



**А. А. ПОГОЦКАЯ**

*А. А. Погоцкая, доцент кафедры фармакогнозии с курсом факультета повышения квалификации и переподготовки кадров (ФПК и ПК) фармацевтического факультета учреждения образования (УО) «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»; кандидат фармацевтических наук*

*Г. Н. Бузук, заведующий кафедрой фармакогнозии с курсом ФПК и ПК фармацевтического факультета УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»; доктор фармацевтических наук, профессор*

*О. В. Созинов, заведующий кафедрой ботаники УО «Гродненский государственный университет имени Я. Купалы», кандидат биологических наук, доцент*

## Использование методов фармакогностического анализа для установления подлинности листьев маклейи сердцевидной (*Macleaya cordata* R. Br.)

### Введение

Маклейя сердцевидная — *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br. — представляет собой травянистое растение семейства маковых *Papaveraceae*.

Корневище мощное, округло-цилиндрическое, расположено горизонтально на глубине 10–13 см. Стебли прямостоячие, продольно-ребристые, высотой 1,5–3 м, голубовато-зеленые с восковым налетом; нижняя часть их деревянистая, коричневая. На одном корневище образуется до 30 побегов. Листья черешковые, очередные, перистолопастные или перистораздельные, в очертании широкоовальные, длиной 12–25 см; верхняя сторона листа голая, зеленая, нижняя — густоопушенная, белая (рис. 1). Цветки мелкие, обоеполые, рыжевато-розовые. Чашелистиков два, они белые, обратнояйцевидные, рано опадающие. Лепестков нет. Цветки собраны в соцветия метелки длиной 25–40 см, расположенные на верхушке главного стебля и боковых побе-

гов. Плод — обратнояйцевидная, плоская, бурая с сизоватым налетом коробочка длиной до 8 мм и шириной 4 мм [8].

M. Zhang и C. Grey-Wilson выделили диагностически значимые морфологические признаки, позволяющие дифференцировать между собой два близких вида *M. cordata* и *M. microcarpa* (табл.).

Маклейя сердцевидная в естественных условиях на территории СНГ не встречается. Ее родиной являются Юго-Восточный Китай и Япония, однако растение достаточно легко культивируется [6, 12, 13].

Биологическая активность маклейи обусловлена присутствием в надземной части растения алкалоидов, преимущественно сангвинарина и хелеритрина (химические формулы представлены на рис. 2, 3) [11, 14, 15]. Сумма этих близких по строению алкалоидов представляет собой лекарственный препарат Сангвиритрин, выпускаемый в России:



а

б

Рис. 1. Внешний вид листа маклейи сердцевидной: а — верхняя сторона; б — нижняя сторона

Таблица

### Морфологические диагностические признаки видов маклейи

Морфологические признаки	<i>M. cordata</i>	<i>M. microcarpa</i>
Цветочные почки	Булавовидные	Вальковатые (округлые)
Количество тычинок	24–30	8–12
Тычиночные нити	Примерно равны по длине пыльникам	Значительно короче, чем пыльники
Форма плода	Узко обратнояцевидная или обратноланцетная	Почти округлые
Семена	4–6 семян, прикрепленных билатерально	1 семя, прикрепленное в основании плода

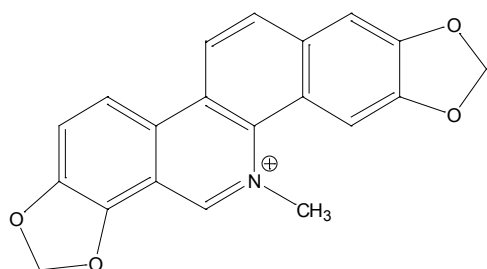


Рис. 2. Сангвиритрин

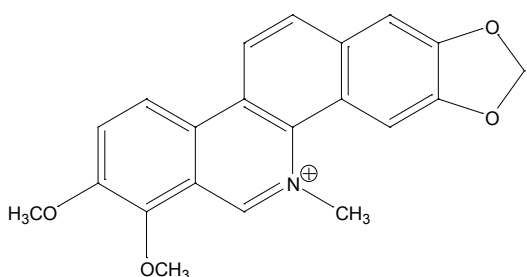


Рис. 3. Хелеритрин

Данный препарат обладает широким спектром антимикробной активности в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также дрожжеподобных грибков и трихомонад. Проявляет активность в отношении антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов. Его применяют при лечении кожных заболеваний (дерматитов, кандидозов, грибковых поражений и др.), стоматитов различной этиологии, пара-

