

ДОСЛІДЖЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК ЛИСТЯ МАТИ-Й-МАЧУХИ**Кацуба І.К., Кисличенко В.С., Новосел О.М.***Національний фармацевтичний університет*

Вступ. Фенольні сполуки є одним з найбільш розповсюджених і багато численних класів природних сполук, які виявляють різноманітну біологічну дію. Так, гідроксикоричні кислоти (п-кумарова, кофейна, ферулова та сінапова) у різних комбінаціях, у вільному стані або у складі глікозидів і складних естерів містяться в багатьох вищих рослинах. Найбільш розповсюджені в природі кофейна кислота та її похідні (хлорогенова та її ізомери), які виявляють протизапальну та жовчогінну активність. Сума кофейної, хлорогенової, ферулової, кумарової та інших кофейлінних кислот виявляє гіпоазотемічний ефект, посилює функцію нирок, стимулює антиоксидантну функцію печінки [1].

Флавоноїди називають «натуральними біологічними модифікаторами реакцій» завдяки їх здатності змінювати реакцію організму на алергени, віруси та канцерогени. Про це свідчать їх протизапальні, антиалергічні, антивірусні та антиканцерогенні властивості. Крім того, флавоноїди виконують роль сильних антиоксидантів, забезпечують захист від окиснення та пошкодження вільними радикалами. Антиоксидантні властивості цього класу фенольних сполук мають більш широкий спектр, ніж у таких антиоксидантів, як вітаміни С та Е, селен, цинк. Флавоноїди також виявляють жовчогінну, противиразкову, антивірусну, діуретичну, спазмолітичну, антигеморроїдальну дію [1, 2, 8].

Дубильні речовини застосовують як в'язучі, протизапальні та бактерицидні засоби при гострих і хронічних проносах, ентероколітах, а також при стоматитах, гінгівітах та інших запальних процесах у порожнині рота, гортані, глотки та ін. [1].

Мета та завдання досліджень. Метою нашої роботи було вивчення фенольних сполук листя мати-й-мачухи, що є фрагментом науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакогносичне вивчення біологічно активних речовин, створення лікарських засобів рослинного походження» (номер державної реєстрації 0103U000476). Для досягнення поставленої мети перед нами були поставлені такі завдання:

- встановити наявність фенольних сполук за допомогою якісних реакцій і хроматографічного аналізу в сировині, що досліджувалася;
- визначити кількісний вміст гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та дубильних речовин.

Матеріали та методи дослідження. Якіс-

ний склад фенольних сполук листя мати-й-мачухи вивчали за допомогою якісних реакцій і паперової хроматографії [5, 6].

Вміст гідроксикоричних кислот у листі мати-й-мачухи визначали спектрофотометричним методом. Для цього 2,0 г (точна наважка) подрібненої сировини вміщували в колбу місткістю 200 мл і додавали 70 мл води. Колбу приєднували до зворотнього холодильника і нагрівали на водяному огрівнику протягом 15 хв. Екстракцію повторювали ще двічі. Екстракти охолоджували і фільтрували крізь паперовий фільтр на воронці Бюхнера, кількісно переносили в мірну колбу місткістю 200 мл і доводили об'єм розчину водою до позначки (розчину А).

У мірну колбу місткістю 50 мл вносили 1 мл розчину А і доводили об'єми розчину 20% спиртом етиловим до позначки. Оптичну густину отриманого розчину вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 327 нм. Розчином порівняння був 20% спирт етиловий.

Вміст суми гідроксикоричних кислот (Х, %) у перерахунку на хлорогенову кислоту обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \times 200 \times 50 \times 100}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times m \times 1 \times (100 - W)}$$

$$X = \frac{A * 200 * 50 * 100}{E_{1\text{ см}}^{1\%} * m * 1 * (100 - W)}$$

де А – оптична густина досліджуваного розчину;

m – наважка сировини, г;

$E_{1\text{ см}}^{1\%}$ – питомий показник поглинання хлорогенової кислоти, який дорівнює 531;

W – втрати в масі при висушуванні, % [5, 6, 7].

Кількісне визначення флавоноїдів також проводили спектрофотометричним методом. 1,0 г (точна наважка) подрібненої сировини вміщували в колбу зі шліфом місткістю 150 мл, додавали 30 мл 50% спирту етилового. Колбу приєднували до зворотнього холодильника і нагрівали на водяному огрівнику протягом 30 хв, періодично збовтуючи для змивання часток сировини зі стінок. Гарячу витяжку фільтрували через вату в мірну колбу місткістю 100 мл, так, щоб частки сировини не потрапили на фільтр. Вату переносили в колбу для екстрагування і додавали 30 мл 50% спирту етилового. Екстракцію повторювали ще двічі в описаних вище умовах, фільтруючи витяг в ту ж саму мірну колбу. Після охолодження об'єм фільтрату доводили 50% спиртом етиловим до по-

значки і перемішували (розчин А).

В мірну колбу місткістю 25 мл вмішували 1 мл розчину А, 1 мл розчину алюмінію хлориду в 95% спирті етиловому і доводили об'єм розчину 95% спиртом етиловим до позначки. Через 40 хв вимірювали оптичну густину розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі 415 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. У якості розчину порівняння використовували розчин, який складався з 1 мл витяжки, 1 краплі кислоти оцтової розведеної, доведений 95% спиртом етиловим до позначки у мірній колбі місткістю 25 мл.

