

УДК 615.451.16:581.45:582.734.6:577.114:615.014.2:615.015.35

О.А. Пузак, Л.В. Упир, В.С. Кисличенко, Л.В. Галузінська, Г.Б. Кравченко

Національний фармацевтичний університет

ОДЕРЖАННЯ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ АБРИКОСА ЗВИЧАЙНОГО

З листя різних сортів *Armeniaca vulgaris* Lam. було отримано сухі екстракти. Вихід склав близько 16%. Готовий екстракт містить не менше, ніж 6% полісахаридів, 5% окиснених поліфенольних сполук, 0,4% флавоноїдів у перерахунок на рутин, гідроксикоричних кислот у перерахунок на хлорогенову кислоту – не менше 0,8%. Втрата в масі при висушуванні не перевищувала 5%. Вміст важких металів не перевищував 0,001%, що відповідає вимогам ДФУ. Також були визначені LD_{50} досліджуваних субстанцій при пероральному введенні, що дозволяють віднести їх відповідно до класифікації К.К. Сидорова до класу практично нетоксичних сполук.

Ключові слова: сухий екстракт; листя; абрикос; *Armeniaca vulgaris* Lam.; флавоноїди; полісахариди; гостра токсичність

ВСТУП

Однією з рослин, що здавна використовується у фітотерапії та лікувальному харчуванні, є абрикос звичайний *Armeniaca vulgaris* Lam. (*Prunus armeniaca* L.) родини розових — *Rosaceae*. Абрикос звичайний належить до харчових рослин, які широко культивуються на значних територіях України, Росії, європейських країнах та Середній Азії. Плоди абрикоса містять велику кількість важливих мікро- та макроелементів, полісахаридів, вітамінів і використовуються як цінний харчовий продукт у схемах дієтичного харчування хворих на анемію, серцево-судинні, кишково-шлункові захворювання. Жирна невисихаюча олія з насіння абрикоса звичайного включена до ДФ Х видання під загальною назвою «персикова» та Фармакопеї Великобританії і використовується як лікарський засіб та високоякісний розчинник для приготування різних лікарських форм (у тому числі й ін'єкційних розчинів). У листі та пагонах абрикоса знаходиться значна кількість таких біологічно активних речовин, як флавоноїди, дубильні речовини, терпеноїди, органічні, амінокислоти та ін. Екстракти з листя абрикоса звичайного проявляють протизапальну, антиоксидантну та діуретичну активність [1].

Метою нашої роботи було отримання сухих екстрактів з листя абрикоса звичайного різних сортів в період після плодоношення (зелене) та в кінцевій фазі вегетації (жовте) та визначення гострої токсичності отриманих екстрактів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктами дослідження було обрано сухі екстракти з листя абрикоса звичайного, отримані по способу, захищеному патентом України [4].

Враховуючи технологічні параметри, ми розробили загальну схему отримання сухого екстракту з листя абрикоса звичайного (рис.).

З метою стандартизації сухого екстракту з листя абрикоса звичайного різних сортів, що культивуються в Україні, визначали ряд числових показників у 5 серіях екстракту, отриманих в умовах лабораторії, проведено ідентифікацію основних діючих речовин за якісними реакціями та визначено кількісний вміст основних біологічно активних речовин.

Ідентифікація. 1 г сухого екстракту розчиняли в 10 мл гарячої води очищеної. До отриманого розчину додавали декілька крапель розчину заліза (III) хлориду. Утворювалося зелене забарвлення, яке свідчило про наявність фенольних речовин.

1 г сухого екстракту розчиняли у 10 мл гарячої води очищеної. До отриманого розчину додавали трикратну кількість 96% етанолу. Утворювався аморфний осад (полісахариди).

Втрата в масі при висушуванні. Визначення проводили за методикою, наведеною в ДФУ 1-го видання п. 2.8.17 [2].

Важкі метали. Визначення проводили за методикою, наведеною в ДФУ п. 2.4.8.

Показники «Вода п. 2.2.13» та «Розчинники», наведені в ДФУ 1.3 статті «Сухі екстракти», що були вказані як визначувані «у необхідних випадках», нами не визначались [2,3].