донтоза, отитов, гнойных ран и трофических язв. Препарат обладает также антихолинэстеразной активностью. Как антихолинэстеразное средство препарат используется внутрь при миопатиях, последствиях полиомиелита, у детей — при различных формах прогрессивной мышечной дистрофии, церебральных параличах и других заболеваниях. Препарат при внутреннем применении противопоказан при эпилепсии, гиперкинезах, бронхиальной астме, стенокардии, болезнях печени и почек.

Сангвиритрин применяют наружно в стоматологии, отоларингологии, хирургии, гинекологии и дерматологии в качестве лечебно-профилактического средства при поражениях кожи и слизистых оболочек, вызванных дрожжеподобными грибами и смешанной флорой, а также при длительно незаживающих инфицированных язвах и ранах (в форме 1 % линимента, 1 % водного или 0,2 % спиртового растворов). Таблетки сангвиритрина 0,005 г с кишечнорастворимым покрытием назначают в качестве лечебно-профилактического средства общерезорбтивного действия в комплексной терапии острых и хронических гнойно-воспалительных заболеваний (острые кишечные инфекции, дисбактериозы, кандидозы и др.) [1, 2, 3].

В Республике Беларусь препарат «Сангвиритрин» не зарегистрирован и не производится. Однако создана нормативная документация на новый вид лекарственного растительного сырья — фармакопейная статья (ФС) «Маклейи листья», включенная в Государственную Фармакопею (ГФ) Республики Беларусь, Т.2 [7], что является основой для промышленного использования указанных растений в качестве фармацевтической субстанции (сырья) для производства готовых лекарственных форм.

### Материалы и методы

Объектом исследования являлись листья маклейи сердцевидной (*Macleaya cordata*). Заготовку сырья проводили от культивируемых растений на опытном поле учреждения образования «Витебский государственный медицинский университет». Обнаружение алкалоидов проводили с помощью качественных реакций и тонкослойной хроматографии. Для получения цифрового изображения в качестве аналитического инструмента использовали сканер EPSON Perfection 1270 в функциональном режиме: RGB, 24 бит, 300 dpi. Полученное цифровое изображение далее обрабатывали с помощью компьютерной программы ImageJ v. 1.41h (<http://rsbweb.nih.gov>) [9].

Определение диагностических микроскопических и внешних признаков проводили по методикам, приведенным в ГФ Республики Беларусь, Т.1 [4]. Микроскопические диагностические признаки листьев маклейи сердцевидной были изучены с использованием микроскопа Leica DM 2000 (увеличение  $\times 200$ ) и электронного приложения Leica Application Suite (version 3.6.0).

Для установления подлинности лекарственного растительного сырья используют такие методы фармакогностического анализа как макроскопический, микроскопический и качественный химический анализ.

### Результаты исследований и их обсуждение

**Макроскопический анализ.** При изучении внешних признаков обращали внимание на форму и опушенность листьев, определяли длину и ширину пластинки листа и черешка, цвет, запах исследуемого растительного сырья.

В ходе исследования *цельного* ЛРС определено, что листья маклейи сердцевидной простые, сердцевидной формы, 5–7 отдельные, длиной до 25 см, сверху голые, от буровато-зеленого до коричневатого-желтого или серовато-зеленого цвета, нижняя поверхность густоопушенная, серого или желтовато-серого цвета. Кусочки черешков листьев имеют длину до 12 см и ширину до 1 см, иногда сплюснутые. Форма черешка — неправильно цилиндрическая, у основания подковообразная. Цвет — от буровато-зеленого до коричневатого-желтого или серовато-зеленого. Запах слабый.

*Измельченное сырье* представляет собой кусочки листьев различной формы, проходящие сквозь сито диаметром 7 мм, от буровато-зеленого до коричневатого-зеленого или серовато-зеленого цвета. Запах слабый.

