

Рекомендована д-м фармац. наук, проф. Л. С. Фірою

УДК 615.07 : 582.623.2 : 615.322 : 581.4 : 581.8

## СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЛИСТЯ ТОПОЛІ КИТАЙСЬКОЇ

© А. М. Рудник, Н. В. Бородіна, В. М. Ковальов, Н. О. Волкова

Національний фармацевтичний університет, Харків

**Резюме:** встановлені основні морфолого-анатомічні діагностичні ознаки листя тополі китайської. Визначенні числові показники сировини: вміст домішок, втрата в масі при висушуванні не більше 12%, загальна зола не більше 10%, зола не розчинна у кислоті хлористоводневій не більше 3%. Запропоновані методи ідентифікації і визначення вмісту діючих речовин: вміст суми флавоноїдів не менше 2%, суми гідроксикоричних кислот не менше 3%.

**Ключові слова:** тополя китайська, *Populus simonii* Carr., листя, анатомічна, морфологічна будова, ідентифікація, числові показники.

**Вступ.** Тополя китайська – *Populus simonii* Carr. дерево з родини Вербові (*Salicaceae*), яке широко культивується в Україні і використовується здебільшого у зеленому будівництві. Рослина надзвичайно швидко росте (особливо молоді пагони) і може культивуватись виключно для одержання лікарської сировини (бруньки, листя, кора). Фармакологічні дослідження, проведенні у Національному фармацевтичному університеті, показали, що екстракти отримані з листя тополі китайської, проявляють виражені протизапальні, анальгетичні, діуретичні, антимікробні властивості [3] і сировина є перспективною для створення нових лікарських засобів.

Для розширення номенклатури лікарської рослинної сировини, з достатньою сировинною базою в Україні, ми вважали за доцільне стандартизувати листя тополі китайської. Тому метою нашої роботи стало встановлення основних параметрів стандартизації листя тополі китайської.

**Методи дослідження.** Об'єктом дослідження було листя тополі китайської, яке заготовляли у травні – вересні 2009 р. у ботанічному саду Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна з молодих та старих гілок. Мікропрепарати готували зі свіжозібраної, фіксованої спирто – водно – гліцериною сумішшю (1:1:1) та висушеної сировини за загальноприйнятими методами [1, 2, 4]. Як просвітлюючу рідину використовували розчин хлоралгідрату та 3% розчин лугу. Зрізи робили лезом від руки, мікропрепарати досліджували під мікроскопом "Гранум", результати фіксували фотоапаратом Canon Power Shot A610 та камерою Digital Camera DCE-2.

Для проведення якісних *реакцій ідентифікації* БАР використовували екстракт із листя, приготований для визначення вмісту флавоноїдів. Наявність фенольних сполук підтверджували при додаванні до розчину 2-3 крапель розчину

заліза III хлориду, флавоноїдів за ціанідиновою реакцією за Бріантом.

Визначення *втрати в масі при висушуванні* проводили за методикою, наведеною у ДФУ 2001, п. 2.2.32., 1 г здрібненої на порошок сировини (ДФУ 2001 п. 2.9.12) поміщали у зважений бюкс, попередньо висушений до постійної маси і сушили у сушильній шафі при температурі  $(105 \pm 2)^\circ\text{C}$  протягом 2 год до постійної маси. Охолоджували в ексікаторі над силікагелем безводним і зважували.

Визначення *загальної золи* проводили за методикою ДФУ 2001, п. 2.4.16, *золи нерозчинної в кислоті хлористоводневій* за ДФУ 2008, п. 2.8.

Визначення *вмісту суми гідроксикоричних кислот*: 2,5 г (точну наважку) подрібненої до розміру часток, що проходять крізь сито № 2000, сировини поміщали в колбу місткістю 250 мл і додавали 60 мл 20% спирту етилового. Колбу приєднували до зворотного холодильника і нагрівали на киплячій водяній бані протягом 15 хвилин. Екстракцію проводили ще двічі. Екстракти об'єднували і після охолодження фільтрували крізь паперовий фільтр. Витяг кількісно переносили в мірну колбу місткістю 250 мл і доводили об'єм розчину до мітки (розчин В). У мірну колбу місткістю 50 мл вносили 1 мл розчину В і доводили розчин до мітки 20 % спиртом етиловим. Оптичну густину отриманого розчину вимірювали при довжині хвилі 327 нм. Розчин порівняння – 20 % спирт етиловий. Вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту і абсолютно сухий екстракт обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot 200 \cdot 50 \cdot 100}{E_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot a_1 \cdot 1 \cdot (100 - W)},$$

де  $A_1$  – оптична густина досліджуваного розчину;  $a_1$  – наважка екстракту, г;  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  – питомий

показник поглинання хлорогенової кислоти (531);  $W$  – втрата у масі при висушуванні, %.

