделена и установлена структура розмариновой кислоты. В настоящее время среди производных гидроксикоричной кислоты идентифицированы кофейная, хлорогеновая кислоты, а также дитерпены — розманол, карнозол, карносоловая кислота, розмари-дифенол, розмарихинон [7, 8].

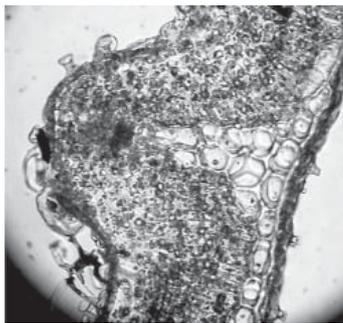
Благодаря высокому содержанию розмариновой кислоты, препараты розмарина привлекают внимание из-за высокой антиоксидантной, противовоспалительной, антиаллергической

Рисунок 1



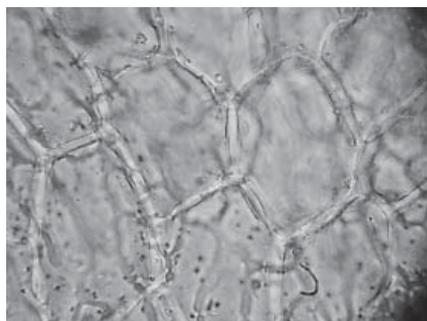
Лист розмарина (вид снизу)

Рисунок 2



Фрагмент поперечного среза листа

Рисунок 3



Крупные, неправильной формы клетки гиподермы с утолщенными, четковидными оболочками (вид сверху)

Рисунок 4



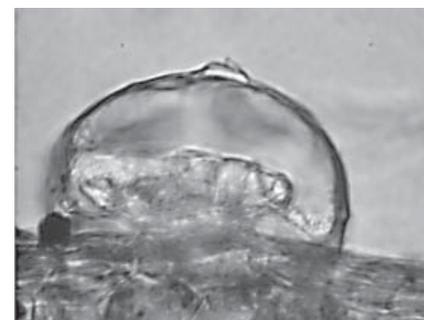
Ветвистый кроющий волосок

Рисунок 5



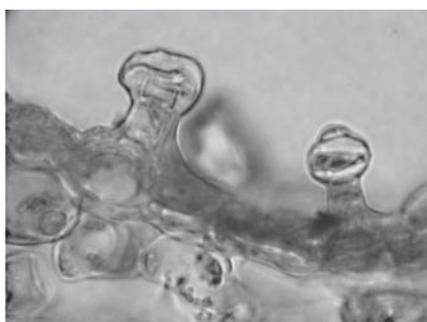
Восьмиклеточная эфиромасличная железка (вид сверху)

Рисунок 6



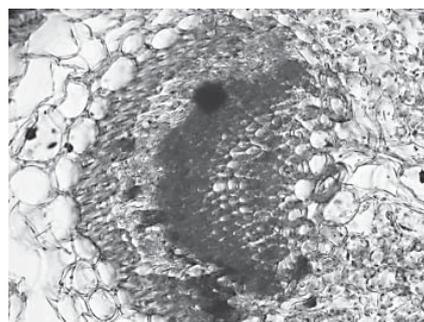
Эфиромасличная железка (вид сбоку)

Рисунок 7



Железистый волосок

Рисунок 8



Открытый коллатеральный проводящий пучок

и противораковой активности, как ингибитора перекисного окисления липидов [7].

Качество сырья розмарина регламентируют, в частности, Европейская Фармакопея, Британская Травяная Фармакопея [1, 4], отечественная АНД для листьев или травы розмарина отсутствует.

Известно, что в Европейской Фармакопее и в ГФ XI существуют разные методические подходы к анатомическому анализу растительного сырья. В монографиях ЕФ описаны анатомические диагностические признаки измельченного в порошок сырья, в то время как в отечественной АНД описываются микроскопические признаки на поперечных срезах и вид сырья с поверхности.

Учитывая тот факт, что качество листа розмарина в нашей стране не регламентировано и результаты предварительного анализа отличаются от зарубежных данных, актуальными являются исследования возможности гармонизации национальных требований по макро- и микроскопической идентификации листа розмарина с требованиями ЕФ [3, 4].

Целью данной работы является проведение сравнительного анализа макро- и микроскопических признаков листьев розмарина

лекарственного, описанных в разных источниках с результатами проведенных нами исследований.

#### Экспериментальная часть

Сырье (листья розмарина) заготавливали в Никитском ботаническом саду (Крым) в 2006-2008 гг.

Анализ требований различных нормативных документов по макроскопии листьев розмарина лекарственного приведен в Табл. 1.

Листья розмарина лекарственного линейные, цельнокрайние, с завернутыми вниз краями (Рис. 1), без черешков. Размеры листьев: длина (1-4) см и ширина (2-3) мм. Верхняя поверхность листа зеленая и морщинистая, нижняя зеленая или серовато-зеленая, опушенная (под лупой). Центральная жилка выступает с нижней стороны. Запах ароматный, слабый, вкус горьковатый.