Таким образом, на основании данных литературных источников и собственных экспериментальных данных определены внешние признаки листьев маклейи сердцевидной.

**Микроскопический анализ** является одним из методов подтверждения подлинности лекарственного растительного сырья, особенно измельченного, и предусматривает изучение микропрепаратов сырья с использованием микроскопа в соответствии с требованиями нормативной документации.

В литературе имеются некоторые данные по микроскопии листа маклейи. Эти исследования проводились, в частности, при разработке российской ФС 42-2666-89 на **траву** маклейи. Поскольку в качестве лекарственного растительного сырья нами предложены **листья** маклейи, нами проведено детальное изучение анатомических диагностических признаков. Микропрепараты готовили по известной методике получения временных поверхностных препаратов: кусочки листьев маклейи сердцевидной кипятили 3–5 мин в растворе 3 % NaOH, промывали водой и помещали отдельные части листьев маклейи на предметное стекло в каплю хлоралгидрата [5].

При рассмотрении листа или его фрагментов с поверхности обнаружено, что клетки верхнего эпидермиса имеют многоугольную форму и почти прямые стенки. Клетки нижнего эпидермиса — со слабоизвилистыми стенками. Устьица

многочисленные, погруженные, окружены 5–6 околоустьичными клетками эпидермиса (аномоцитный тип), встречаются только на нижней стороне листа (рис. 1).

Волоски простые, многоклеточные, гладкие, прямые или слабоизогнутые, встречаются на нижней стороне листа, чаще по жилкам.

Преимущественно по крупным жилкам обнаруживаются многоклеточные волоски с основанием из нескольких параллельных рядов клеток (рис. 4). Данный факт был установлен нами впервые при

оригинальном исследовании листьев маклей и может быть предложен в качестве нового дополнительного диагностического признака.

В мезофилле листа вдоль проводящих пучков видны млечники с зернистым содержимым оранжево-бурого цвета (рис. 4).

Целью *качественного фитохимического анализа* является обнаружение основной группы действующих веществ с помощью качественных реакций и хроматографических методов. Для обнаружения