Визначення *вмісту суми флавоноїдів*: 1 г (точну наважку) сировини, подрібненої до розміру часток, що проходять крізь сито № 2000, поміщали у колбу зі шліфом місткістю 100 мл, додавали 30 мл 70% спирту етилового. Колбу зважували (з похибкою  $\pm 0,01$  г), приєднували до зворотного холодильника і нагрівали на водяній бані протягом 2 год, періодично збовтуючи. Після охолодження доповнювали втрату у масі 70 % спиртом етиловим до попередньої маси, настоювали протягом 1 год, фільтрували крізь сухий паперовий фільтр в суху колбу (розчин А).

У мірну колбу на 25 мл вміщували 1 мл розчину А, 1 мл 2% спиртового розчину алюмінію хлориду, 1-2 краплі розведеної кислоти оцтової і доводили об'єм розчину 96% спиртом етиловим до мітки. Через 60 хв вимірювали оптичну густину розчину на спектрофотометрі при довжині 410 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як роз-

чин порівняння використовували розчин, що складався з 2 мл розчину А, 1-2 крапель розведеної кислоти оцтової доведений 96% спиртом етиловим до мітки у мірній колбі місткістю 25 мл. Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на рутин і абсолютно сухий екстракт, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot 30 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot (100 - W)},$$

де  $A_1$  – оптична густина досліджуваного розчину;  $A_0$  – оптична густина розчину ДСЗ рутину,  $a$  – маса екстракту, г;  $a_0$  – маса ДСЗ рутину, г;  $W$  – втрата в масі при висушуванні, г.

**Результати й обговорення.** Для листя тополі китайської характерний листовий поліморфізм залежно від віку рослини (рис. 1). У таблиці 1 наведені морфологічні відмінності листків молодих (видовжених) і старих (вкорочених) гілок тополі китайської.

Таблиця 1. Морфологічні відмінності листків тополі китайської

Ознака	Листки видовжених гілок	Листки вкорочених гілок
Форма листової пластинки	Ромбічно-еліптична, яйцеподібна	Зворотно-яйцеподібна, ромбічно-еліптична, еліптична
Розмір листової пластинки	Найширша у середній частині, завдовжки 10 – 20 см, завширшки 7 – 13 см	Найширша у верхній або середній частині, завдовжки 6 – 8 см, завширшки 3 – 5 см
Форма основи	Клиноподібна, іноді округла або серцеподібна	Гостроклиноподібна
Форма верхівки	Короткозагострена, загострена	Короткозагострена з клиноподібною верхівкою
Форма краю листової пластинки	Дрібнозубчато-пилчастий, верхівка зубчиків бура	Дрібнозубчато-пилчастий
Колір і поверхня листової пластинки	Зверху – блискуча, зелена знизу – біляво-зелена, матова	Зверху – блискуча, шкіряста, ясно-зелена; знизу – біляво-сірувато-зелена, матова з жовтими смолистими смужками
Колір і розміри черешка	Короткочерешкові, черешок і центральна жилка зверху червоні	Довгочерешкові, черешок і центральна жилка зверху іноді червонуваті

