

УДК 615.071

## ОПТИМИЗАЦИЯ СТАНДАРТИЗАЦИИ ЕЛИ ОБЫКНОВЕННОЙ ШИШЕК

<sup>1</sup>Гуляев Д.К., <sup>1</sup>Белоногова В.Д., <sup>1</sup>Коротков И.В.

*ГБОУ ВПО «Пермская Государственная фармацевтическая академия Министерства здравоохранения Российской Федерации», Пермь, Россия (614990, Россия, г. Пермь, ул. Полевая, д.2), [dkg2014@mail.ru](mailto:dkg2014@mail.ru)*

Проведено фитохимическое исследование и стандартизация лекарственного растительного сырья «Ели обыкновенной шишек», с целью установления показателей качества для данного вида сырья и разработки нормативного документа. Для определения содержания эфирного масла мы исследовали влияние различных вариантов соотношения воды, сырья и времени дистилляции на выход эфирного масла. Содержание экстрактивных веществ и дубильных веществ определяли на пяти различных образцах, по методике Государственной фармакопеи XII издания. Кроме того, были определены следующие показатели доброкачественности сырья: влажность, зола общая, шишки, у которых половина или более семян высыпались, другие части ели, органическая примесь, минеральная примесь. Таким образом, определены показатели качества, разработана Фармакопейная статья «Ели обыкновенной шишки», рекомендуемая для включения в Государственную Фармакопею Российской Федерации XII издания.

Ключевые слова: ель обыкновенная, шишки, эфирное масло, дубильные вещества, экстрактивные вещества.

## OPTIMIZATION OF STANDARDIZATION PICEA ABIETIS STROBILI

<sup>1</sup>Guliaev D.K., <sup>1</sup>Belonogova V.D., <sup>1</sup>Korotkov I.V.

*"Perm State Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of Russian Federation", Perm, Russia (614990, Perm, Russia, Street Field, 2), [dkg2014@mail.ru](mailto:dkg2014@mail.ru)*

A phytochemical research and standardization of medicinal plant «*Picea abietis strobili*», in order to establish quality indicators for this kind of raw material and development of normative document. To determine the content of essential oil, we investigated the effect of different ratios of water options, raw material and time of distillation to yield an essential oil. Determined on five samples of content extractives and tannins, by methods State Pharmacopeia XII edition. In addition, were investigated following indicators of high quality of raw materials: wetness, total ash, cones, in which half or more seeds spilled, other parts of spruce, organic impurity, mineral impurity. Thus, the defined quality indicators, developed Pharmacopeial article «*Picea abietis strobili*», recommended for inclusion in the State Pharmacopeia Russian Federation XII edition.

Keywords: Norway spruce, cones, essential oil, tannins, extractives.

В последние годы, наряду с поиском новых лекарственных растений, проводится углубленное изучение фармакопейных растений, издавна применяемых в медицине. Эти исследования направлены, прежде всего, на разработку объективных методов стандартизации [1].

Оценку качества сырья ели обыкновенной, согласно статьи 81 ГФ XI издания проводят по содержанию эфирного масла. Данный показатель даёт не полную оценку качества сырья, с учетом все групп биологически активных веществ, путей использования сырья, поэтому, необходима разработка более специфичного метода стандартизации.

Мы предлагаем проводить оценку качества сырья ели обыкновенной шишек, не только по содержанию эфирного масла, но и по содержанию экстрактивных и дубильных веществ, так как данное сырье используется в экстенпоральной рецептуре для получения отваров и в составе сборов.

**Целью исследования** установление показателей качества для сырья ели обыкновенной шишек и включение разработанных показателей в фармакопейную статью «Ели обыкновенной шишки» ГФ XII издания.

### **Материалы и методы**

Объектами исследования служили 5 образцов лекарственного растительного сырья ели обыкновенной шишек. Образцы были собраны в Ильинском, Красновишерском и Ординском районах Пермского края. Сбор образцов сырья проводился в июле 2013 года. Определение содержания эфирного масла и дубильных веществ, золы общей, влажности, проводили по методике Государственной Фармакопеи СССР XI [2], содержание экстрактивных веществ по методике разработанной Рудаковой И.П., Самылиной И.А. с соавторами, включенной в ОФС для ГФ XII [3].