© О.А. Пузак, Л.В. Упир, В.С. Кисличенко, Л.В. Галузінська, Г.Б. Кравченко, 2010



Рис. Схема отримання сухого екстракту з листя різних сортів абрикоса звичайного.

Основні класи речовин, що можуть обумовлювати протизапальну, антиоксидантну та діуретичну активність, є фенольні сполуки (дубильні речовини, флавоноїди та гідроксикоричні сполуки) та полісахариди. Тому ефективність екстракції оцінювали за виходом цих сполук.

Вміст суми поліфенолів, що окиснювались. Визначення проводили за методикою ДФ XI видання «Дубильні речовини» у перерахунку на танін.

Вміст суми гідроксикоричних речовин. Визначення проводили за загальноприйнятою методикою [4] у перерахунку на хлорогенову кислоту.

Вміст суми полісахаридів. 5 г (точна наважка) сухого екстракту листя абрикоса звичайного вміщували в колбу місткістю 200 мл, додавали 10 мл гарячої води очищеної та після повного розчинення отриманого екстракту додавали 40 мл 96% етанолу, охолоджували та витримували протягом 1 години при t до 10°C . Отриманий осад кількісно переносили на фільтр, який попередньо був висушений до постійної маси і послідовно промивали розчинами етанолу та ацетону. Фільтр з осадом спочатку сушили на повітрі, а потім при t $100\text{--}105^{\circ}\text{C}$ до постійної маси.

Вміст полісахаридів (X , %) обчислювали за формулою:

$$X = ((m_2 - m_1) \cdot 100) / m,$$

де: m_2 — маса фільтра з осадом, г;

m_1 — маса фільтра, г;

m — маса сухого екстракту, г.

Вивчення гострої токсичності сухого водного екстракту з абрикоса проводили за експрес-методом Пастушенко Т.В. із співавт. [6, 7, 8] на прикладі екстрактів з зеленого та жовтого листя абрикоса звичайного сорту «Консервний пізній». Дослідження були проведені на білих безпорідних мишах обох статей вагою 20–25 г. Досліджувані екстракти вводили внутрішньошлунково. За тваринами спостерігали протягом тижня. Для орієнтовного визначення смертельних доз досліджувані екстракти вводили тваринам у дозах 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10000, 11000, 12000, 13000, 14000, 15000 та 20000 мг/кг.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Опис. Екстракт з листя абрикоса звичайного був отриманий у вигляді мілкового порошку, зручного у подальшому використанні у виробництві. Одержаний сухий екстракт — гігроскопічний порошок від жовто-коричневого до коричневого кольору зі специфічним запахом. Вихід кінцевого продукту складає близько 16%.

Визначені параметри стандартизації сухого екстракту з листя абрикоса звичайного. Ідентифікацію проводили за наявністю фенольних сполук та полісахаридів. Втрата в масі при висушуванні не перевищувала 5% і складала 3–4,8%. Вміст важких металів не перевищував 0,001%, що відповідає вимогам ДФУ.

Вміст поліфенольних сполук, визначених за обраною методикою у жовтому та зеленому листі абрикоса звичайного, наведено у табл. 1.

Таблиця 1

**РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ
ПОЛІФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК**

Сорт сировини	Вміст речовин у жовтому листі, %	Вміст речовин у зеленому листі, %
«Син Краснощогого»	5,13±2,6	5,11±3,0
«Форум»	5,11±2,6	5,24±4,9
«Консервний пізній»	5,32±3,9	5,53±4,5
Середній вміст речовин, %	5,18	5,29

Результати кількісного вмісту флавоноїдів наведені у табл. 2.

Таблиця 2

РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ ФЛАВОНОЇДІВ

Сорт сировини	Вміст речовин у жовтому листі, %	Вміст речовин у зеленому листі, %
«Син Краснощогого»	1,028±1,55	0,423±1,13
«Форум»	0,753±1,47	0,557±0,97
«Консервний пізній»	1,081±0,85	0,56±0,95
Середній вміст речовин, %	0,954	0,513

Результати кількісного визначення вмісту гідроксикоричних кислот наведені у табл. 3.

