

## СТАНДАРТИЗАЦІЯ СУХИХ ЕКСТРАКТІВ З БРУНЬОК ТА ЛИСТЯ ТОПОЛІ КИТАЙСЬКОЇ

© А. М. Рудник, Н. В. Бородіна, В. М. Ковальов, К. Л. Гляпа

Національний фармацевтичний університет, Харків

**Резюме:** з бруньок і листя тополі китайської отримано сухі екстракти, вихід склав 17 і 32 % відповідно. Екстракти повинні містити суми флавоноїдів у перерахунку на рутин та суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту не менше ніж 5 і 22 % у екстракті з бруньок і 5 і 7 % у екстракті з листя. Втрата в масі при висушуванні не перевищувала 5 %, вміст залишкових розчинників (хлороформ, спирт етиловий), вміст важких металів, мікробіологічна чистота відповідають вимогам ДФУ. Вміст загальної золи і золи нерозчинної у кислоті хлористоводневій у сухому екстракті з бруньок склав 5,5 і 0,7 %, у екстракті з листя – 9,5 і 1,7 % відповідно.

**Ключові слова:** сухий екстракт, стандартизація, бруньки, листя, тополя китайська, *Populus simonii* Carr.

**Вступ.** Тополя китайська (*Populus simonii* Carr.) дерево з родини Вербові (*Salicaceae*), секції бальзамічні тополі (*Tasamahaca* Spach.), яка широко культивується на території України. Здебільшого рослину використовують у зеленому будівництві, а в алейних насадженнях часто зустрічається більш декоративна пірамідальна форма – *Populus simonii* Carr. var. *fastigiata* Schneid.

Хімічний склад бруньок і листя тополі китайської представлений широким спектром біологічно активних речовин і насамперед фенольних сполук [3], які зумовлюють високу антимікробну, протизапальну, анальгетичну, діуретичну, репаративну активність сировини і субстанцій отриманих на її основі [4].

На кафедрі фармакогнозії Національного фармацевтичного університету розроблено технології одержання сухих екстрактів з бруньок і листя тополі китайської, які дозволяють максимально перевести в готовий продукт весь комплекс біологічно активних речовин і як наслідок повністю реалізувати терапевтичний потенціал рослини. Мета роботи – стандартизація одержаних сухих екстрактів з бруньок і листя тополі китайської.

**Методи дослідження.** Об'єкт дослідження – сухий екстракт бруньок і сухий екстракт з листя тополі китайської, отриманні згідно із способами, захищеними патентами України на корисні моделі [1, 2].

З метою стандартизації в умовах лабораторії з урахуванням усіх технологічних параметрів одержано по 5 серій екстрактів.

Для проведення якісних реакцій ідентифікації БАР 0,2 г сухого екстракту розчиняли у 10 мл

50 % спирту етилового, при необхідності розчин фільтрували крізь сухий паперовий фільтр. Наявність фенольних сполук підтверджували при додаванні до розчину 2–3 крапель розчину заліза III хлориду, флавоноїдів за ціанідиновою реакцією за Бріантом.

Розчинність сухих екстрактів визначали за методикою ДФУ 2001, п. 1.4.

Визначення втрати в масі при висушуванні проводили за методикою, наведеною у ДФУ 2001, п. 2.2.32. Близько 0,5 г (точна наважка) здрібненого на тонкий порошок екстракту сушили у сушильній шафі при температурі від 100 до 105 °С протягом 3 годин. Охолоджували в ексикаторі над фосфору (V) оксидом Р і зважували.

Вміст залишкових розчинників визначали методом газової хроматографії: хлороформу у сухому екстракті з бруньок за методикою ДФУ 2004, п. 2.2.24, а спирту етилового у сухому екстракті з листя за методикою ДФУ 2001, п. 2.2.28.

