

# ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ПОЧЕК ТОПОЛЯ БАЛЬЗАМИЧЕСКОГО (*POPULUS BALSAMIFERA* L.), ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО НА ТЕРРИТОРИИ КАЗАХСТАНА И ЕГО СТАНДАРТИЗАЦИЯ

Жанымханова П.Ж.

АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия»,  
Караганда, Республика Казахстан

**Резюме.** В статье приведены результаты фармакогностического изучения сырья тополя бальзамического, произрастающего на территории Центрального Казахстана, и его стандартизации. Проведено морфолого-анатомическое изучение сырья почек тополя бальзамического, установлены диагностические признаки для данного вида сырья, разработаны методики качественного и количественного анализа, регламентированы нормы по товароведческому анализу сырья и условиям хранения.

**Ключевые слова:** фармакогностическое изучение, сырье, почки тополя бальзамического, стандартизация.

## STUDYING OF MEDICINAL PLANT RAW MATERIALS OF BUDS OF *POPULUS BALSAMIFERA* L., GROWING IN THE TERRITORY OF KAZAKHSTAN AND ITS STANDARDIZATION

Zhanymkhanova P. Zh.

International scientific-industrial holding «Phytochemistry»,  
Karaganda, Republic of Kazakhstan

**Resume.** The article contains results of pharmacognostic studying raw materials of *Populus balsamifera* L., growing in the territory of the Central Kazakhstan, and its standardization. The morphologo-anatomic studying of raw materials of buds of *Populus balsamifera* L. was executed, the diagnostic features for this species of raw materials were determined, the techniques of the qualitative and quantitative analysis were developed, the norms on the commodity analysis of raw materials and storage conditions were regulated.

**Keywords:** pharmacognostic studying, raw materials, buds of *Populus balsamifera* L., standardization.

Одной из важных проблем отечественной фармацевтической промышленности является формирование доступной сырьевой базы биологически активных веществ с целью получения эффективных лекарственных средств из растительного сырья.

Перспективными источниками многих биологически активных веществ, в том числе флавоноидов, являются растения семейства Ивовых (*Salicaceae*), в частности рода *Populus* L. (тополь). Тополь бальзамический (*Populus balsamifera* L.) – распространен в Северной Америке и Канаде, культивируется в России, на Кавказе и Средней Азии. Дерево высотой до 30 м, с раскидистой широко-яйцевидной кроной [1].

Химический состав почек тополя представляет интерес для получения нескольких групп фитопрепаратов: галеновых препаратов (флавоноиды в комплексе с высшими жирными кислотами), эфирных масел (сесквитерпеновые углеводороды и спирты). Продолжаются перспективные исследования по применению индивидуальных веществ, выделенных из

почек тополя (пиностробин, пиноцембрин, тектохризин, мирицетин), разработана новая технология комплексной переработки растительного лекарственного сырья [2,3].

**Целью** нашей работы является фармакогностическое изучение лекарственного сырья тополя бальзамического, произрастающего на территории Центрального Казахстана и проведение его стандартизации.

Бальзамический тополь в Казахстане растет повсеместно, но только в искусственных посадках. По биологическим параметрам он морозо- и засухоустойчив и может использоваться в посадках во всех районах, особенно в северных областях Республики Казахстан [4].

Для морфолого - анатомического исследования объектом явилось сырье почек тополя бальзамического, по внешнему виду имеющее окраску светло-коричневого, иногда зеленоватого цвета. Запах бальзамический приятный, вкус горький, слегка вяжущий, смолистый.

Для установления диагностических

признаков растительного сырья проведено изучение внешнего вида почек тополя, микроскопическое определение морфологических признаков и получение поперечного среза препарата. Результаты проведенных исследований представлены на рисунках 1, 2, 3.

Почки яйцевидные или удлинненно - конические, заостренные или притупленные, клейкие. Длина почек 1,4-2 см, в поперечнике 0,3-0,6 см. Чешуйки расположены черепицеобразно, плотно прижаты по краям, иногда несколько отстающие (рис. 1).

При рассмотрении верхней части чешуи почки с поверхности видны многочисленные простые волоски. Почечная паренхима чешуи рыхлая. Железка в виде плотно скомпонованных бугорков, слегка вытянутых по охвату почки, состоят из изодиаметрических клеток бурого и коричневого цвета. В основании и середине почечной паренхимы обильны проводящие пучки. При рассмотрении зачаточного листа с поверхности видны клетки эпидермиса, слегка вытянутые, с прямыми утолщенными стенками. Устьица на наружном эпидермисе аномоцитного типа, расположены в углублении в виде воронки. По краям встречаются простые одноклеточные волоски. В мезофилле в большом количестве

видны широкие межклетники, вместилища выделений и изодиаметрические железки.

Исходя из химического состава почек тополя бальзамического, для установления подлинности изучаемого объекта проведены качественные реакции на наличие в нем флавоноидов.

