

ФАРМАКОГНОЗИЯ И БОТАНИКА

УДК 615.322; 581.192

DOI: <https://doi.org/10.52540/2074-9457.2026.1.5>

О. А. Ёршик

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БЕТУЛИНА В КАЧЕСТВЕ АНАЛИТИЧЕСКОГО МАРКЕРА ПРИ ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА КОРЫ ОСИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

Белорусский государственный медицинский университет,
г. Минск, Республика Беларусь

В связи с необходимостью расширения номенклатуры отечественных препаратов на основе лекарственного растительного сырья актуальна разработка фитопрепаратов и биологически активных добавок к пище на основе коры осины обыкновенной. При оценке качества нового вида лекарственного растительного сырья следует идентифицировать его фитохимический профиль (химический состав), определяя маркеры, характеризующие качество сырья и направления фармакологической активности. Целью работы является экспериментальное обоснование целесообразности определения бетулина как аналитического маркера, позволяющего характеризовать качество коры осины обыкновенной.

В коре осины обыкновенной обнаружен и идентифицирован методом тонкослойной хроматографии представитель пентациклических тритерпеновых сапонинов производных лупана – бетулин.

Бетулин рекомендован в качестве аналитического маркера при оценке качества коры осины обыкновенной методом тонкослойной хроматографии. Кора осины обыкновенной содержит тритерпеновые сапонины, в связи с этим может рассматриваться как перспективный источник указанной группы биологически активных веществ и, в частности, бетулина.

Экстракцией бинарной (двухфазной) смесью бутанола и воды получены очищенные фракции, содержащие 60–63% бетулина, при исходном содержании бетулина в коре осины обыкновенной 4,7–6,2%.

Ключевые слова: осина обыкновенная, *Populus tremula* L., кора, тритерпеновые сапонины, бетулин.

ВВЕДЕНИЕ

Осина обыкновенная (*Populus tremula* L.) – лиственное дерево, представитель семейства ивовых (Salicaceae), широко произрастающее на территории Республики Беларусь.

В государственном реестре лекарственных средств Республики Беларусь отсутствуют зарегистрированные фитопрепараты на основе осины обыкновенной. В розничной реализации представлены биологически активные добавки к пище (БАД), содержащие кору осины обыкновенной, расфасованную в коробки по 50 грамм и фильтр-пакеты в количестве 20 штук по 1,5 грамма.

В Единый реестр свидетельств о государственной регистрации единой нормативно-справочной информации Евразийского экономического союза включены

БАД, содержащие кору осины обыкновенной. Все они производятся предприятиями Российской Федерации. Кора осины обыкновенной может служить источником фенольных соединений, флавоноидов и фенолгликозидов [1].

Разработка фитопрепаратов и БАД на основе коры осины обыкновенной актуальна, поскольку позволяет расширить номенклатуру отечественных препаратов на основе лекарственного растительного сырья (ЛРС) – дополнительного источника биологически активных веществ (БАВ).

При оценке качества нового вида ЛРС следует идентифицировать его фитохимический профиль (химический состав), определяя маркеры, характеризующие качество сырья и направления фармакологической активности.

Для оценки качества фитопрепаратов используют активные или аналитические маркеры, которые служат для расчета количества ЛРС или фитопрепаратов на его основе [2].

Для ЛРС, в отношении которого отсутствует информация о составляющих компонентах, ответственных за терапевтическую активность, следует проводить количественное определение активных или аналитических маркеров. Целесообразность выбора маркеров должна быть обоснована экспериментальными и научными данными [3].

Согласно имеющимся литературным данным, кора осины обыкновенной содержит различные группы БАВ фенольной природы: флавоноиды (кверцетин, рутин, гиперозид, хризин), фенолгликозиды (салицин), фенолокислоты (п-кумаровая, феруловая, кофейная, коричная, галловая) [4, 5].

В ходе предварительно проведенного нами скрининга (идентификация и количественное определение) фармакопейными валидированными методиками определения индивидуальных веществ и суммы БАВ в коре осины обыкновенной обнаружены следующие их группы: полисахариды, сапонины, аскорбиновая кислота, кумарины, флавоноиды, фенольные соединения.

Результаты сравнительного количественного анализа БАВ коры осины обыкновенной с фармакопейными видами ЛРС, в состав которых входят компоненты с известной терапевтической активностью или активные маркеры вышеперечисленных групп соединений, показали, что три-терпеновые сапонины являются основной (целевой) группой БАВ коры осины обыкновенной [6].