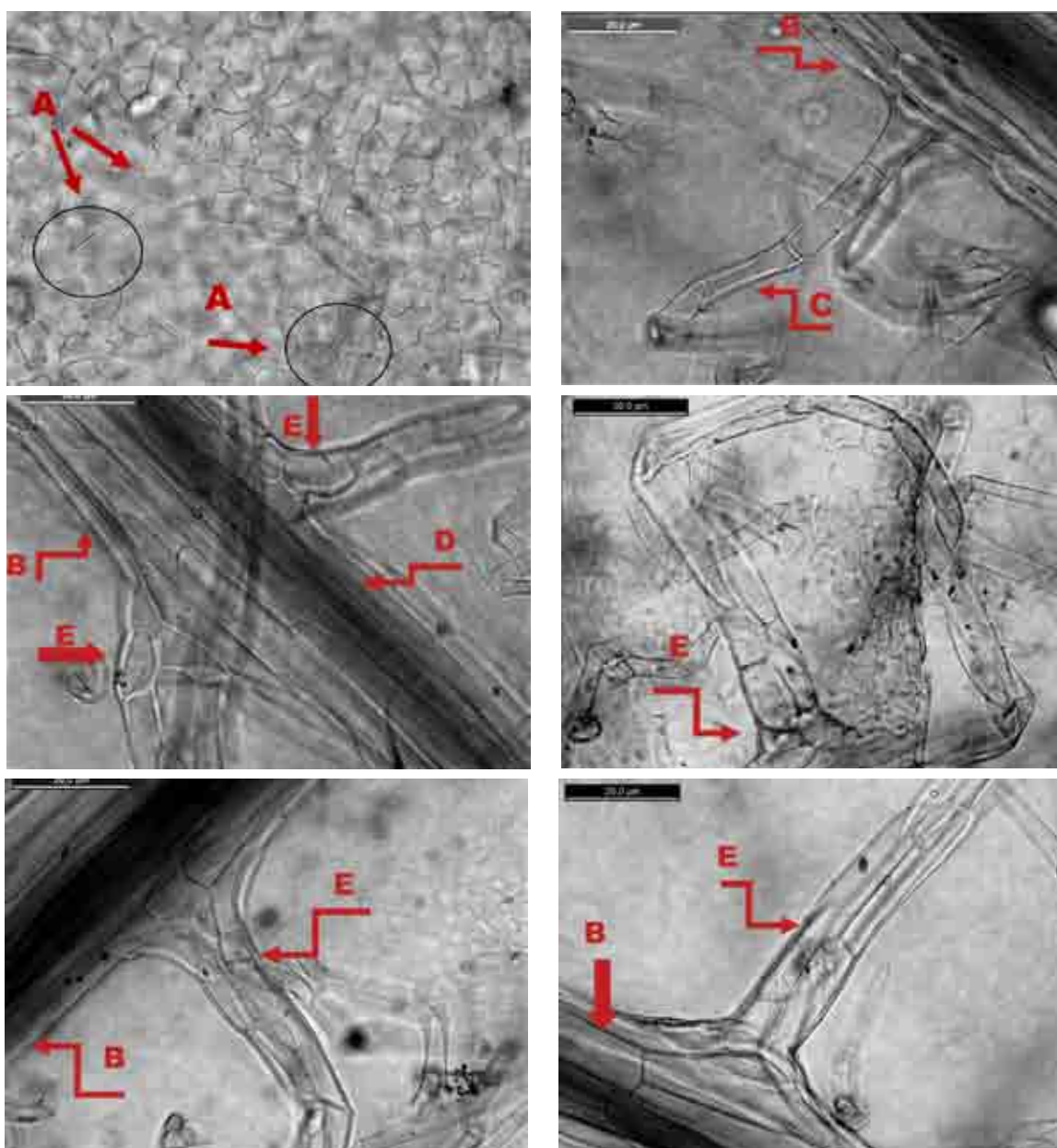


Рис. 4. Фрагменты эпидермиса нижней стороны листа маклей.

*A* — устьица (аномоцитный тип), *B* — жилка, *C* — простой многоклеточный волосок, *D* — млечник, *E* — многоклеточные волоски с основанием из нескольких рядов клеток

суммы алкалоидов маклей сердцевидной 1 г измельченного сырья помещали в колбу вместимостью 50 мл с притертой пробкой, прибавляли 1 мл 10 % раствора аммиака, хорошо перемешивали и приливали 15 мл хлороформа, настаивали при периодическом взбалтывании в течение 10 мин в закрытой колбе и отфильтровывали через бумажный фильтр (раствор А). К 5 мл фильтрата приливали 1 мл 10 % раствора кислоты серной и взбалтывали в течение 3 мин. При стоянии в водно-кислотном слое обнаруживали осадок оранжевого цвета — бисульфаты сангвинарина и хелеритрина [10].

Целью проведения тонкослойной хроматографии являлось обнаружение индивидуальных алкалоидов маклей сердцевидной — сангвинарина и хелеритрина. Следует отметить, что разделение сильноосновных и четвертичных алкалоидов является достаточно сложной задачей, поскольку сангвинарин и хелеритрин являются веществами с близкой гидрофобностью и похожей структурой [16]. Экспериментальным путем нами подобрана хроматографическая система, позво-

ляющая разделить данные вещества на пластинке и обнаружить в виде индивидуальных соединений. Введение добавок ион-парного реагента (натрия бромида) приводит к увеличению подвижности и улучшению симметричности пятен разделяемых веществ (рис. 5).

На линию старта хроматографической пластинки Merck Kieselgel 60 F254 размером 5×15 см наносили 20 мкл извлечения (раствор А) и 20 мкл раствора стандартного образца вещества-свидетеля сангвиритрина. Пластинку с нанесенными пробами высушивали на воздухе в течение 15 мин и помещали в систему растворителей толуол – 96 % спирт этиловый – аммиак концентрированный (10:2:0,05) и хроматографировали восходящим способом. Когда фронт растворителя проходил до конца пластинки, ее вынимали из камеры, высушивали в вытяжном шкафу в течение 30–60 мин и вторично помещали в систему растворителей спирт этиловый – хлороформ – 1 М раствор бромида натрия водный (10:2:0,2).