Для этого 4,0 г измельченного сырья кипятили в течение 5 минут с 20 мл 96 % этилового спирта *P* и фильтровали через бумажный фильтр.

К 5 мл фильтрата прибавляли 0,5 мл кислоты хлороводородной *P* и 0,05 г порошка магния *P*; через 5 мин проявилось красное окрашивание подтверждающее наличие флавоноидов.

Для идентификации метоксилированного флавоноида пиностробина в сырье использовали метод ТСХ на пластинках «Сорбфил ПТСХ-УФ». Нами установлено наличие флавоноида пиностробина в системе растворителей петролейный эфир – этилацетат в соотношении (4:2), при этом определено  $R_f$  пиностробина, этот показатель равен 0,72.

Для выявления содержания эфирного масла и фармакологически активного вещества пиностробина в почках тополя бальзамического нами разработана методика количественного



Рис. 1. Внешний вид почек тополя бальзамического  
1 – наружные чешуйки; 2 – внутренние чешуйки; 3 – смола

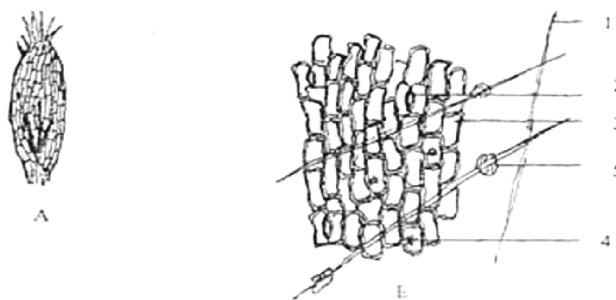
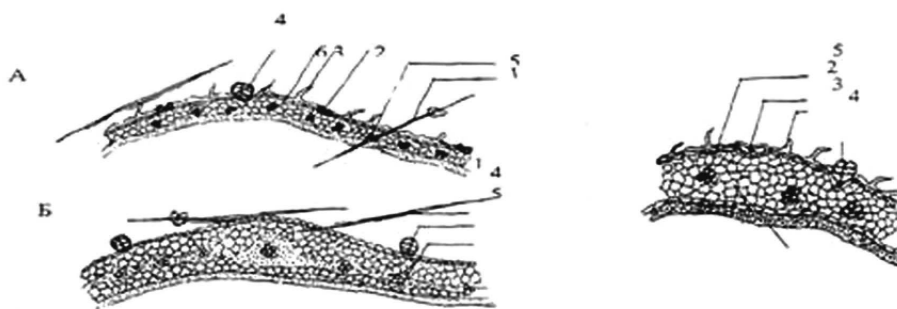


Рис. 2. Поверхностный препарат чешуи тополя  
А- внешний вид чешуи тополя; Б- участок верхней части наружной стороны чешуи тополя



**Рис. 3. Поперечный срез чешуек почек тополя**  
 А - наружная чешуйка; Б - внутренняя чешуйка; В – увеличенный участок наружной чешуйки; 10 - волоски; 2 - устьица; 3 – выросты эпидермиса; 4 - железки; 5 – проводящие пучки; 6 – паренхима

определения методом ВЭЖХ с использованием внешнего стандартного образца пиностробина.

Анализ проводился на хроматографе марки Agilent с УФ-детектором, в ходе исследования получили не менее 5 хроматограмм.

**Методика определения:** 1 г (точная навеска) измельченного сырья и 30 мл 96% этанола Р помещали в круглодонную колбу и нагревали на водяной бане в течении 30 мин, охлаждали и фильтровали. Экстракцию повторяли еще 2 раза. Извлечения объединяли, отгоняли на ротационном испарителе. Остаток количественно перенесли раствором подвижной фазы в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивали.

5 мл полученного раствора перенесли в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем раствора подвижной фазой до метки. Фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

По 20 мкл полученного фильтрата и раствора достоверного образца пиностробина попеременно хроматографировали на приборе ВЭЖХ в следующих условиях:

- аналитическая колонка, заполненная сорбентом Zorbax SB-C<sub>18</sub>, 4,6x150 мм с размером частиц 5 мкм;

- подвижная фаза: ацетонитрил Р - вода очищенная Р - кислота уксусная ледяная Р 50:49:1;

- скорость подвижной фазы - 1 мл/мин;
- детектирование при длине волны 289 нм;
- температура колонки - 20±5°C;
- объем вводимой пробы – 20 мкл.

Вычисления проводили по формуле:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{S_0 \cdot m \cdot 25 \cdot 5 \cdot (100 - W)}$$

где:  $S_1$  – среднее значение площадей пиков пиностробина, вычисленное из хроматограмм испытуемого раствора;

$S_0$  – среднее значение площадей пиков пиностробина, вычисленное из хроматограмм раствора сравнения;

$m_0$  – масса навески СО ГФ РК пиностробина в граммах;

$m$  – масса навески сырья в граммах;

$W$  – потеря в массе при высушивании в процентах.

