

КОМПЛЕКСНЫЕ ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА ИВОВЫХ И ПРОПОЛИСА – ИСТОЧНИКОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

© 2011 В.Б. Браславский, В.А. Куркин, Н.В. Браславский, И.Ф. Шаталаев

Самарский государственный медицинский университет

Поступила в редакцию 07.09.2011

На основе систематизации литературных данных и результатов собственных исследований показана близость химического состава почек тополя и прополиса, фармакологической активности их препаратов. Проведено изучение химического состава фенольных соединений: флавоноидов и фенилпропаноидов почек тополя, коры ивы и прополиса. Обоснованы методологические подходы к стандартизации сырья и препаратов *Salix viminalis* L., *S. acutifolia* Willd., отдельных видов рода *Populus* L. семейства *Salicaceae*, а также прополиса. Разработаны унифицированные методики качественного и количественного анализа сырья и препаратов ивы, тополя и прополиса методами тонкослойной хроматографии, УФ-спектроскопии, высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием государственного стандартного образца пиностробина. Исследованы и определены внешние диагностические признаки коры ивы корзиночной и ивы остролистной, а также тополя почек.

Ключевые слова: *Salicaceae*, *Populus* L., *Salix viminalis* L., *S. acutifolia* Willd., прополис, флавоноиды, фенилпропаноиды, стандартизация

На современном этапе одним из факторов экологического неблагополучия человека на фоне стресса, хронической усталости и снижения иммунитета является постоянно существующая опасность развития целого ряда заболеваний и осложнений, обусловленных вирусной, бактериальной или грибковой инфекцией. В последние годы отмечается рост инфекционных, воспалительных заболеваний и иммунодефицитных состояний. Для профилактики и борьбы с ними ученые создали определённый арсенал синтетических лекарственных химиопрепаратов и дезинфицирующих средств, однако по-прежнему актуален поиск растительных препаратов, обладающих большей широтой терапевтического действия с минимальными побочными эффектами. Опыт научной, а также данные народной медицины свидетельствует о том, что перспективным источником получения препаратов вышеуказанного спектра действия являются растения семейства ивовых (*Salicaceae*) и продукт пчеловодства – прополис [1, 2, 4-8, 10, 11].

Браславский Валерий Борисович, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии

Куркин Владимир Александрович, доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. E-mail: vakur@samaramail.ru

Браславский Никита Валерьевич, аспирант

Шаталаев Иван Фёдорович, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой химии фармацевтического факультета

Почки тополя черного (*Populus nigra* L.) семейства ивовых разрешены к применению в медицинской практике в качестве антисептического средства [4]. Нами была разработана нормативная документация на это ценное лекарственное сырье (ФСП 42-0329168201), причем кроме тополя черного для расширения сырьевой базы в НД включены дополнительно 4 вида близких по составу и антимикробной активности: тополь бальзамический (*P. Balsa-mifera* L.), тополь душистый (*P. suaveolens* Fisch.), тополь лавролистный (*P. laurifolia* Ledeb.), тополь канадский (*P. deltoides* Marsh.). В качестве лекарственного средства нами предложена «Тополя настойка» (ФСП 42-0329174701), обладающая выраженной антимикробной активностью и низкой токсичностью [1-4]. При проведении исследований лекарственного сырья и препаратов тополя нами была доказана целесообразность определения ведущей группы биологически активных соединений: суммы флавоноидов и фенилпропаноидов в пересчёте на разработанный нами Государственный стандартный образец (ГСО) пиностробина (ФС 42-0073-01). В связи с этим разработаны методики количественного определения суммы флавоноидов и гидроксикоричных кислот в почках тополя и в прополисе с использованием прямой спектрофотометрии и ГСО пиностробина [1, 2].

Перспективным источником природных антимикробных лекарственных средств является также продукт пчеловодства – прополис (ВФС 42-1084-81), стандартизация прополиса осуществляется, но

без использования ГСО, а методики не отвечают параметрам валидации [2]. В медицинской практике широко используется лекарственное средство «Прополиса настойка» (ФС 42-3736-99) и др., обладающее выраженной регенерирующей и антибактериальной активностью. В препаратах прополиса, как и в почках тополя, антимикробную активность обуславливают флавоноиды и фенилпропаноиды [1-3, 5-11]. Однако в сырье прополиса (ВФС 42-1084-81) и настойке (ВФС 42-1936-89) ранее определяли не флавоноиды, а простые фенолы неспецифической реакцией с хлорным железом [2]. Качественный анализ настойки прополиса сегодня (ФС 42-3736-99) представлен уже более специфичной цианидиновой реакцией. В соответствии с ФС количественное определение в настойке прополиса проводится спектрофотометрически, где правильно выбрана аналитическая длина волны (290 нм), но без использования ГСО. Кроме того, в методиках анализа не используются современные хроматографические и спектральные методы анализа, такие как тонкослойная хроматография (ТСХ) и высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Успешное решение данного вопроса послужит основанием для расширения ассортимента эффективных отечественных лекарственных средств и на основе прополиса.