Окрашенность алкалоидов позволяла визуально контролировать процесс

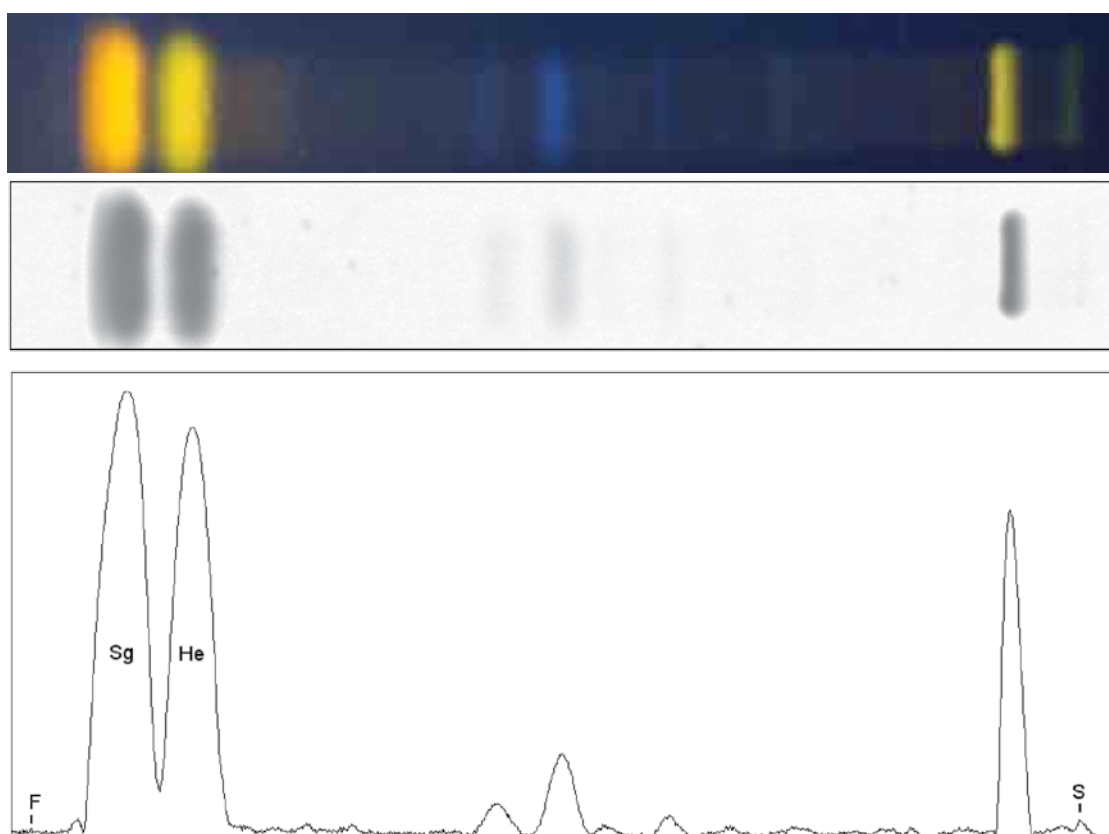


Рис. 5. Хроматограмма в УФ свете и денситограмма алкалоидов листьев маклей сердцевидной; Sg — сангвинарин, He — хелеритрин

разделения алкалоидов непосредственно еще в хроматографической камере.

Когда фронт растворителя прошел до конца пластинки, ее вынимали из камеры, высушивали в сушильном шкафу в течение 5 мин при температуре 100–105 °С и просматривали в УФ-свете. При просматривании хроматограммы в УФ-свете обнаруживали пятна оранжевого (сангвинарин), желтого (хелеритрин) цвета со значениями  $R_f$ , соответствующими значениям  $R_f$  хроматографических пятен растворов свидетелей. Также могут обнаруживаться и другие слабые зоны (рис. 5).

Введение добавок натрия бромида, выступающего в роли ион-парного реагента, приводит к увеличению подвижности и улучшению симметричности разделяемых веществ, что позволяет использовать компьютерные программы обработки сканированного изображения.