Особенности микроскопического строения отечественных образцов листьев розмарина лекарственного изучали на сырье, измельченном в порошок, и на цельном сырье. Данные приведены в Табл. 2.

Микропрепараты листа розмарина лекарственного готовили из свежзамоченного, фик-

Таблица 1

#### Морфологические признаки листьев розмарина лекарственного

Признак	[4]	[1]	[11]	Соответствие отечественных образцов требованиям
форма	линейная, линейно – ланцетная, без черешка	листья линейные или линейно-ланцетные, изогнутые, без черешка, верхушка тупоконечная, основание — конусовидное	узколанцетная, сидячая; лист кожистый, блестящий	соответствует ЕФ
край	цельный с завернутыми вниз краями	край цельный, сильно завернут вниз	завернутый вниз	соответствует ЕФ
размеры	длина 1-4 см, ширина 2-4 мм	длина до 3.5 см, ширина 2-3 мм	длина до 3 см, ширина до 4 мм	длина 1-4 см, ширина 2-3 мм
цвет	верхняя поверхность темно-зеленая, нижняя серовато-зеленая	серовато-зеленый или редко коричневый		верхняя поверхность морщинистая, зеленая, нижняя — светло-зеленая
опушение, характер поверхности	верхняя поверхность гладкая и голая, нижняя густо опушенная с выступающей жилкой	верхняя поверхность сетчатая, нижняя - опушенная	молодые листья опушенные, старые — сверху гладкие, морщинистые, снизу войлочно опушенные, центральная жилка выступает снизу	верхняя поверхность морщинистая, нижняя опушенная, жилка сверху вдавлена, снизу выступает
вкус, запах	сильный ароматный запах	запах сильный, специфический, ароматный; вкус камфорный и горьковатый	запах пряный, камфорный; вкус пряный, горьковатый и ароматный, немного жгучий	запах слабый, ароматный, вкус горьковатый

Таблица 2

**Анатомические диагностические признаки листьев розмарина**

Признак	[4]	[1]	[11]	Соответствие отечественных образцов требованиям
цвет порошка	серовато-зеленый или желтовато-зеленый	порошок листа серовато-зеленый;	порошок листа серовато-зеленый	соответствует ЕФ
нижняя эпидерма	клетки с прямыми или слегка извилистыми оболочками	клетки нижней эпидермы с извилистыми оболочками	клетки многоугольные или с извилистыми оболочками	соответствует ЕФ
верхняя эпидерма	клетки с прямыми, слегка утолщенными и пористыми оболочками	клетки верхней эпидермы многоугольные со слегка утолщенными пористыми оболочками	клетки вытянутые, с утолщенными, пористыми оболочками, устьица отсутствуют	соответствует ЕФ
гиподерма	клетки крупные, неправильной формы с утолщенными и четковидными оболочками; гиподерма тянется вдоль листовой пластинки и прерывается серповидно-изогнутой палисадной паренхимой	расположена под верхней эпидермой, состоит из крупных, овальной формы клеток с утолщенными, четковидными оболочками	состоит из одного или нескольких слоев крупных, овальной формы клеток с утолщенными оболочками	соответствует ЕФ
устыичный аппарат	устыица многочисленные в нижней эпидерме, устьичный аппарат диацитного типа	устыичный аппарат диацитного типа, устьица встречаются в нижней эпидерме	большое количество устьиц в нижней эпидерме, устьичный аппарат диацитного типа	соответствует ЕФ
кроющие волоски	многочисленные многоклеточные ветвистые волоски в нижней эпидерме, в верхней эпидерме редко наблюдаются конические волоски	многочисленные многоклеточные ветвистые волоски в нижней эпидерме	многоклеточные, ветвистые, тонкостенные, до 300 мкм длиной	соответствует ЕФ
эфиромасличные железки и железистые волоски	многочисленные эфиромасличные железки с одноклеточной ножкой и головкой из 8 выделительных радиально расположенных клеток; железистые волоски с одноклеточной ножкой и одно- или двуклеточной сферической головкой	эфиромасличные железки и железистые волоски с одноклеточной ножкой и одно- или двуклеточной головкой расположены на обеих поверхностях листа	многочисленные эфиромасличные железки с одноклеточной ножкой и восьмиклеточной головкой и немногочисленные железистые волоски с одноклеточной ножкой и одноклеточной головкой	соответствует ЕФ

сированного и высушенного сырья общепринятыми методами [4, 10]. Изучение проводили под микроскопом МБР-6 при увеличении в 80, 200, и 400 раз.

Цвет порошка анализируемых образцов варьирует от светло-зеленого до серовато-зеленого, что соответствует требованиям ЕФ.