Содержание флавоноидов в пересчете на пиностробин в абсолютно сухом сырье должно быть не менее 1.0 %.

**Приготовление раствора рабочего стандартного образца пиностробина.** 2,0 мг (точная навеска) пиностробина помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 10 мл подвижной фазы, перемешивали до полного растворения, доводили объем раствора до метки и перемешивали, фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Для подтверждения правильности методики ВЭЖХ провели проверку пригодности хроматографической системы. Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- эффективность аналитической колонки, рассчитанная по пику стандартного образца пиностробина на хроматограмме стандартного образца пиностробина, должна составлять не менее 3500 теоретических тарелок;



▪ -относительное стандартное отклонение, рассчитанное для площади пика стандартного образца пиностробина на хроматограмме стандартного образца пиностробина при 5 повторных инъекциях, должно быть не более 2 %;

▪ коэффициент асимметрии пика, рассчитанный для пика стандартного образца пиностробина на хроматограмме стандартного образца пиностробина должно быть не более 2.

Количественное определение содержания эфирного масла определяли методом газожидкостной хроматографией (ГЖХ) марки Agilent 1100, для этого анализа использовали 20 г крупноизмельченного (без просеивания) сырья. Время перегонки масла составило 3 ч. (ГФ РК I, т. 1, 2.8.12, метод 2).

На исходное сырье почки тополя бальзамического разработали спецификацию качества по следующим показателям: потеря в массе при высушивании, определение общей золы, золы нерастворимой в 10 % кислоте хлороводородной, микробиологическая чистота, установление радионуклидов, пестицидов, тяжелых металлов.

*Потеря в массе при высушивании.* Не более 10 %. (ГФ РК I, т. 1, 2.2.32).

1.000 г измельченного сырья сушат при температуре 105<sup>0</sup>С в течение 2 ч.

*Общая зола.* Не более 4 %. (ГФ РК I, т. 1, 2.4.16)

*Зола, нерастворимая в 10 % кислоте хлороводородной.*

Не более 0.5 % . (ГФ РК I, т. 1, 2.8.1).

*Микробиологическая чистота.* Испытание проводят в соответствии с требованиями ГФ РК I, т. 1, 2.6.12 и ГФ РК I, т. 2, 2.6.13.

Сырье должно соответствовать требованиям ГФ РК I, т. 1, 5.1.4, категория 4 В.

Общее число жизнеспособных аэробных микроорганизмов (2.6.12) не более 10<sup>5</sup> бактерий и не более 10<sup>4</sup> грибов в 1 грамме.

Не более 10<sup>3</sup> энтеробактерий и некоторых других грамотрицательных бактерий в 1 грамме.

В 1 г сырья не допускается наличие *Escherichia coli* и *Salmonella*.

*Радионуклиды.* Лекарственное растительное сырье должно выдерживать требования, установленные компетентным уполномоченным органом. (ГФ РК I, т. 1, с 566).

*Пестициды.* Лекарственное растительное сырье должно выдерживать требования,

установленные компетентным уполномоченным органом (ГФ РК I, т. 1, с 566).

*Тяжелые металлы.* Лекарственное растительное сырье должно выдерживать требования, установленные компетентным уполномоченным органом (ГФ РК I, т. 1, с 566).

Цельное сырье почки тополя бальзамического упаковывали в мешки бумажные многослойные по ГОСТ 2226-88 массой 30 кг, наклеивали этикетку из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86 или писчей по ГОСТ 18510-87 и передали на хранение для изучения фактора стабильности. В первый год хранения по истечении 3, 6, 9 и 12 месяцев проводили анализ сырья на содержание биологически активных веществ, в последующие два года полный химический анализ проводили через каждые 6 месяцев.

Таким образом, нами в результате экспериментальных исследований сырья почек тополя бальзамического проведено морфолого-анатомическое изучение, установлены диагностические признаки для данного вида сырья, разработаны методики качественного и количественного анализа, регламентированы нормы по товароведческому анализу сырья и условиям хранения. Рекомендовано хранить растительное сырье в защищенном от света месте при температуре не выше 30 °С, срок годности сырья по результатам исследований стабильности биологически активных веществ соответствовал 3 годам хранения.

### **Литература:**

1. Соколов С.Я. Деревья и кустарники СССР. Дикорастущие, культивируемые и перспективные для интродукции. М. –Л.: Наука, Т.1-6. –С. 210-211.

2. Зверяченко Т.С. Исследование рационального технологического режима получения эфирного масла тополя // Фармацевтический Бюллетень. -2004. -№ 9. – С.14-15.

3. Кульмагамбетова Э.А. Флавоноиды *Artemisia*, *Populus*, *Salsola*, их химическая модификация и биологическая активность: дисс...канд. хим. наук: 02.00.10. Караганда, 2001. –С.72