Три-терпеновые соединения представляют большой интерес ввиду широкого спектра их биологической активности. Представитель пентациклических три-терпеновых сапонинов производных лупана – бетулин, а также его производные, выделенные из растительных объектов, обладают доказанными антиоксидантными [7], гастропротекторными, противовоспалительными, капилляроукрепляющими [8], противовирусными и противоопухолевыми свойствами [9].

При оценке качества ЛРС его идентификация включает: качественную харак-

теристику ботанического источника (вид производящего растения или смесь видов лекарственных растений) использованной части растения (морфологическая группа) и состояние ЛРС (описание стандартного состояния), условия получения ЛРС (фаза заготовки); макроскопические и микроскопические ботанические особенности ЛРС; результаты хроматографического анализа и химических реакций [3].

Для составления спецификаций на ЛРС, растительные фармацевтические субстанции, фитопрепараты на их основе испытания подлинности должны быть специфичными и, как правило, включать результаты трех и более испытаний (макроскопические признаки, микроскопические признаки, хроматографические методы, качественные реакции) [3].

Целью работы является экспериментальное обоснование использования бетулина в качестве аналитического маркера при оценке качества коры осины обыкновенной.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись образцы коры осины обыкновенной, заготовленные в 2024 году на территории Республики Беларусь, высушенные методом воздушно-теневого сушки и измельченные до порошка с частицами, проходящими сквозь сито (1400).

Идентификация бетулина методом тонкослойной хроматографии

В качестве испытуемых растворов использовали раствор выделенного из коры осины обыкновенной бетулина и неочищенное спиртовое извлечение из коры осины обыкновенной.

Получение спиртового извлечения из коры осины обыкновенной проводили путем нагревания до кипения ЛРС с 96% этанолом (соотношение 1 : 15 (м/об)) в колбе с обратным холодильником в течение 30 минут. Время отсчета экстракции начинали с момента закипания экстрагента.

В качестве раствора сравнения использовали 2 мг/мл раствор стандартного образца бетулина (Glenthams Life Sciences, кат. № GP5633) в 96% этаноле.

На линию старта пластинок со слоем силикагеля Sorbfil ПТСХ-АФ-А размером 10 × 15 см в виде полос шириной около

1 см наносили по 10 мкл испытуемых растворов спиртового извлечения из коры осины обыкновенной, по 5 мкл испытуемых растворов фракций бетулина, выделенных из коры осины обыкновенной и 5 мкл раствора сравнения.

Хроматографировали в системе растворителей толуол – этилацетат – муравьиная кислота (7 : 3 : 0,2 об/об/об) до прохождения фронтом подвижной фазы не менее 8 см от линии старта.

Хроматограммы проявляли 10% спиртовым раствором хромогенного реактива кислота фосфорномолибденовая [9].

Высушивали хроматографические пластинки при 105–110 °С в течение 5 минут. Детектировали последовательность зон хроматограмм растворов сравнения и испытуемых растворов в видимом свете. Для полученных окрашенных зон рассчитывали значения R_f .

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета для анализа данных Microsoft Excel.

Методика выделения бетулина

Бетулин из коры осины обыкновенной выделяли экстракцией измельченной коры бинарной (двухфазной) смесью бутанола и 20% водного раствора гидроксида натрия при нагревании в течение 3 часов с обратным холодильником.

Сочетание щелочного гидролиза с экстракцией бутанолом позволяет получать более чистую фракцию бетулина, что связано с растворимостью фенольных соединений коры осины обыкновенной в растворе гидроксида натрия. Кроме этого, раствор гидроксида натрия в процессе извлечения омыляет смолистые вещества,

что также влияет на чистоту полученной фракции бетулина.

Полученный органический слой, содержащий бетулин в растворе бутанола, отделяли, упаривали до сухого остатка, растворяли в воде очищенной, фильтровали через бумажный фильтр. Содержимое фильтра промывали водой очищенной до нейтральной среды и высушивали [7].

Полученный сухой остаток растворяли в метаноле. Чистоту полученной фракции бетулина контролировали методом тонкослойной хроматографии.

Методика количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов

Определение суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на бетулин проводили методом спектрофотометрии [10].

В качестве раствора сравнения использовали 3 мг/мл раствор стандартного образца бетулина (Glenthams Life Sciences, кат. № GP5633) в 96% этаноле.

Измеряли значения оптической плотности полученных растворов коры осины обыкновенной и фракций бетулина, выделенных из коры осины обыкновенной, при длине волны 286 нм и рассчитывали сумму тритерпеновых сапонинов в пересчете на бетулин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице 1 приведены значения R_f , рассчитанные для хроматографических пятен, наблюдаемых на хроматограммах неочищенного спиртового извлечения из коры осины обыкновенной (ИР № 1), выделенной из коры осины обыкновенной фракции бетулина (ИР № 2) и раствора стандартного образца (PCO) бетулина.