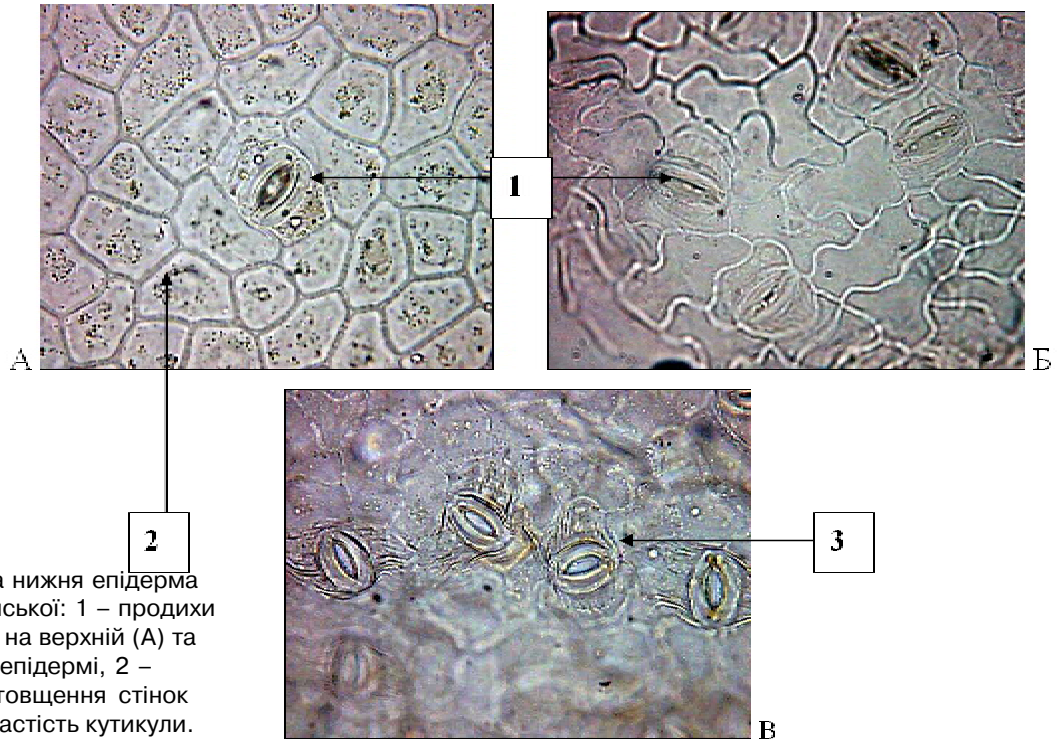


Рис. 1. Листковий поліморфізм тополі китайської.

Для листя встановленні такі *морфологічні діагностичні ознаки*: цільні або частково здрібнені прості, черешкові листки від зворотно-яйцеподібної до ромбічно-еліптичної форми, завдовжки 6–12 см, завширшки 3–8 см, з гостроклиноподібною іноді округлою основою та короткозагостреною клиноподібною верхівкою, дрібнозубчато-пилчастим краєм та перистосітчастим жилкуванням. Верхня сторона листової пластинки шкіряста, блискуча, ясно-зеленого кольору з червонуватими жилками, нижня сторона матова, біляво-сірувато-зелена, з виступаючими жилками та жовтими смоляними смугами або краплями. Черешок 2–5 см, циліндричний, на верхній стороні з рівчаком, голий, блискучий, червоний. На смак гіркуваті; запах своєрідний, посилюється при зволоженні.

Мікроскопічний аналіз листя тополі китайської показав, що клітини верхньої епідерми багатокутні (4 – 7-кутні), з гладкою, добре помітною кутикулою, стінки клітин прямі, чоткоподібнопотовщені. Вздовж великих жилок розміщені виступаючі, овальні прориси паразитного типу, замикаючі

клітини човникоподібної форми, внутрішні стінки потовщені, продихова щілина веретеноподібна (рис. 2, А). Клітини над жилками видовжені, прямокутної форми, упорядковані рядами. По краю листової пластинки та над жилками (рис. 2, А, Б) розміщені численні трихоми.