Лист дорсивентрального типа строения. Клетки верхней эпидермы вытянутые, прямоугольной или неправильной формы, со слегка утолщенными, иногда пористыми оболочками. Наблюдается складчатость кутикулы. Под верхней эпидермой хорошо видна гиподерма, состоящая из нескольких слоев крупных, не-

правильной формы или слегка округлых клеток с утолщенными оболочками (Рис. 3). На поверхностных препаратах заметно четковидное утолщение оболочек клеток гиподермы. Слой гиподермы примыкает к нескольким серповидно изогнутым слоям палисадной паренхимы (Рис. 2).

Клетки нижней эпидермы многоугольные, с прямыми или слегка извилистыми оболочками. В эпидерме наблюдается большое количество устьиц диацитного типа. Нижняя эпидерма имеет обильное опушение. Среди волосков и эфиромасличных железок следует выделить следующие:

- специфические кроющие многоклеточные тонкостенные ветвистые волоски со вздутыми сочленениями, и сужеными терминальными клетками (Рис. 4);
- характерные для сем. яснотковые секреторные эфиромасличные железки с короткой одноклеточной ножкой и головкой, состоящей из восьми радиально расположенных клеток (Рис. 5, 6);
- мелкие железистые волоски, состоящие из одноклеточной ножки и одноклеточной головки сферической формы (Рис. 7).

Центральная жилка однопучковая, выпуклая с нижней стороны и вогнутая с верхней стороны листа. Проводящая система представлена открытым коллатеральным пучком (Рис. 8).

#### Выводы

1. Отечественные образцы листьев розмарина лекарственного по макроскопической идентификации соответствуют требованиям ЕФ.
2. Отечественные образцы сырья соответствуют по микроскопической идентификации требованиям ЕФ. Микроскопическую идентификацию листьев розмарина, в соответствие с ЕФ, целесообразно проводить на измельченном в порошок сырье.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. British Herbal Pharmacopoeia. - British Herbal Medicine Association, 1996. - P. 162 – 163.
2. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. Гродзінський А.М. — Київ: УРЕ, 1991. - С. 988 – 989.
3. Проблемы введения монографий на лекарственное растительное сырье в Государственную Фармакопею Украины /

Гриздуб А.И., Георгиевский Г.В., Тихоненко Т.М., Георгиевский В.П. // Фармаком. - 2004. - № 4. - С. 3-17.

4. European Pharmacopoeia - 6 ed. - Strasbourg: European department of the Quality of Medicines, 2007. - P. 2839-2840.

5. Wichtl M., Bisset N.G. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. - Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 1994. — 566 p.

6. Anti-oxidant and pro-oxidant properties of active Rosemary constituents: carnosol and carnosolic acid / Aruoma O.I., Halliwell B., Aeschbach R., Loligers J. // Xenobiotica. — 1992. - Vol. 22. - P. 257 – 268.

7. Petersen M., Simmonds M. S.J. Rosmarinic acid // Phytochemistry. — 2003. - Vol. 62. - P. 121 – 125.

8. Попова Н.В., Литвиненко В.И. Лекарственные растения мировой флоры. — Харьков, 2008. - 510 с.

9. Зорин Е.Б., Сорокина А.А. Изучение эфирного масла розмарина лекарственного // Фармация. — 2008. - № 6. - С. 14 - 16.

10. Сербин А.Г. Атлас по анатомии растений / А.Г. Сербин, Л.С. Картмазова, В.П. Руденко, Т.Н. Гонтовая — Х.: Колорит, 2006. — 86 с.

11. Deutschen Arzneibuch. - Stuttgart: Detscher Apotheker Verlag, 1986.

#### Резюме

Попова Н.В., Литвиненко В.И., Кичимасова Я.С.

#### Морфолого-анатомічна стандартизація листя розмарину лікарського

Проведене морфолого-анатомічне дослідження листя розмарину лікарського. Встановлено, що вітчизняна лікарська сировина цього виду відповідає вимогам Європейської Фармакопеї за макроскопічними та мікроскопічними ознаками.

#### Summary

Popova N.V., Litvinenko V.I., Kichimasova Ya.S.

#### Morphological-anatomical standardization of rosemary leaf

Morphological-anatomical study of rosemary leaf was conducted. It was established that home herbal drug of this spice complied to requirements of the European Pharmacopoeia at microscopic and macroscopic characteristics.

**Попова Наталя Вячеславовна.** Окончила Харьковский фармацевтический институт (1981). К.фарм.н. (1986). Доцент Национального фармацевтического университета (1991).

**Литвиненко Василий Иванович** (р. 1932) Окончил Харьковский фармацевтический институт (1959). Д.х.н. (1990). Профессор (1991). Академик Инженерной академии Украины (2000). Зав.сектором химии и технологии фенольных препаратов ГП ГНЦАС.

**Кичимасова Яна Сергеевна** Окончила Украинскую фармацевтическую академию (2002). К.фарм.н. (2006). Ассистент Национального фармацевтического университета (2006).