Таблица 1. – Результаты хроматографического исследования

№ пятна	Rf	Окраска пятен после проявления раствором кислоты фосфорномолибденовой	Идентификация
ИР № 1			
1	0,2	Светло-синяя	Бетулин
2	0,3	Светло-синяя	
3	0,5	Светло-синяя	
4	0,7	Темно-синяя	
5	0,8	Светло-синяя	
ИР № 2			
1	0,7	Темно-синяя	Бетулин
2	0,8	Слабо-выраженная	
PCO бетулина			
1	0,7	Темно-синяя	Бетулин

Во всех треках ИР № 1 и № 2 обнаружили присутствие цветных пятен, по значению Rf и окраске соответствующих РСО бетулина. Сопоставление значений Rf и окраски соответствующих зон на хроматограммах ИР № 1 и № 2 с таковыми на хроматограмме РСО позволило идентифицировать в ИР № 1 и № 2 бетулин (значение Rf около 0,7).

После проявления хромогенным реак-

тивом в треке ИР № 2 наблюдали только две зоны окрашивания, причем доминировала зона, соответствующая бетулину, что свидетельствует о высокой степени очистки полученной фракции бетулина из коры осины обыкновенной сочетанием щелочного гидролиза с экстракцией бутанолом.

Последовательность расположения зон на хроматограммах ИР № 1 и РСО бетулина представлена на рисунке 1.

Верх хроматографической пластинки	
Бетулин: зона темно-синего цвета	Зона светло-синего цвета
	Зона темно-синего цвета
	Зона светло-синего цвета
	Зона светло-синего цвета
	Зона светло-синего цвета
Раствор сравнения	Испытуемый раствор

Рисунок 1. – Схема хроматограммы идентификации бетулина в коре осины обыкновенной

Результаты количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в образцах коры осины обыкновенной и в выделенных и очищенных фракциях в

пересчете на бетулин методом абсорбционной спектрофотометрии в ультрафиолетовой области при длине волны 286 нм представлены в таблице 2.

Таблица 2. – Результаты исследования количественного содержания суммы тритерпеновых сапонинов в образцах коры осины обыкновенной и в выделенных и очищенных фракциях в пересчете на бетулин методом спектрофотометрии в ультрафиолетовой области

№ образца	Результаты определения суммы тритерпеновых сапонинов в образце в пересчете на бетулин, %	Результаты определения суммы тритерпеновых сапонинов в выделенной и очищенной фракции в пересчете на бетулин, %
1	$4,7 \pm 0,3$	$60,4 \pm 1,5$
2	$5,5 \pm 0,2$	$62,6 \pm 2,1$
3	$6,2 \pm 0,2$	$63,7 \pm 2,6$

Полученные значения согласуются с другими литературными источниками по стандартизации бетулинсодержащего ЛРС методом спектрофотометрии в ультрафиолетовой области [9, 10].

Во всех выделенных и очищенных фракциях исследуемых образцов осины обыкновенной получены значения содержания (выхода) суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на бетулин, превышающие 60%, что указывает на возможность использования коры осины обыкновенной в качестве перспективного источника данной группы биологически активных веществ и, в частности, бетулина (таблица 2) [9, 10].

Ввиду недостаточной специфичности количественного определения бетулина методом спектрофотометрии в ультрафиолетовой области, методика обнаружения бетулина методом тонкослойной хроматографии может использоваться в качестве дополнительной характеристической методики (метод «отпечатка пальца») при проведении фитохимической характеристики коры осины обыкновенной и исследовании стабильности ЛРС.

Таким образом, в коре осины обыкновенной обнаружен бетулин, который может быть рекомендован в качестве аналитического маркера для оценки качества ЛРС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Методом тонкослойной хроматографии в коре осины обыкновенной обнаружен и идентифицирован бетулин.

2. Бетулин рекомендован в качестве аналитического маркера при оценке качества коры осины обыкновенной методом тонкослойной хроматографии в совокупности с результатами испытаний макроскопического и микроскопического анализа.

3. Показана перспективность применения тонкослойной хроматографии для идентификации и оценки степени очистки бетулина при его выделении из коры осины обыкновенной.

4. Экстракцией бинарной (двухфазной) смесью бутанола и воды получены очищенные фракции, содержащие 60–63% бетулина, при исходном содержании бетулина в коре осины обыкновенной 4,7–6,2%.