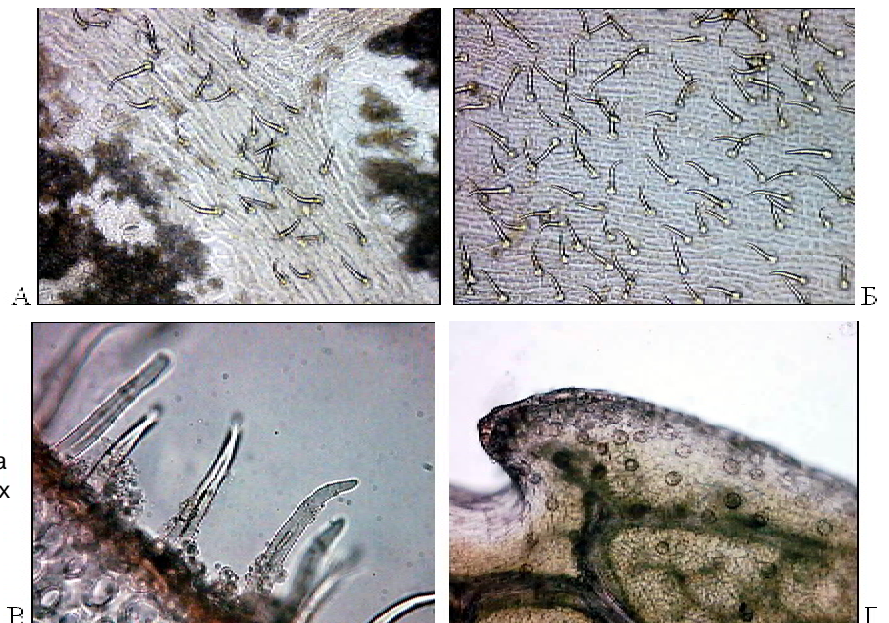


**Рис. 2.** Верхня та нижня епідерма листка тополі китайської: 1 – прориси паразитного типу на верхній (А) та нижній (Б, В) епідермі, 2 – чоткоподібне потовщення стінок клітин, 3 – складчастість кутикули.

Трихоми прості, одноклітинні, гостроконусоподібні, розширені біля основи (зовні нагадують цвяхи), стінки рівномірно потовщені, з гладкою поверхнею (рис. 3, В). У місці прикріплення трихоми оточені розеткою з 6 – 8 епідермаль-

них клітин. Часто трихоми по краю листової пластинки обламані (рис. 3, Г).

Нижня епідерма представлена звивистостінними клітинами з рівномірно потовщеними стінками, без трихом з численними виступаючи-



**Рис. 3.** Трихоми листка тополі китайської: А, Б – прості волоски на центральній (Б) та бічних (А) жилках верхньої епідерми; В – прості товстостінні волоски; Г – край листової пластинки, місця прикріплення волосків.

