

Введение В последние годы лекарственные препараты, содержащие биологически активные вещества растительного происхождения, имеют все больший спрос на мировом рынке. В отличие от синтетических медикаментов натуральные лекарственные препараты реже вызывают осложнения, особенно аллергические реакции. Натуральные лекарственные препараты, нормализуя функцию отдельных органов, положительно влияют на обмен веществ в организме [1]. К вторичным метаболитам, представляющим большой интерес для фармакологии, относятся салицилаты, фенольные соединения, содержащиеся в коре различных видов *Salix* [2]. Они обладают рядом лекарственных свойств, а в составе фармацевтических препаратов дают меньше побочных эффектов по сравнению с их синтетическими аналогами [3, 4, 5]. Установлено, что максимальное содержание салицилатов находится в коре деревьев *S. acutifolia* и варьирует от 4,0 до 11,3 % [6, 7]. Для анализа химической структуры и выявления путей синтеза вторичных растительных продуктов успешно применяются как химические, так и физико-химические аналитические методы. Определение содержания общего салицина в коре ивы осуществляется методом ВЭЖХ, преимуществом которого является высокая точность получаемых результатов, а недостатком - длительная пробоподготовка [1]. Физиологические, морфологические и селекционные исследования растительных объектов требуют разработки новых технических решений и методов неразрушающего анализа исходного биологического материала, а дальнейшее развитие производства - повышения эффективности технологических процессов, которое может быть достигнуто с помощью внедрения экспресс-методов высокой точности определения и контроля качества изготавливаемой продукции в течение всего производства от стадии получения сырья. Методы, основанные на явлении ядерного магнитного резонанса (ЯМР), находят практическое применение во многих отраслях, о чем свидетельствует растущее число аккредитованных методик [8, 9, 10]. Однако возможности ^1H ЯМР-релаксации до сих пор не были эффективно использованы для изучения природных фенольных гликозидов. В данной работе предпринята попытка выявить зависимость ЯМР-релаксационных характеристик коры ивы остролистной, а именно времени спин-решеточной релаксации T_1 , от содержания салицилатов в ней с целью разработки экспресс-метода определения содержания салицина методом ЯМР. Обсуждение результатов

Объектами исследования были 22 образца воздушно-сухой коры ивы остролистной, измельчённой до частиц размером менее 2 мм. Для определения содержания салицина навеску воздушно-сухой коры (1 г), экстрагировали 10 % раствором этилового спирта, а затем нагревали в колбе с обратным холодильником в течение 30 мин. Далее экстракт отфильтровывали через бумажный фильтр. Затем к готовому экстракту добавляли 0,5 мл 0,1н NaOH и выдерживали в течение 60 мин. при 60 °С. После этого добавляли 0,5 мл 1н HCl

для остановки гидролиза. Для хроматографирования использовали образец смеси, предварительно очищенной с помощью мембранного фильтра PTFE-13-2 (Supelco) с диаметром пор 0,2 мкм, согласно методики [1]. Хроматографический анализ проводили на хроматографе PerkinElmer Series 200 с бинарным насосом и спектрофотометрическим детектором. Измерение времени спин-решеточной релаксации T1 образцов коры проводилось с помощью ЯМР-анализатора низкого разрешения «Спин Трек» [11] с использованием импульсной последовательности 90°-τ-90°. Салицин является фенольным гликозидом и ключевым промежуточным продуктом в метаболическом обмене салицилатов. В состав молекулы салицина входят углеводная и ароматическая части, которые непосредственно влияют на время спин-решеточной релаксации (T1) увеличивая его. Было выдвинуто предположение, что значения времени T1 ивово́й коры и концентрация салицина в ней могут коррелировать. Тестовые эксперименты проводились на модельных образцах, в качестве которых были приготовлены водные растворы салицина с концентрацией от 3-12 %. Было обнаружено, что значение времени продольной релаксации зависит от содержания салицина в водном растворе и увеличивается с ростом концентрации (рис. 1). Рис. 1 - Зависимость времени релаксации T1 от концентрации водного раствора салицина

Влияние салицина на удлинение времени спин-решеточной релаксации было использовано, в качестве отправной точки для следующей части эксперимента. Были проведены измерения значений времени T1 у 22 образцов коры с естественным разбросом содержания салицина в пределах 6,5 - 12,2 %, которое предварительно измерялось при помощи метода ВЭЖХ. Данные, представленные на графике (рис. 2) отражают зависимость времени продольной релаксации от содержания салицина в коре ивы. Значения T1 варьируют от 148 до 212 мс - это значительно меньше, чем в модельных образцах, где они составляют порядка 4 с, что можно объяснить вкладом различных компонентов коры в увеличение скорости продольной релаксации. Тем не менее, как и в модельном эксперименте, тенденция роста T1 воздушно-сухой коры при увеличении концентрации салицилатов сохранилась. На рисунке 3 показан график, отражающий корреляцию значений содержания салицина, полученных методом ЯМР и ВЭЖХ. Значение среднеквадратичного отклонения данных ЯМР от ВЭЖХ составило примерно 1%, что сопоставимо с точностью стандартного метода. Учитывая, что время измерения T1 не превышает двух-трех минут, можно с уверенностью утверждать, что этот показатель может быть использован для создания методики экспресс определения содержания салицилатов в коре. Рис. 3 - Сравнение данных по содержанию салицилатов в коре методом ВЭЖХ и ЯМР-релаксации

Выводы В работе рассмотрена возможность использования времен ЯМР релаксации воздушно-сухой коры для определения общего содержания салицилатов. Полученные результаты дают теоретическую

основу для создания методики экспресс-оценки *in vitro* количества салицина в коре, при этом точность методики оказывается сопоставимой с точностью общепринятого метода ВЭЖХ, а время измерения сокращается с 1,5 часа до 2 минут, значительно снижается трудоемкость пробоподготовки. При этом появляются предпосылки создания методик *in vivo*, в случае использования переносных ЯМР устройств.