Визначення загальної золи проводили за методикою ДФУ 2001, п. 2.4.16, золи нерозчинної у кислоті хлористоводневій за ДФУ 2008, п. 2.8., важких металів за методикою ДФУ 2008, п. 2.4.27.

Мікробіологічну чистоту екстрактів визначали за методикою, наведеною у ДФУ 2001, п. 2.6.12, п. 2.6.13.

Визначення вмісту суми гідроксикоричних кислот: 0,1 г (точну наважку) сухого екстракту поміщали у мірну колбу на 50 мл, додавали 50 % спирт етиловий до мітки. За необхідності розчин фільтрували через сухий паперовий фільтр в суху колбу (розчин В). В мірну колбу місткістю 50 мл (сухий екстракт з бруньок) або 25 мл (сухий екстракт з листя) вносили 1 мл розчину В і доводили розчин до мітки 20 % спиртом етило-

вим. Оптичну густина 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:

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

де  $A_1$  – оптична густина досліджуваного розчину;  $a_1$  – наважка екстракту, г;  $E_{1\text{см}}^{1\%}$  – питомий показник поглинання хлорогенової кислоти (531);  $W$  – втрата у масі при висушуванні, %.

Визначення вмісту суми флавоноїдів: 0,1 г (точну наважку) екстракту поміщали у мірну колбу місткістю 50 мл, доводили до позначки 70 % спиртом етиловим. Розчиняли, за необхідності фільтрували через сухий паперовий фільтр (розчин А).

У мірну колбу на 25 мл вміщували 2 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 густина розчину на спектрофотометрі при довжині 410 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин 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:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot 50 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 2 \cdot (100 - W)},$$

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.** Практичний вихід сухих екстрактів, одержаних склав: з бруньок 17 %, з листя – 32 %.

Сухі екстракти являють собою гігроскопічні порошки коричневого (бруньки) чи гірчично-зеленуватого (листя) кольору зі специфічним запахом, гіркі на смак. Екстракт з бруньок – малорозчинний у воді, легкорозчинний у 40–96 % спирті етиловому, екстракт з листя – легкорозчинний у 40–80 % спирті етиловому та киплячій воді. Обидва екстракти практично нерозчинні в органічних розчинниках.

При проведенні якісних ревакцій з розчином заліза ІІІ хлориду обидва екстракти давали брудно-зелене забарвлення при додаванні реактиву, що вказує на наявність фенольних сполук. Продукт ціанідинової реакції, за яким ідентифі-

кували наявність флавоноїдів, з екстрактом із бруньок мав рожево-жовте забарвлення, тоді як при проведенні реакції з екстрактом із листя утворювалось рожеве забарвлення, при додаванні октанолу органічний та водний шар забарвлювались приблизно однаково.

Втрата в масі при висушуванні для сухих екстрактів не перевищувала 5 % і склала: 3,8–4,3 % і 4,0–4,5 % (з бруньок і з листя відповідно).

Оскільки при отриманні екстрактів використовували органічні розчинники, які мають токсичний вплив на організм людини, ми вважали за доцільне стандартизувати екстракт з бруньок, зокрема, за показником залишкова кількість розчинників, вміст яких не перевищив норми, закладені у ДФУ і склав: хлороформ – 0,18 %, спирт етиловий – 0,73 %.