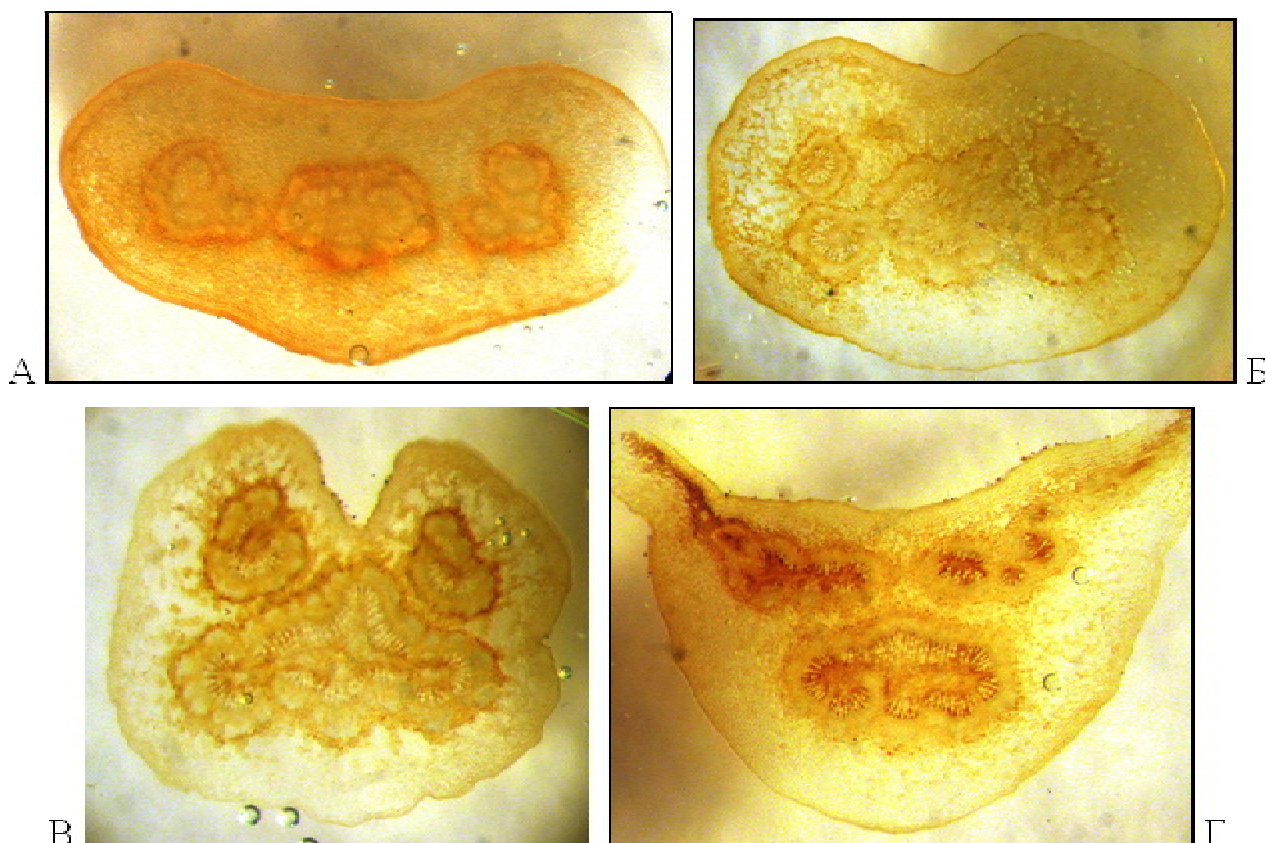


ми, овальними продихами парацитного типу, різного розміру (рис. 2, Б). Кутикула діаметрально-протилежно-прилеглих до продиху клітин має добре помітну променево складчатість. Продихи часто розміщені ланцюгом по 3 – 6 штук (рис. 2, В).

Листкова пластинка дорзовентрального типу будови. Мезофіл листка складається з дворядної палисадної паренхіми, клітини її вузькі, короткі, щільно зімкнені. Губчаста паренхіма

дрібноклітинна з невеликими міжклітинниками, складає шість-сім рядів. У мезофілі знаходяться багаточисельні клітини з друзами оксалату кальцію.

Від стебла до трикутно-овальної основи потовщеної листкової подушечки листа тополі китайської входять три великі, майже рівні концентричні провідні пучки, розміщені по прямій. Середній – овальної форми, бічні майже округлі (рис. 4, А).



**Рис. 4.** Будова черешка листка тополі китайської: А – в місці прикріплення до гілочки; Б – 1/4 від місця прикріплення черешка; В – середина черешка; Г – при входженні у листкову пластинку.

У міру переходу до основного черешка вони починають швидко ділитися на дрібніші: середній на 3 – 4, бічні – на два, що розміщуються один над іншим, при чому верхній провідний пучок менший, черешок стає овальної форми з борозенкою зверху (рис. 4, Б). Така будова черешка зберігається до 1/4 його довжини. Потім середній провідний пучок об'єднується з нижніми бічними, набуваючи трикутно-овальної форми, а верхні розташовуються ближче до верхньої частини черешка. Черешок набуває округлої форми з глибокою борозенкою у верхній частині (рис. 4, В). При переході у листкову пластинку верхні пучки діляться на 3 – 4 більш дрібних, а нижній набуває овальної форми (рис. 4, Г). Черешок вкритий прямоствінною, комбінованою прямокутно-бага-

тогранною епідермою з чоткоподібно потовщеними стінками клітин, продихи не виявлено.

При переході в листкову пластинку провідні пучки черешка розташовуються по колу, утворюючи багатопучкову центральну жилку. Провідні пучки центральної і бічних жилок колатеральні. Під епідермою центральної жилки спостерігається 4 – 5 шарів кутової коленхіми. Клітини основної паренхіми великі, округлої форми з чисельними друзами. Ксилема в них променево, серцевинні промені однорядні, їх клітини заповнені брунатним вмістом. Флоема потужна, дрібноклітинна. Склеренхіма, яка прилягає до флоєми, також чисельна, супроводжується кристалоносною обкладкою, клітини якої дрібні, щільно прилягаючі, заповнені брунатним

вмістом. Бічні жилки дрібні, провідні елементи в них малочислені, але вони оточені склеренхімою і повністю кристалоносною обкладкою.