### Выводы

Таким образом, макроскопическим методом определены внешние признаки цельных, измельченных листьев маклей сердцевидной. С помощью микроскопического метода изучены анатомические признаки листьев и обнаружен новый диагностический признак — многорядные волоски. Используя качественный фитохимический анализ, обнаружена сумма алкалоидов маклей, обеспечивающая ее фармакологическое действие. Предложена методика определения подлинности листьев маклей, основанная на использовании последовательной тонкослойной хроматографии для разделения и обнаружения основных индивидуальных алкалоидов — сангвинарина и хелеритрина.

Полученные данные использованы при разработке нормативной документации — ФС «Маклейи листья», включенной в ГФ Республики Беларусь, что позволяет использовать данное лекарственное растительное сырье в фармацевтической практике.

## Список литературы

1. Вичканова С. А. Ингибиторы микроорганизмов среди природных веществ растительного происхождения : автореф. дис. докт. биологич. наук : спец. 03.00.07 / С. А. Вичканова. — М., 1981. — 48 стр.
2. Вичканова С. А. Клинические исследования антимикробного растительного препарата сангвиритрин / С. А. Вичканова // Фармация. — 2003. — Т. 52, № 2. — С. 31–34.
3. Вичканова С. А. Данные клинического исследования антимикробного растительного препарата Сангвиритрин / С. А. Вичканова // Поликлиника. — 2012. — № 1. — С. 81–86.
4. Государственная Фармакопея Республики Беларусь. Т. 1 : Общие методы контроля качества лекарственных средств / Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении; под общ. ред. Г. В. Годовальникова. — Минск : Минск. гос. ПТК полиграфии, 2006. — 1345 с.
5. Долгова А. А. Руководство к практическим занятиям по фармакогнозии / А. А. Долгова, Е. Я. Ладыгина. — М. : Медицина, 1977. — 255 с.
6. Киселев В. П. Всхожесть семян маклей сердцевидной и м. мелкоплодной в зависимости от места их репродукции и температурного режима проращивания / В. П. Киселев, Е. Е. Хлапцев // Растительные ресурсы. — 1976. — Т. 12, вып. 3. — С. 369.
7. Маклейи листья / Государственная Фармакопея Республики Беларусь, Т.2. Контроль качества вспомогательных веществ и лекарственного растительного сырья / Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении; под общ. ред. А. А. Шерякова. — Молодечно : Типография «Победа», 2008. — С. 373–374.
8. Новое лекарственное сырье – Folia Macleayaе / А. А. Погоцкая, Г. Н. Бузук, Н. А. Алексеев, А. В. Фролова // Вестник фармации. — 2004. — Т. 25, № 3. — С. 33–41.
9. Погоцкая А. А. Применение сканера и компьютерных программ цифровой обработки изображений для количественного определения алкалоидов в листьях маклейи сердцевидной / А. А. Погоцкая, Г. Н. Бузук // Вестник фармации. — 2009. — № 4. — С. 32–38.
10. Разделение и определение некоторых бензофенантридиновых алкалоидов методом ион-парной обращенно-фазовой ВЭЖХ / Н. А. Алексеев, А. А. Погоцкая, Г. Н. Бузук, Т. А. Васильева // Фундаментальные науки и достижения клинической медицины и фармации : 58-я научная сессия ВГМУ, 26–27 февраля 2003 г. : тезисы докл. / ВГМУ, редкол.: А. П. Солодков [и др.]. — Витебск, 2003. — С. 257–258.
11. Толкачев О. Н. К структуре глубоко окрашенных пигментов из маклейи мелкоплодной / О. Н. Толкачев, А. А. Савина // Труды Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений. Химия, технология, медицина / Москва, 2000. — С. 98–104.
12. Хлапцев Е. Е. Влияние удобрений на урожай маклейи и содержание алкалоидов в условиях вегетационного опыта / Е. Е. Хлапцев // Хим.-фарм. журнал. — 1978. — № 11. — С. 67–71.
13. Челомбитько В. А. Опыт культуры маклейи мелкоплодной на Кавказе и исследование ее алкалоидов / В. А. Челомбитько // Herba polon. — 1971. — Vol. 17, N 4. — P. 388–390.
14. Configurations and conformations of sanguinarine and chelerythrine free bases stereoisomers / J. Toušek, R. Dommissse, J. Dostálc [et al.] // Journal of Molecular Structure. — 2002. — Vol. 613, N 1–3. — P. 103–113.
15. Effect of the extractant type on the yield of benzo[c]phenanthridine alkaloids from the leaves of *Macleaya microcarpa* and *Bocconia frutescens* / E. A. Abizov, O. N. Tolkachev, I. E. Kopylova, A. N. Luferov // Pharmaceutical Chemistry Journal. — 2003. — Vol. 37, N 7. — P. 350–352.
16. McLean W. F. Thin-layer chromatography of quaternary ammonium salts on alumina layers / W. F. McLean, K. Jewers // J. Chromatogr. — 1972. — Vol. 74, N 2. — P. 297–302.