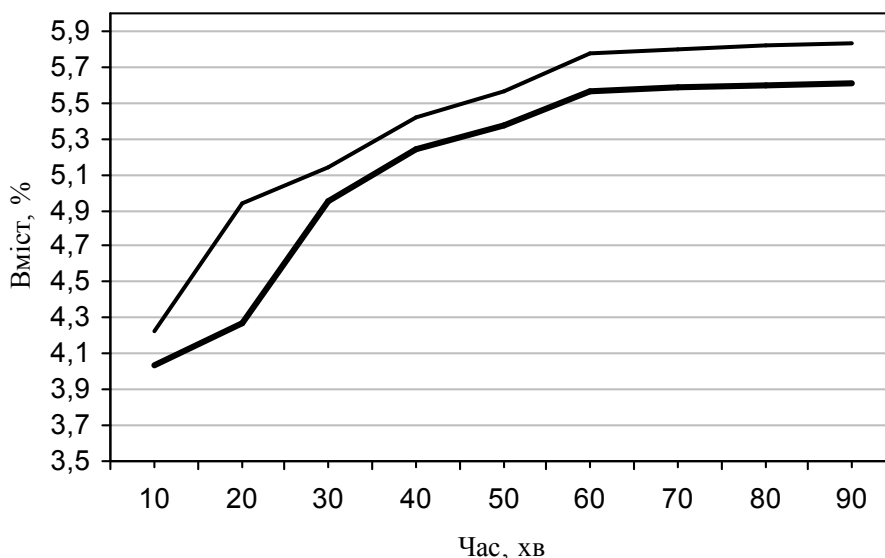
За показниками вміст важких металів та мікробіологічна чистота отримані екстракти також відповідали вимогам, які висуває ДФУ, а саме: важких металів – <0,001 %, менше 100 мікроорганізмів, у тому числі і грибів в 1 г екстракту і відсутність бактерій родини Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa і Staphylococcus aureus.

Вміст загальної золи і золи нерозчинної у кислоті хлористоводневій у сухому екстракті з бруньок склав 5,5 і 0,7%, у екстракті з листя – 9,5 і 1,7 % відповідно.

Вибір як стандартних речовин для визначення кількісного вмісту БАР – рутину і кислоти хлорогенової зумовлений тим, що максимум поглинання комплексу рутину з алюмінію хлоридом у присутності кислоти оцтової має дуже близьке значення з максимумом поглинання комплексу, який утворюють флавоноїди в розчинах екстрактів з тим же комплексуютьцем, а максимумами поглинання кислоти хлорогенової майже збігаються з максимумами розчинів сухих екстрактів.

У ході розробки методики визначення вмісту флавоноїдів експериментально були встановлені параметри комплексотворення: кількість алюмінію хлориду (1, 2, 3, 4, 5 мл) і час комплексотворення (рис. 1).

Встановлено, що кількість алюмінію хлориду, достатня для зв'язування з флавоноїдами, складає 2 мл, а час максимального комплексотворення, як видно з рисунка 3, становить 60 хвилин. Вміст суми флавоноїдів у сухих екстрактах склав: з бруньок – 5,78 %, з листя – 5,56 %, а суми гідроксикоричних кислот: з бруньок – 22,93 %, з листя – 7,81 %. Як відомо, в рослинах вміст БАР значно залежить від часу збору сировини, погодних умов та інших факторів і може коливатись у широких межах, тому вміст суми флавоноїдів і суми гідроксикоричних кислот при стандартизації даних екстрактів має бути не мен-



**Рис. 1.** Кінетика утворення комплексу флавоноїдів з алюмінію хлоридом.

ше ніж 5 і 22 % у екстракті з бруньок і 5 і 7 % у екстракті з листя.

**Висновки.** 1. Вперше визначені параметри стандартизації одержаних сухих екстрактів із бруньок і листя тополі китайської. Ідентифікацію проводили за зовнішніми ознаками, наявністю гідроксикоричних кислот і флавоноїдів. Сухі екстракти мають містити суми флавоноїдів у перерахунку на рутин і суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту: з бруньок – не менше 5 і 22 %, з листя – не менше 5 і 7 % відповідно.

2. Визначені числові показники: втрата в масі при висушуванні не більше 5 %, вміст важких металів не менше 0,001%, залишкова кількість розчинників, зокрема, хлороформу у екстракті з бруньок та спирту етилового у екстракті з листя, мікробіологічна чистота в межах вимог, що висуваються ДФУ до сухих екстрактів.

3. Результати проведених досліджень використані при розробці методів контролю якості на дві нові перспективні лікарські субстанції: сухий екстракт з бруньок та сухий екстракт з листя тополі китайської.