При проведенні якісних ревакцій з розчином заліза III хлориду спиртові екстракти з листя давали брудно-зелене забарвлення при додаванні реактиву, що вказує на наявність фенольних сполук. Продукт ціанідинової реакції, за яким ідентифікували наявність флавоноїдів, мав рожеве забарвлення, а при додаванні октанолу органічний та водний шар забарвлювались приблизно однаково.

Встановлені такі числові показники: почорнілих і побурілих листків не більше 5%, інших частин рослини (гілочок та ін.) не більше 3%, інших сторонніх домішок не більше 2%. Втрата в масі при висушуванні не більше 12%, загальної золи не більше 10%, золи нерозчинної в

хлористоводневій кислоті не більше 3%. Суми флавоноїдів у перерахунку на рутин не менше 2%, а суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту не менше 3%.

**Висновки.** 1. Вперше проведено вивчення анатомічної будови листя тополі китайської. Встановлені основні морфолого-анатомічні діагностичні ознаки сировини.

2. Запропоновані методи ідентифікації БАР сировини. Вперше встановлені числові показники: втрата в масі при висушуванні, вміст загальної і нерозчинної в кислоті хлористоводневій золи та параметри доброякісності сировини: вміст суми флавоноїдів і гідроксикоричних кислот та домішок.

3. Результати проведенних досліджень використанні при розробці проекту МКЯ "Листя тополі китайської".

### Література

1. Атлас по анатомии растений (растительная клетка, ткани, органы) / А. Г. Сербин, Л. С. Карамазова, В. П. Руденко, Т. Н. Гонтовая. – Х. : Колорит, 2006. – 86 с.
2. Практикум по фармакогнозии : учеб. пособие для студентов / В. Н. Ковалев, Н. В. Попова, В. С. Кисличенко и др. – Х. : Изд-во НФаУ; Золотые страницы, 2003. – 512 с.
3. Рудник А. М. Фармакогностичне дослідження баль-

замічних тополь флори України : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня. канд. фарм. наук : спец. 15.00.02 "Фармацевтична хімія та фармакогнозія" / А. М. Рудник. – Х., 2011. – 20 с.

4. Самылина И. А. Фармакогнозия : атлас : в 3 т. / И. А. Самылина, О. Г. Аносова. – М. : Геотар-медиа. – 2007. Т. 1 – 192 с. ; Т. 2. – 384 с

## СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЛИСТЬЕВ ТОПОЛЯ КИТАЙСЬКОГО

**А. М. Рудник, Н. В. Бородина, В. Н. Ковалев, Н. А. Волкова**

*Национальный фармацевтический университет, Харьков*

**Резюме:** установленны основные морфолого-анатомические диагностические признаки листьев тополя китайского. Определены числовые показатели сырья: содержание примесей, потеря в массе при высушивании не больше 12%, общая зола не больше 10%, зола не растворимая в кислоте хлористоводородной не больше 3%. Предложены методы идентификации и определения содержания действующих веществ в сырье: суммы флавоноидов не меньше 2%, суммы гидроксикоричных кислот не меньше 3%.

**Ключевые слова:** тополь китайский, *Populus simonii* Carr, листья, анатомическое, морфологическое строение, идентификация, числовые показатели.

## STANDARDIZATION OF LEAVES OF CHINESE POPLAR

**A. M. Rudnik, N. V. Borodina, V. M. Kovalyov, N. O. Volkova**

*National Pharmaceutical University, Kharkiv*

**Summary:** main morphological-anatomical diagnostic features of Chinese poplar leaves were established. There were determined the numerical indices of raw material: the amount of impurities, the loss in weight under drying not more than 12%, total ash not more than 10%, ash insoluble in hydrochloric acid not more than 3%. There were presented the methods for identification and content of active substances: amount of flavonoids not less than 2%, amount of hydroxycinnamic acids not less than 3%.

**Key words:** Chinese poplar, *Populus simonii* Carr., leaves, anatomical, morphological structure, identification, numerical indices.