Для идентификации флавоноидов использовали метод круговой хроматографии на бумаге. Около 0.5 г измельченного в порошок сырья в пробирке заливали 2 мл 95% этанола, закрывают стеклянной пробкой, нагревают на горячей водяной бане до кипения и поддерживают слабое кипение (верхняя часть пробирки не должна разогреваться) в течение 1 минуты.

После охлаждения в течение 15 минут спиртовое извлечение фильтруют через бумажный фильтр (диаметр в верхней части не более 1 см), смоченный 95% этанолом, в пенициллиновую склянку, отжимая сырье стеклянной палочкой.

Около 0,05 мл извлечения, упаренного до половины объема на водяной бане, наносят на точку старта. Хроматографию проводят в 15% уксусной кислоте, хроматограмму после высушивания обрабатывают 5% спиртовым раствором алюминия хлорида и просматривают в УФ свете при длине волны 365 нм.

### **Результаты и обсуждение**

На перегонку эфирного масла и его отдельных компонентов из растительного сырья, существенно влияет: соотношение воды и сырья, степень измельченности сырья, продолжительность дистилляции.

Эфирное масло получали из сырья измельченного и просеянного сквозь сито с различным диаметром отверстий. Использовали различные варианты соотношения воды и сырья, время дистилляции.

Таблица 1

Влияние продолжительности дистилляции на выход эфирного масла

Время перегонки	Количество эфирного масла, мл
-----------------	-------------------------------

30 мин	0,1
60 мин	0,05
90 мин	0,05
120 мин	0,01

Как видно из таблицы 1, с увеличением времени перегонки, уменьшается количество отгоняемого масла с каждой последующей фракцией. Самый большой объем масла отгоняется после 30 минут перегонки (0,1 мл). На основании этого можно сделать вывод, что доля легколетучей монотерпеновой фракции в эфирном масле ели обыкновенной шишек выше, так как монотерпены обычно отгоняются в начале перегонки.

При перегонке в течение двух часов в приемнике появляется лишь тонкая пленка эфирного масла, поэтому дальнейшую перегонку можно считать не целесообразной. Кроме того, дальнейшая перегонка может привести к расслоению эфирного масла и частичному выбросу более тяжелой фракции из приемника.

Таким образом, время перегонки эфирного масла не должно превышать 1,5 часа.

Таблица 2

Влияние соотношения воды и сырья, степени измельченности на выход эфирного масла

Соотношение воды и сырья	Содержание эфирного масла, %			
	Размер частиц			
	2 мм	3 мм	4 мм	5 мм
1:10	0,36	0,36	0,33	0,39
1:20	0,28	0,15	0,28	0,32
1:30	0,26	0,26	0,26	0,32

Результаты исследования показали, что оптимальными условиями количественного определения эфирного масла в сырье шишек ели являются: соотношение воды и сырья 1:10, измельченность 5 мм, время перегонки 1,5 часа. Содержание эфирного масла колеблется в пределах от 0,26 до 0,39%.

Для более объективной оценки качества сырья, учитывая пути использования сырья ели обыкновенной в составе сборов и в виде отваров, целесообразно проводить оценку качества сырья и по содержанию экстрактивных веществ. Это дает более полную оценку качества так как, терапевтический эффект данного вида сырья обусловлен всей суммой биологически активных веществ, извлекаемых водой (экстрактивных веществ). Определение содержания экстрактивных веществ, проводили по методике [3]. В качестве экстрагента использовали воду очищенную, так как данное сырье используется для получения отвара.

Ели обыкновенной шишки содержат большое количество дубильных веществ. Дубильными веществами называют растительные полифенольные соединения с различной молекулярной массой. Они представляют собой сложную смесь близких по составу фенольных соединений, делятся на две большие группы: гидролизуемые и конденсированные[4,5]. Дубильные вещества вносят определенный вклад в фармакологическую активность и на основании их количественного содержания можно сделать вывод о качестве данного вида сырья.

Таблица 3

Содержание экстрактивных и дубильных веществ в шишках ели обыкновенной

Образец	Экстрактивные вещества	Дубильные вещества
Образец №1	5,19%	6,78%
Образец №2	5,05%	6,23%
Образец №3	5,64%	6,15%
Образец №4	5,27%	6,89%
Образец №5	5,08%	6,53%

Содержание экстрактивных веществ в исследуемых образцах (табл. 3) составило от 5,05 % до 5,64 %. Предлагаем норму содержания экстрактивных веществ установить не менее 5 %.