SUMMARY

V. A. Yorshyk

THE USE OF BETULIN AS AN ANALYTICAL MARKER IN THE QUALITY ASSESSING OF COMMON ASPEN BARK

Due to the need of expanding the range of domestic medicines based on medicinal raw material, the development of herbal medicines and dietary supplements derived from *Populus tremula* (common aspen) bark is highly relevant. When assessing the quality of this new type of medicinal raw material, it is essential to identify its phytochemical profile (chemical composition) by identifying markers reflecting both the quality of the raw material and its potential pharmacological activity. This study aims to experimentally validate suitability of betulin identification as an analytical marker for evaluating the quality of common aspen bark.

Using thin-layer chromatography betulin – a pentacyclic triterpenoid saponin of the lupane group – was detected and identified in the bark of common aspen.

Betulin is proposed as an analytical marker for the quality assessment of *Populus tremula* bark by a thin-layer chromatography method. Aspen bark contains triterpenoid saponins and consequently represents a promising source of the given class of biologically active substances, and particularly betulin.

Extraction with a binary (two-phase) mixture of butanol and water yielded purified

fractions containing 60–63% betulin, with its initial content being 4.7–6.2% in the bark of common aspen.

Keywords: Common aspen, *Populus tremula* L., bark, triterpene saponins, betulin.

ЛИТЕРАТУРА

1. Единый реестр свидетельств о государственной регистрации. – URL: <https://nsi.eaeunion.org/portal/1995?searchText=&date=2024-11-30> (дата обращения: 11.04.2025).

2. О Руководстве по оценке качества лекарственных препаратов на основе комбинаций лекарственного растительного сырья и (или) растительных фармацевтических субстанций (препаратов на основе лекарственного растительного сырья) : рекомендация Коллегии Евраз. экон. комис. от 25 мая 2021 г. № 8 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – URL: <https://pravo.by/document/?guid=3871&p0=F02100143> (дата обращения: 11.04.2025)

3. О Руководстве по выбору тестов и критериев приемлемости для составления спецификаций на лекарственное растительное сырье, растительные фармацевтические субстанции (препараты на основе лекарственного растительного сырья) и лекарственные растительные препараты : рекомендация Коллегии Евраз. экон. комис. от 12 февр. 2019 г. № 6 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – URL: <https://pravo.by/document/?guid=3871&p0=F01900042> (дата обращения: 11.04.2025)

4. Осина обыкновенная как перспективный источник получения препаратов противоязвенного и противовоспалительного действия / В. Ф. Турецкова, И. Ю. Лобанова, С. С. Рассыпнова, Н. М. Талыкова // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – Т. 10, № 5. – С. 106–111. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/osina-obyknovennaya-kak-perspektivnyy-istochnik-polucheniya-preparatov-protivoyazvennogo-i-protivovospalitelnogo-deystviya> (дата обращения: 06.07.2025).

5. Макарова, О. Г. Валидация методики определения фенологликозидов в сухом экстракте коры осины / О. Г. Макарова, В. Ф. Турецкова, Л. Е. Кудрикова // Фармация. – 2012. – № 6. – С. 15–17.

6. Кирпиченок, А. М. Скрининг биологически активных веществ коры осины обыкновенной *Populus tremula* L. Сообщение 1 / А. М. Кирпиченок, Н. А. Шевченко, О. А. Ёршик // Сборник тезисов 86-ой Международной научно-практической конференции Студенческого научного общества им. проф. Н. П. Пятницкого (г. Краснодар, 16–17 апреля 2025 г. / под ред. С. Н. Алексеенко, А. Н. Редько, С. Е. Бай-

бакова. – Краснодар: Кубанский гос. мед. ун-т, 2025. – С. 1576–1579.

7. Разработка одностадийного способа получения аллобетулина из бересты коры березы и изучение его антиоксидантной активности / Е. С. Скурыдина, Н. Ю. Васильева, С. А. Кузнецова [и др.] // Химия растительного сырья. – 2023. – № 3. – С. 243–252. – DOI: 10.14258/jcprm.20230313179.

8. Выделение бетулина из бересты Березы и изучение его физико-химических и фармакологических свойств / С. А. Кузнецова, Г. П. Скворцова, Ю. Н. Маляр [и др.] // Химия растительного сырья. – 2013. – № 2. – С. 93–100. – DOI: 10.14258/jcprm.201302093.

9. Betulin and its derivatives as novel compounds with different pharmacological effects / S. Amiri, S. Dastghaib, M. Ahmadi [et al.] // Biotechnology advances. – 2020. – Vol. 38. – Art. 107409. – DOI: 10.1016/j.biotechadv.2019.06.008.