Наиболее перспективными источниками противовоспалительных и стимулирующих лекарственных средств, содержащих флавоноиды (прунин и др.), фенилпропаноиды (сирингин и др.) и простые фенолы (саликортин и др.) из рода *Salix* L. являются ива остролистная – *Salix acutifolia* Willd. и ива прутовидная (корзиночная) – *S. viminalis* L. [5, 8, 10]. Одним из основных компонентов коры ивы корзиночной является фенилпропаноид биомассы клеток родиолы розовой – триандрин, предложенный нами в качестве ГСО [6]. Наши исследования открывают также перспективы использования коры ивы остролистной как источника противовоспалительных и желчегонных препаратов, а также ГСО изосалипурпозидов [5].

Цель исследований: проведение комплексных фармакогностических исследований для обоснования целесообразности использования в медицинской практике сырьевых источников производства лекарственных средств растений семейства ивовых и прополиса для профилактики и лечения некоторых экологически обусловленных заболеваний.

Объекты и методы. Объектом исследования служили образцы коры ивы корзиночной, собранные весной 1989-2001 гг. в Иркутской, Ярославской, Костромской обл., и полученные из этих образцов экстракты. Объектом исследования также служили образцы 5 серий образцов воздушно-сухого сырья коры ивы остролистной, собранные в период активного сокодвижения

(весна 1988-2010 гг.) в Самарской, Московской, Пензенской, Рязанской областях. Материалом для настоящего исследования служили также терминальные и боковые (пазушные) почки тополя черного, заготовленные в Самарской области (п. Гаврилова Поляна), тополя лавролистного, тополя бальзамического, тополя дельтовидного (канадского), тополя душистого, заготовленные в Самарском ботаническом саду в 1990-2011 гг., а также образцы прополиса, заготовленные в Самарской, Ульяновской, Пензенской обл., Краснодарском крае в 2001-2010 гг.

Регистрацию электронных спектров растворов флавоноидов, а также водно-спиртовых извлечений из почек исследуемых видов тополя и прополиса и коры ивы осуществляли с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena). ВЭЖХ проводили на хроматографе «Милихром-5» в градиентном и изократических режимах, элюентная система ацетонитрил-вода в различных соотношениях, колонка с обращенной фазой (Диасорб 130-С16), УФ-спектрофотометрический детектор. В настоящем исследовании внешних признаков сырья мы использовали световой цифровой стереоскопический микроскоп Motic DM-39C-N9GO-A.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенного исследования сырья были выявлены следующие диагностические признаки. Кора ивы корзиночной имеет вид трубчатых или желобовидных кусков толщиной от 0,5-1 мм до 3 мм, различной длины (от 10 до 30 см). Наружная поверхность коры коричневатого-серого или темно-серого цвета, у молодых побегов более гладкая с заметной продольной морщинистостью, у более старых – с трещинами. На поверхности коры более светлые чечевички овальной формы вытянуты в горизонтальном направлении. Посередине чечевичек проходит вертикальная трещина. При лёгком соскабливании верхнего слоя пробки обнаруживаются её внутренние слои светло-коричневого и зеленоватого цвета. Внутренняя поверхность коры тонковолокнистая, почти гладкая от коричневатого-розового до светло-бурого цвета. Поперечный излом наружной части зернистый, внутренней – волокнистый, светло-бурого цвета. Листовые рубцы на поверхности коры расположены поочередно, форма их узкосерповидная. Листовой след один – в центре рубца. Вкус вяжущий, слегка горьковато-кисловатый. Запах у сухой коры почти отсутствует, при смачивании коры водой появляется слабый характерный древесный запах.

Цельное сырье коры ивы остролистной имеет вид трубчатых, желобовидных или плоских кусков толщиной 0,5-1 до 2 мм, различной длины (от 10 до 30 см). Наружная поверхность коры с бурой или серой пробкой обычно гладкая или с небольшими продольными (или поперечными) морщинками, иногда с трещинками, желто-

бурая или желто-серая. Кора ветвей и стволов имеет округлые или продолговатые чечевички, иногда на ней могут быть листовые лишайники (кустистые лишайники при заготовке должны удаляться). Внутренняя поверхность коры гладкая или ребристая лимонно-желтого цвета. Наружная поверхность коры коричневого цвета. Запах слабый характерный древесный. Вкус горький, специфический.