Содержание дубильных веществ в шишках ели обыкновенной, колеблется от 6,15 % до 6,78 %. Рекомендуем содержание дубильных веществ установить не менее 6 %.

Таблица 4

Определение числовых показателей ели обыкновенной шишек

№ п/п	Влажность не более 13%	Зола общая не более 8%	Тяжелые металлы по ГФ XI
1.	5,12	1,58	Не превышает окраску эталона
2.	6,52	1,62	Не превышает окраску эталона
3.	7,35	3,35	Не превышает окраску эталона
4.	8,51	5,35	Не превышает окраску эталона
5.	6,93	4,21	Не превышает окраску эталона

Как видно из таблицы 4, влажность в образцах варьирует от 5,12 % до 8,51 %, содержание золы общей от 1,58 % до 5,35 %. Окраска раствора исследуемого образца при

определении тяжелых металлов (свинца), не превышала окраску эталона, согласно ОФС «Определение содержания тяжелых металлов в лекарственном растительном сырье», ГФХП изд.

Таблица 5

Таблица аналитических данных, подтверждающая числовые показатели ели обыкновенной шишек

№ п/п	Шишек, у которых половина или более семян высыпались не более 20%	Других частей ели не более 5%	Органической примеси не более 1%	Минеральной примеси не более 0,5%
1.	18,5	0,1	0,2	-
2.	15,36	0,5	0,01	0,04
3.	18,25	0,75	0,1	0,02
4.	13,45	0,23	0,08	-
5.	15,05	0,12	-	-

Как показано в таблице 5, шишек, у которых половина или более семян высыпались от 13,45% до 18,5%. Других частей растения в образцах сырья было найдено от 0,1 до 0,75%. Органической примеси от 0,01 до 0,2%. В двух образцах было найдено незначительное количество минеральной примеси 0,02-0,04%.

При разработке Фармакопейной статьи были включены новые разделы «Качественные реакции», «Хроматография», «Спектр (УФ-спектр).

#### Качественные реакции

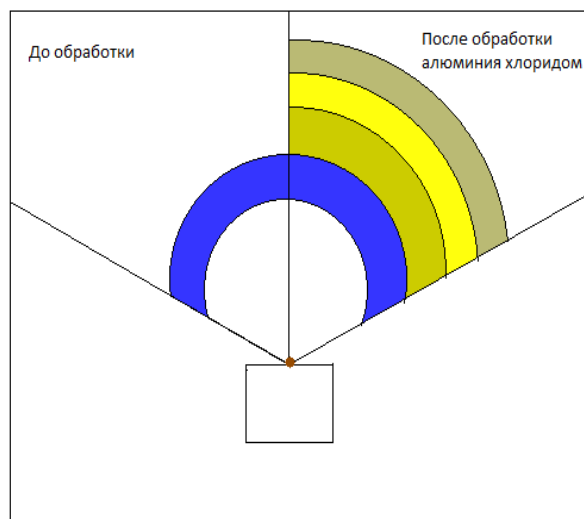
В раздел «качественные реакции» включены реакции, подтверждающие присутствие основных групп биологически активных веществ:

1. На предметное стекло наносят 1 каплю отвара ели шишек, добавляют 1 каплю 1% раствора железоммонийных квасцов, постепенно появляется черно-зеленое окрашивание (дубильные вещества).
2. На предметное стекло наносят 1 каплю отвара, добавляют 1 каплю свежеприготовленного раствора желатина, появляется белый осадок (дубильные вещества).
3. К 1 мл извлечения прибавляют 2 мл 2% раствора алюминия хлорида в 95% спирте; раствор окрашивается в зеленовато-желтый цвет (флавоноиды).

#### Хроматография

Для подтверждения подлинности, особенно сырья измельченного, важное значение имеют хроматографические характеристики.

Круговая хроматография на бумаге является быстрым, надежным, недорогим методом, не требующим применения дорогостоящих растворителей и материалов.



При рассмотрении хроматограмм в УФ-свете при длине волны 360 нм, видна окрашенная зона Rf 0,25 светло-синего цвета (рис.1).