10. Лигостаева, Ю. В. Исследование динамики бетулина в бересте / Ю. В. Лигостаева, М. А. Ханина, А. П. Родин // Известия гос. гуманитарно-технол. ун-та. Медицина, фармация. – 2021. – № 3. – С. 35–44.

REFERENCES

1. Unified Register of State Registration Certificates. URL: <https://nsi.eaeunion.org/portal/1995?searchText=&date=2024-11-30> (data obrashcheniia: 11.04.2025). (In Russ.)

2. On the Guidelines for the Assessment of the Quality of Medicinal Products Based on Combinations of Herbal Medicinal Raw Materials and/or Herbal Pharmaceutical Substances (Preparations Based on Herbal Medicinal Raw Materials): rekomendatsiia Kollegii Evraz ekon komis ot 25 maia 2021 g № 8. Natsional'nyi pravovoi Internet-portal Respubliki Belarus'. URL: <https://pravo.by/document/?guid=3871&p0=F02100143> (data obrashcheniia: 11.04.2025). (In Russ.)

3. On the Guidelines for the Selection of Tests and Acceptance Criteria for the Preparation of Specifications for Herbal Medicinal Raw Materials, Herbal Pharmaceutical Substances (Preparations Based on Herbal Medicinal Raw Materials) and Herbal Medicinal Products: rekomendatsiia Kollegii Evraz ekon komis ot 12 fevr 2019 g № 6. Natsional'nyi pravovoi Internet-portal Respubliki Belarus'. URL: <https://pravo.by/document/?guid=3871&p0=F01900042> (data obrashcheniia: 11.04.2025). (In Russ.)

4. Turetskova VF, Lobanova Iu, Rassypnova SS, Talykova NM. Common aspen as a promis-

ing source for obtaining antiulcer and anti-inflammatory drugs. Biulleten' sibirskoi meditsiny. 2011;10(5):106–11. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/osina-obyknoennaya-kak-perspektivnyy-istochnik-polucheniya-preparatov-protivoyazvennogo-i-protivovospalitel'nogo-deystviya> (data obrashcheniia: 06.07.2025). (In Russ.)

5. Makarova OG, Turetskova VF, Kudrikova LE. Validation of the method for determining phenolic glycosides in dry extract of aspen bark. Farmatsiia. 2012;(6):15–7. (In Russ.)

6. Kirpichenok AM, Shevchenko NA, Ershik OA. Screening of biologically active substances from the bark of common aspen *Populus tremula* L. Report 1. V: Alekseenko SN, Red'ko AN, Baibakov SE, redaktory. Sbornik tezisev 86-oi Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii Studencheskogo nauchnogo obshchestva im. prof NP Piatnitskogo (g Krasnodar, 16–17 apreliia 2025 g. Krasnodar, RF: Kubanskii gos med un-t; 2025. s. 1576–9. (In Russ.)

7. Skurydina ES, Vasil'eva Nlu, Kuznetsova SA, Titova NM, Kuznetsov BN. Development of a one-stage method for obtaining allobetulin from birch bark and study of its antioxidant activity. Khimiia rastitel'nogo syr'ia. 2023;(3):243–52. doi: 10.14258/jcprm.20230313179. (In Russ.)

8. Kuznetsova SA, Skvortsova GP, Maliar IuN, Skurydina ES, Veselova OF. Isolation of betulin from birch bark and study of its physicochemical and pharmacological properties. Khimiia rastitel'nogo syr'ia. 2013;(2):93–100. doi: 10.14258/jcprm.201302093. (In Russ.)

9. Amiri S, Dastghaib S, Ahmadi M, Mehrbod P, Khadem F, Behrouj H, et al. Betulin and its derivatives as novel compounds with different pharmacological effects. Biotechnol Adv. 2020;38(Art 107409). doi: 10.1016/j.biotechadv.2019.06.008

10. Ligostaeva IuV, Khanina MA, Rodin AP. Study of betulin dynamics in birch bark. Izvestiia gos humanitarno-tekhnol un-ta. Meditsina, farmatsiia. 2021;(3):35–44. (In Russ.)

Адрес для корреспонденции:

220116, Республика Беларусь,
г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, корп. 15,
УО «Белорусский государственный
медицинский университет»,
кафедра организации фармации
с курсом повышения квалификации
и переподготовки,
тел. раб.: +375295908290,
e-mail: Olgaugtugnoz@mail.ru,
Ёршик О. А.

Поступила 21.04.2025 г.