Благодаря тому, что почки изученных видов тополя достаточно однообразны по своему строению, описание внешних диагностических признаков почек тополя, как лекарственного сырья, представляется следующим образом. По внешнему виду терминальные (верхушечные) почки исследованных нами видов тополей имеют яйцевидно-удлиненную, почти коническую форму и заостренную верхушку. Чешуи располагаются по спирали, нижние мелкие округлые и жесткие, верхние – овальные, конически-заостренные. Края чешуи прилегают плотно, кончик (верхушка) нижних и средних чешуй слегка отогнут. Количество почечных чешуй, в среднем, составляет 9-12. Длина почек от 10 до 30 мм, в поперечнике от 5 до 11 мм. Боковые (пазушные) почки имеют коническую форму с округлым основанием. Верхушка слегка изогнута в направлении к стеблю. Длина почек от 10 до 30 мм, в поперечнике от 3 до 7 мм. Боковая почка имеет одну, сравнительно крупную, нижнюю чешую, при том, что весь почечный покров почки состоит, в среднем, из 5-7 чешуй. Запах почек – сладковатый, смолистый, усиливающийся при разламывании почки. Вкус характерный, жгуче-горький.

Изучение морфологических особенностей сырья ивы остролистной и ивы корзиночной и почек тополя позволило сформулировать разделы «Внешние признаки» для включения в ФС на соответствующие виды лекарственного растительного сырья.

Нами проводилось сравнительное исследование почек тополя и прополиса методами ТСХ и ВЭЖХ и разработка методик качественного анализа и количественного определения суммы БАС почек тополя и прополиса, а, кроме того – количественного ВЭЖХ-определения пиностробина в почках тополя с использованием ГСО пиностробина. Для проекта ФС «Тополя почки» предложена качественная реакция, заключающаяся в определении в анализируемом экстракте методом ТСХ двух диагностических флавоноидов почек тополя – пиностробина и пиноцембрина с использованием ГСО пиностробина. Для определения подлинности настойки тополя, как и для сырья данного растения, разработана аналогичная методика. Кроме этого нами предложено использовать характерный УФ-спектр раствора извлечения почек тополя, имеющий интенсивный максимум поглощения при длине волны около

290 нм (флаваноны) и «плечо» при длине волны около 326 нм (флаваноны и гидроксикоричные кислоты). Аналогичный подход предложен нами для определения подлинности прополиса и его препаратов.

Изучение спектров поглощения препаратов прополиса и тополя, а также доминирующих индивидуальных флавоноидов и фенилпропаноидов позволило сделать вывод о том, что характер кривой поглощения препаратов определяется в основном веществами флаваноновой природы. В связи с этим предложено проводить количественное определение суммы флавоноидов и фенилпропаноидов в почках тополя, прополисе и их препаратах методом прямой спектрофотометрии с использованием ГСО пиностробина. Во всех исследованных образцах почек тополя отмечено высокое содержание суммы флавоноидов и фенилпропаноидов (15,01-32,14%). Содержание суммы флавоноидов и фенилпропаноидов в образцах настойки тополя колебалось от 1,21% до 2,63%.

При помощи метода ВЭЖХ и на основании физико-химических особенностей веществ разработаны оптимальные условия разделения (обращенная фаза и ступенчатый градиент ацетонитрил-вода с добавлением 1% уксусной кислоты) и детального изучения компонентного состава почек тополя (на основании индивидуальных времен удерживания и спектральных отношений на 4 длинах волн к опорной длине волны 290 нм, а также методом добавок). Для количественного определения пиностробина в почках тополя нами была разработана методика обращенно-фазовой ВЭЖХ с использованием ГСО пиностробина методом внешнего стандарта. Результаты, полученные нами, свидетельствуют также о возможности и перспективности использования ВЭЖХ-анализа для стандартизации прополиса.

Обоснована целесообразность использования в медицинской практике препаратов на основе коры ивы прутковидной и ивы остролистной. В результате данных исследований разработаны проекты фармакопейных статей (ФС) на лекарственное сырье и ГСО для включения в Государственную фармакопею Российской Федерации XII издания.

Выводы:

1. Выявлены и определены внешние диагностические признаки лекарственного растительного сырья: ивы корзиночной кора, ивы остролистной кора, тополя почки для включения в нормативную документацию.