Таблиця 3

**РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ
ГІДРОКСИКОРИЧНИХ КИСЛОТ**

Сорт сировини	Вміст речовин у жовтому листі, %	Вміст речовин у зеленому листі, %
«Син Краснощогого»	1,01±1,38	2,92±1,76
«Форум»	0,80±1,72	3,45±1,64
«Консервний пізній»	2,08±1,7	3,03±0,69
Середній вміст речовин, %	0,954	3,13

Вміст полісахаридів коливався в межах від 6 до 9% та не мав чіткої кореляції відносно часу збору сировини.

Результати дослідження гострої токсичності сухого екстракту з листя абрикоса сорту «Консервний пізній», зібраного після плодоношення (далі — екстракт 1), наведені в табл. 4. Встановлено, що при введенні сухого водного екстракту 1 загибель тварин спостерігали в дозах, починаючи з 12000 мг/кг. Далі для визначення LD_{50} екстракту випробовування відповідно до методики почали відразу з введення трьох доз. Досліджуваним тваринам (по три особини в кожній

групі) субстанцію вводили в дозах 12600, 15800, 20000 мг/кг та спостерігали ефект.

Таблиця 4

**РЕЗУЛЬТАТИ ВИВЧЕННЯ ГОСТРОЇ
ТОКСИЧНОСТІ СУХОГО ВОДНОГО
ЕКСТРАКТУ З АБРИКОСА СОРТУ
«КОНСЕРВНИЙ ПІЗНІЙ», ЗІБРАНОГО
ПІСЛЯ ПЛОДОНОШЕННЯ, НА МИШАХ
ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМУ ВВЕДЕННІ**

Доза екстракту, мг/кг	Кількість тварин у групі	Летальність / кількість тварин у групі
12600	3	1/3
15800	3	1/3
20000	3	2/3

Як свідчать дані, наведені в табл. 1, LD_{50} сухого водного екстракту 1 з абрикоса для мишей для введення знаходиться в інтервалі 12600–20000 мг/кг. За найменшою дозою цього інтервалу було встановлено, що LD_{50} для мишей при внутрішньоочеревинному введенні склала 14400 (11500–23200) мг/кг.

При введенні сухого водного екстракту 2 з абрикоса загибель тварин спостерігали в дозах, починаючи з 12000 мг/кг. Для визначення LD_{50} сухого водного екстракту 2 з абрикоса випробовування відповідно до методики почали відразу з введення трьох доз. Досліджуваним тваринам (по три особини в кожній групі) субстанцію вводили в дозах 10000, 12600, 15800 мг/кг та спостерігали ефект.

Таблиця 5

**РЕЗУЛЬТАТИ ВИВЧЕННЯ ГОСТРОЇ
ТОКСИЧНОСТІ СУХОГО ВОДНОГО
ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ АБРИКОСА СОРТУ
«КОНСЕРВНИЙ ПІЗНІЙ», ЗІБРАНОГО
В КІНЦІ ПЕРІОДУ ВЕГЕТАЦІЇ, НА МИШАХ
ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМУ ВВЕДЕННІ**

Доза екстракту, мг/кг	Кількість тварин у групі	Летальність / кількість тварин у групі
10000	3	1/3
12600	3	2/3
15800	3	2/3

Було встановлено, що LD_{50} сухого водного екстракту 2 з листя абрикоса для мишей знаходиться в інтервалі доз 10000–15800 мг/кг. Відповідно до даних, наведених у табл. 5, LD_{50} для щурів при пероральному введенні складає 11800 (7300–16400) мг/кг.

Таким чином, досліди показали, що сухий екстракт з листя абрикоса звичайного є безпеч-

ним при використанні готового продукту у виробництві пероральних лікарських форм.