#### Література

1. Патент № 56037 Україна, МПК А 61 К 36 / 76, А 61 Р 17 / 00, А 61 Р 29 / 00. Спосіб одержання біологічно активних речовин з антимікробною, протизапальною та репаративною активністю / Рудник А. М., Деркач Н. В., Ковальов В. М., Бородіна Н. В., Малоштан Л. М.; патенто власник Нац. фармац. ун-т. – № у 201006279; заявл. 25.05.2010; опубл. 27.12.2010, Бюл. № 24.

2. Патент № 56038 Україна, МПК А 61 К 36 / 76, А 61 К 127 / 00. Спосіб одержання засобу з протизапальною, анальгетичною та діуретичною активністю / Рудник А. М., Кравченко В. М., Ковальов В. М., Бородіна Н. В.,

Денис А. І., Грошовий Т. А.; патенто власник Нац. фармац. ун-т. – № у 201006280; заявл. 25.05.2010; опубл. 27.12.2010, Бюл. № 24.

3. Рудник А.М. Дослідження фенольних сполук тополі китайської (*Populus Simonii*) / А. М. Рудник, В. М. Ковальов, Н. В. Бородіна // Фармацевтичний часопис. – 2008. – № 4. – С. 37–40.

4. Рудник А. М. Фармакогностичне дослідження бальзамічних тополь флори України : автореф. дис. ... канд. фармац. наук : спец. 15.00.02 "Фармацевтична хімія та фармакогнозія" / А. М. Рудник. – Х., 2011. – 20 с.

## СТАНДАРТИЗАЦІЯ СУХИХ ЕКСТРАКТОВ ИЗ ПОЧЕК И ЛИСТЬЕВ ТОПОЛЯ КИТАЙСКОГО

**А. М. Рудник, Н. В. Бородіна, В. Н. Ковалев, К. Л. Гляпа**

*Национальный фармацевтический университет, Харьков*

**Резюме:** из почек и листьев тополя китайского получены сухие экстракты, выход составил 17 и 32 % соответственно. Экстракты содержат суммы флавоноидов в пересчете на рутин и суммы гидроксикоричных

кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту не менее 5 и 22 % в экстракте из почек и 5 % и 7 % в экстракте листьев. Потеря в массе при высушивании не превышала 5 %, содержание остаточных растворителей (хлороформ, этанол), содержание тяжелых металлов, микробиологическая чистота соответствуют требованиям ГФУ. Содержание общей золы и золы нерастворимой в кислоте хлористоводородной в сухом экстракте из почек составило 5,5 и 0,7 %, в экстракте листьев – 9,5 % и 1,7 % соответственно.

**Ключевые слова:** сухой экстракт, стандартизация, почки, листья, тополь китайский, *Populus simonii* Carr.

## STANDARDIZATION OF DRY EXTRACTS FROM BUDS AND LEAVES OF CHINESE POPLAR

A. M. Rudnyk, N. V. Borodina, V. M. Kovalyov, K. L. Hlyapa

*National Pharmaceutical University, Kharkiv*

**Summary:** the dry extracts from buds and leaves of chinese poplar were obtained, the output made 17 and 32 % respectively. Extracts contain amount of flavonoids, calculated on the rutin and amount of hydroxycinnamic acids calculated on the chlorogenic acid not less than 5 % and 22 % in the extracts from buds, 5 % and 7 % in the extract from leaves. The loss in weight under drying was less than 5 %, of residual solvents (chloroform, ethanol), heavy metals, microbiological purity that satisfies the requirements of State Pharmacopeia of Ukraine. Content of total ash and ash insoluble in hydrochloric acid in the dry extract of buds was 5,5 % and 0,7 % in the extract of the leaves – 9,5 % and 1,7 % respectively.

**Key words:** dry extract, standardization, buds, leaves, Chinese poplar, *Populus simonii* Carr.