## Резюме

## Summary

**Использование методов фармакогностического анализа для установления подлинности листьев маклейи сердцевидной (*Macleaya cordata* r. br.)**

*А. А. Погоцкая,  
Г. Н. Бузук,  
О. В. Созинов*

Цель работы — стандартизация лекарственного растительного сырья маклейи сердцевидной (*Macleaya cordata*) с помощью макроскопического, микроскопического методов, тонкослойной хроматографии, денситометрии. В качестве лекарственного растительного сырья предложены листья маклейи сердцевидной. Впервые выявлен новый диагностический признак сырья. Предложена методика установления подлинности, основанная на использовании последовательной тонкослойной хроматографии, экспериментальным путем подобрана система растворителей. Разработана методика обнаружения алкалоидов с применением сканера и компьютерной программы цифровой обработки изображения. По результатам работы разработана фармакопейная статья, включенная в государственную фармакопею Республики Беларусь.

**Ключевые слова:** фармакогнозия, стандартизация лекарственного растительного сырья, листья маклейи сердцевидной, денситометрия, тонкослойная хроматография.

**Use of Pharmacognostic Analysis Methods to Establish Identity of Plume Poppy (*Macleaya cordata* r. br.) Leaves**

*A. A. Pohotskaya,  
H. N. Buzuk,  
O. V. Sozinov*

The work objective was the standardization of medicinal plant raw material of plume poppy (*Macleaya cordata*) by means of macroscopic, microscopic methods, thin-layer chromatography, and densitometry. Leaves of *Macleaya cordata* were proposed as medicinal plant raw material. For the first time a new diagnostic feature of the raw material was identified. New identification methods were proposed based upon using consecutive thin-layer chromatography, solvent system was selected experimentally. Methods were developed to identify alkaloids using a scanner and computer program of digital image processing. The work results led to the development of a Pharmacopeia article included into the State Pharmacopeia of the Republic of Belarus.

**Key words:** pharmacognosia, standardization of medicinal plant raw material, leaves of *Macleaya cordata*, densitometry, thin-layer chromatography.

**Використання методів фармакогностичного аналізу для встановлення автентичності листя маклейї серцеподібної (*Macleaya cordata* r. br.)**

*А. О. Погоцька,  
Г. М. Бузук,  
О. В. Созинов*

Мета роботи — стандартизація лікарської рослинної сировини маклейї серцеподібної (*Macleaya cordata*) за допомогою макроскопічного, мікроскопічного методів, тонкошарової хроматографії, денситометрії. Як лікарську рослинну сировину запропоновано листя маклейї серцеподібної. Вперше виявлено нову діагностичну ознаку сировини. Запропоновано методику встановлення автентичності, засновану на використанні послідовної тонкошарової хроматографії, експериментальним шляхом підібрана система розчинників. Розроблено методику виявлення алкалоїдів із застосуванням сканера і комп'ютерної програми цифрової обробки зображення. За результатами роботи розроблена фармакопейна стаття, включена в державну фармакопею Республіки Білорусь.

**Ключові слова:** фармакогнозія, стандартизація лікарської рослинної сировини, листя маклейї серцеподібної, денситометрія, тонкошарова хроматографія.