2. Научно обоснована целесообразность определения подлинности и качества тополя почек и прополиса по содержанию флавоноидов и фенилпропаноидов и необходимость использования в методиках анализа ГСО пиностробина (ТСХ, УФ-спектроскопия, ВЭЖХ).

3. Проведены комплексные фармакогносические исследования для обоснования целесообразности использования в медицинской практике сырьевых источников производства лекарственных средств растений семейства ивовых и прополиса для профилактики и лечения некоторых экологически обусловленных заболеваний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Браславский, В.Б.* Исследование химического состава некоторых видов тополя (*Populus L.*): Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук: (15.00.02.) / Самарский гос. мед. университет, НПО «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений». – Самара - М., 1994. 133 с.
2. *Браславский, В.Б.* Стандартизация сырья и препаратов тополя и прополиса / *В.Б. Браславский, В.А. Куркин* // Фармация. 2009. № 4. С. 53-56.
3. *Браславский, В.Б.* Антимикробная активность экстрактов и эфирных масел почек некоторых видов *Populus L.* / *В.Б. Браславский, В.А. Куркин, И.П. Жданов* // Раст. ресурсы. 1991. Т.27, вып. 2. С. 77-81.
4. Государственный реестр лекарственных средств. Т. I. – М. 2008. С. 408, 469.
5. *Запесочная, Г.Г.* Фенольные соединения коры *Salix acutifolia* / *Г.Г. Запесочная, В.А. Куркин, В.Б. Браславский, Н.В. Филатова* // Химия природ. соединений. 2003. № 4. С. 263-266.
6. *Куркин, В.А.* Фенилпропаноиды – перспективные биологически активные соединения. – Самара: СамГМУ, 1996. 80 с.
7. *Куркин, В.А.* Исследование экстрактов прополиса и почек тополя бальзамического методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / *В.А. Куркин, В.Б. Браславский, Г.Г. Запесочная* // Журнал физической химии. 1994. Т. 68, № 10. С. 1816-1818.
8. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; семейства *Raeoniaceae - Thymelaeaceae*. – Л.: Наука, 1986. 336 с.
9. *Сенцов, М.Ф.* Сравнительное исследование компонентного состава почек некоторых видов *Populus L.* методом ВЭЖХ / *М.Ф. Сенцов, В.Б. Браславский, В.А. Куркин* и др. // Растительные ресурсы. 1997. Т. 33, вып. 2. С. 51-56.
10. *Соколов, И.В.* Флавоноидные агликоны в прополисе и его источниках / *И.В. Соколов, И.В. Торгов* // Химия природ. соединений. 1990. № 4. С. 550-551.
11. *Bankova, V.S.* Isopentenyl cinnamates from Poplar buds and propolis / *V.S. Bankova, S.S. Popov, N.L. Marekov* // Phytochemistry. 1989. Vol. 28, No. 3. P. 871-873.

COMPLEX PHARMACOGNOSICAL RESEARCHES OF SALICACEAE PLANTS AND PROPOLIS – SOURCES OF MEDICAL PRODUCTS

© 2011 V.B. Braslavskiy, V.A. Kurkin, N.V. Braslavskiy, I.F. Shatalaev

Samara State Medical University

On the basis of ordering the literary data and results of own researches the affinity of a chemical compound of poplar buds and propolis, pharmacological activity of their preparations is shown. Studying the chemical compound of phenolic composition is spent: flavonoids and phenylpropanoids of poplar buds, willow bark and propolis. Methodological approaches to standardization of raw materials and preparations of *Salix viminalis* L are proved., *S. acutifolia* Willd., separate kinds of sort *Populus L.* Families *Salicaceae*, and also propolis. The unified techniques of qualitative and quantitative analysis of raw materials and preparations of willow, poplar and propolis by methods of thin-layer chromatography, Uv-spectroscopy, highly effective liquid chromatography with use of state standard sample pinostrobin are developed. External diagnostic signs of willow bark, and so poplar buds are investigated and defined.

Key words: *Salicaceae*, *Populus L.*, *Salix viminalis L.*, *S. acutifolia* Willd., *propolis*, *flavonoids*, *phenylpropanoids*, *standardization*

Valeriy Braslavskiy, Candidate of Pharmacy, Associate Professor at the Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy Vladimir Kurkin, Doctor of Pharmacy, Professor, Head of the Pharmacognosy with Botany and Phytotherapy Department. E-mail: vakur@samaramail.ru Nikita Braslavskiy, Post-graduate Student Ivan Shatalaev, Doctor of Biology, Professor, Head of the Chemistry Department at Pharmaceutical Faculty