После обработки хроматограммы 5% спиртовым раствором алюминия хлорида, появляются окрашенные зоны: Rf 0,25 сине-фиолетового цвета остается неизменной, Rf 0,39 желто-коричневого цвета, Rf 0,52 желтого цвета (флавоноиды), зона Rf 0,72 темного цвета.

### Спектр (УФ-спектр)

В проект фармакопейной статьи предлагаем включить спектр поглощения раствора Б, полученного по стандартной методике определения флавоноидов в траве зверобоя [6]. УФ-спектр раствора Б в области от 300 до 500 нм имеет основной максимум поглощения при длине волны 396 нм (рутин).

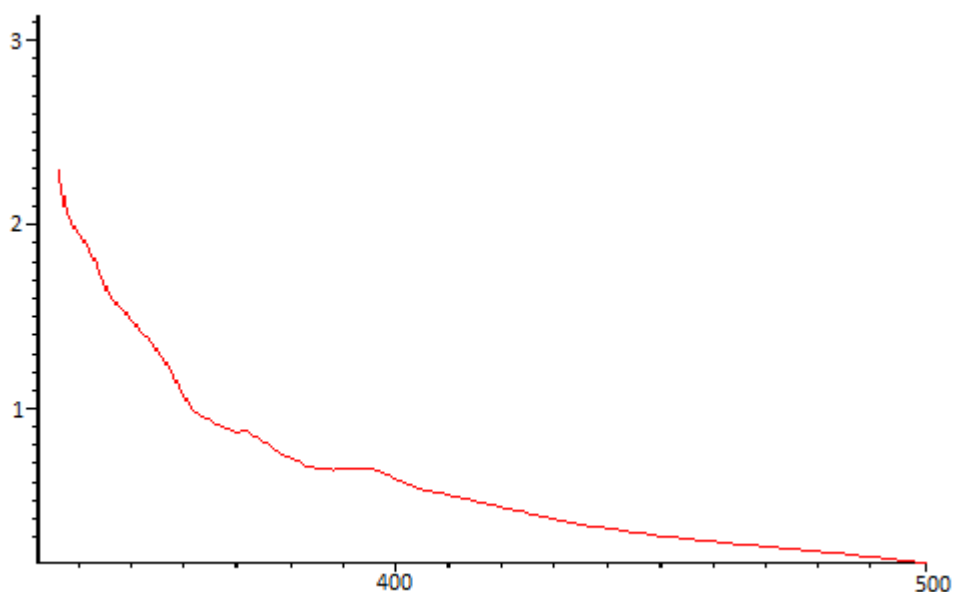


Рис. 2. Уф-спектр извлечения из ели обыкновенной шишек

### **Заключение**

Таким образом, нами определены нормы качества сырья «Ели обыкновенной шишки», которые позволят проводить объективную оценку качества сырья с учетом всех групп биологически активных веществ.

Разработанные показатели качества включены в ФС «Ели обыкновенной шишки» для Государственной Фармакопеи Российской Федерации XII издания.

### **Список литературы**

1. Белоногова В.Д. Ресурсы, экологическая безопасность и фитохимическое исследование дикорастущих лекарственных растений Пермского края. Автореф. дис. д-ра. фармац. наук. – Москва, 2002 - 46с.
2. Государственная фармакопея XI издания. МЗ СССР. М. Медицина, 1990. Вып.1 стр. 398.
3. Рудакова И.П., Самылина И.А., Сорокина А.А., Молчан Н.В. Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье // Фармация. 2010. №3. С. 9-10.
4. Химический анализ лекарственных растений / Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронич. - М., 1983. 175 с.
5. Запрометов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. М., 1974. 214 с.
6. Государственная фармакопея XI издания. МЗ СССР. М. Медицина, 1990. Вып.1 стр. 323.

### **Рецензенты:**

Алексеева И.В., д.фарм.н., профессор кафедры фармацевтической технологии лекарств, ГБОУ ВПО «Пермская Государственная фармацевтическая академия Министерства здравоохранения Российской Федерации» г. Пермь.

Солонина А.В., д.фарм.н., профессор, заведующая кафедрой УЭФ, ГБОУ ВПО «Пермская Государственная фармацевтическая академия Министерства здравоохранения Российской Федерации» г. Пермь.