ВИСНОВКИ

1. Вперше визначені параметри стандартизації сухого екстракту з листя абрикоса звичайного за запропонованим способом. Ідентифікацію проводили за наявністю фенольних сполук та полісахаридів. Готовий екстракт містить не менше, ніж 6% полісахаридів, 5% окиснюваних поліфенольних сполук, 0,4% флавоноїдів у перерахунку на рутин, гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту — не менше 0,8%. Втрата в масі при висушуванні не перевищувала 5%. Вміст важких металів не перевищував 0,001%, що відповідає вимогам ДФУ.
2. Визначені LD_{50} досліджуваних субстанцій при пероральному введенні дозволяють віднести їх відповідно до класифікації К.К. Сидорова до класу практично нетоксичних сполук. Екстракт 2 був більш токсичним по відношенню до екстракту 1.
3. Результати проведених досліджень можуть бути використані при розробці аналітично-нормативної документації на сухий екстракт з листя абрикоса звичайного.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Вивчення антициклооксигеназних та антиліпооксигеназних властивостей екстрактів з листя абрикоса звичайного / Г.Б. Кравченко, О.В. Файзулін, О.А. Пузак та ін. // Укр. журн. клін. та лабораторної медицини. — 2009. — № 4. — С. 44-46.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Х.: РІПЕГ, 2001. — 556 с.
3. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид., доп. 1. — Х.: РІПЕГ, 2004. — 520 с.
4. Койро О.О. Кількісне визначення суми гідроксикоричних кислот у сировині ягідці звичайної / О.О. Койро, С.І. Степанова, С.Ю. Штриголь // Укр. журн. клін. та лабораторної медицини. — 2009. — № 4. — С. 52-55.
5. Griffin G. Edward World without Cancer / G. Griffin — American Media, California, 1997. — 33 p.
6. Science, Medicine and Animals. National Research Council of the National Academies — Washington, D.C.: National Academies Press, 2004. — 52 p.
7. Toxicity Testing for Assessment of Environmental Agents: Interim Report. National Research Council (U.S.). Committee on Toxicity Testing and Assessment of Environmental Agents; National Research Council (U.S.). Division on Earth and Life Studies et al. — Washington, D.C.: National Academies Press, 2006. — 270 p.
8. Toxicity Testing in the 21st Century: a Vision and a Strategy. National Research Council (U.S.). Committee on Toxicity Testing and Assessment of Environmental Agents; National Academies Press (U.S.) et al. — Washington, D.C.: National Academies Press, 2007. — 216 p.

УДК 615.451.16:581.45:582.734.6:577.114:615.014.2:615.015.35

О.А. Пузак, Л.В. Упыр, В.С. Кисличенко, Л.В. Галузинская, Г.Б. Кравченко

ПОЛУЧЕНИЕ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ СУХОГО ЭКСТРАКТА

ИЗ ЛИСТЬЕВ АБРИКОСА ОБЫКНОВЕННОГО

Из листьев различных сортов *Armeniaca vulgaris* Lam. были получены сухие экстракты. Выход составил около 16%. В экстрактах определено не менее 6% полисахаридов, 5% окисляемых полифенольных соединений, 0,4% флавоноидов, гидроксикоричных кислот — не менее 0,8%. Потеря в массе при высушивании не превышала 5%. Содержание тяжелых металлов не превышало 0,001%, что соответствует требованиям ГФУ. Также были определены LD₅₀ исследуемых субстанций при пероральном введении, позволяющие отнести их согласно классификации К.К. Сидорова к классу практически нетоксичных соединений.

Ключевые слова: сухой экстракт; листья; абрикос; *Armeniaca vulgaris* Lam.; флавоноиды; полисахариды; острая токсичность

UDC 615.451.16:581.45:582.734.6:577.114:615.014.2:615.015.35

O.A. Puzak, L.V. Upyr, V.S. Kyslychenko, L.V. Galuzinska, G.B. Kravchenko

OBTAINING AND STANDARDIZATION OF DRY EXTRACT FROM APRICOT LEAVES

The dry extracts from leaves of different varieties *Armeniaca vulgaris* Lam. were obtained. The output was not less than 16%. It was determined not less than 6% of polysaccharides, 5% of oxidized polyphenolic compounds, 0,4% of flavonoids, hydroxycinnamic acids not less than 0,8%. The loss in weight under drying must be not more, than 5%, the content of heavy metals — not more, than 0,001%, what satisfies the requirements of State Pharmacopeia of Ukraine. Also LD₅₀ in oral intake were determined; extracts can be attributed to class practically non-toxic compounds.

Key words: dry extract; leaves; apricot; *Armeniaca vulgaris* Lam.; flavonoids; polysaccharides; acute toxicity

Адреса для листування:

61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

Національний фармацевтичний університет.

Тел.: (0572) 67-93-63.

Надійшла до редакції: 03.06.10