Паралельно вимірювали оптичну густину стандартного зразка (СЗ) рутину, який готували аналогічно розчину, що досліджувався.

Вміст суми флавоноїдів (X, %) у перерахунку на рутин і абсолютну суху сировину обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \cdot m_0 \times 100 \times 100 \times 100}{A_0 \cdot m \times 100 \times (100 - W)}$$

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot m \cdot 100 \cdot (100 - W)},$$

де А – оптична густина досліджуваного розчину;

A₀ – оптична густина ДСЗ рутину;

m – маса сировини, г;

m₀ – маса ДСЗ рутину, г;

W – втрата у масі при висушуванні сировини % [4, 5, 6].

Кількісне визначення дубильних речовин проводили перманганатометричним методом за Левенталем. 2,0 г (точна наважка) подрібненої сировини вмішували у конічну колбу місткістю 500 мл, заливали 250 мл нагрітої до кипіння води та кип'ятили зі зворотним холодильником на електричній плитці протягом 30 хв при періодичному перемішуванні. Екстракт охолоджували до кімнатної температури і проціджували близько 100 мл у колбу місткістю 200-250 мл крізь вату так, щоб частки си-

ровини не потрапили в колбу. Потім відбирали піпеткою 25 мл отриманого екстракту в іншу конічну колбу місткістю 750 мл, додавали 500 мл води, 25 мл індігосульфокислоти і титрували при постійному перемішуванні розчином калію перманганату (0,02 моль/л) до золотаво-жовтого забарвлення.

Паралельно проводили контрольний дослід. 1 мл розчину калію перманганату (0,02 моль/л) відповідає 0,004157 г дубильних речовин у перерахунку на танін.

Вміст дубильних речовин (X, %) у перерахунку на абсолютну суху сировину обчислювали за формулою:

$$X = \frac{(V - V_1) \times 0,004157 \times 250 \times 100 \times 100}{m \times 25 \times (100 - W)}$$

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0,004157 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 25 \cdot (100 - W)},$$

де V – об'єм розчину калію перманганату (0,02 моль/л), витраченого на титрування витяжки, мл;

V₁ – об'єм розчину перманганату калію (0,02 моль/л), витраченого на титрування контрольного дослід, мл;

m – маса сировини, г;

0,004157 – кількість дубильних речовин, що відповідає 1 мл розчину калію перманганату (0,02 моль/л) у перерахунку на танін, г;

W – втрата у масі при висушуванні сировини, %;

250 – загальний об'єм витяжки, мл;

25 – об'єм витяжки, що взято для титрування, мл [3, 5, 6].

Результати дослідження та їх обговорення. В результаті проведених якісних реакцій та хроматографічного аналізу в листі мати-й-мачухи було встановлено наявність гідроксикоричних кислот, флавоноїдів і дубильних речовин.

Результати спектрофотометричного визначення вмісту гідроксикоричних кислот наведені у таблиці 1.

Таблиця 1. Результати визначення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у листі мати-й-мачухи

m	n	X _i	X _{ср}	S ²	S _{ср}	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	ε, %
5	4	8,043	8,06	0,00019	0,00630	0,95	2,78	8,06±0,17	1,22
		8,051							
		8,060							
		8,068							
		8,079							

Як видно з таблиці 1, вміст гідроксикоричних кислот у сировині, що досліджувалася, складає 8,06±0,17%.

Результати кількісного визначення флавоноїдів у листі мати-й-мачухи наведені у таблиці 2.

Таблиця 2. Результати визначення кількісного вмісту флавоноїдів у листі мати-й-мачухи

m	n	X _i	X _{ср}	S ²	S _{ср}	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	ε, %
5	4	5,68	5,70	0,00065	0,01140	0,95	2,78	5,70±0,13	1,56
		5,67							
		5,70							
		5,72							
		5,73							

Як видно з таблиці 2, вміст флавоноїдів у листі мати-й-мачухи складає $5,70 \pm 0,13\%$.

Результати перманганатометричного ви-

значення вмісту дубильних речовин наведені у таблиці 3.

Таблиця 3. Результати визначення кількісного вмісту дубильних речовин у листі мати-й-мачухи

m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	$\varepsilon, \%$
5	4	9,37	9,39	0,00088	0,01328	0,95	2,78	$9,39 \pm 0,23$	3,39
		9,41							
		9,39							
		9,35							
		9,42							

Як видно з таблиці 3, вміст дубильних речовин, визначений перманганатометричним методом, складає $9,39 \pm 0,23\%$.

Висновки:

1. За допомогою якісних реакцій і хроматографічного аналізу в листі мати-й-мачухи встановлено наявність гідроксикоричних кислот, флавоноїдів і дубильних речовин.

2. Спектрофотометричним і титриметри-

чним методами дослідження в листі мати-й-мачухи визначено вміст гідроксикоричних кислот – $8,06 \pm 0,17\%$; флавоноїдів – $5,70 \pm 0,13\%$ та дубильних речовин – $9,39 \pm 0,23\%$.

3. Отримані дані експериментального дослідження будуть використані при стандартизації листя мати-й-мачухи, - для розробки проектів методик контролю якості (МКЯ).

ЛІТЕРАТУРА:

1. Блашей А. Фенольные соединения растительного происхождения / А. Блашей, Л. Шутный. – М.: Мир, 1997. – 716 с.
2. Гоженко О.І. Біофлавоноїди і радіорезистентність / О.І. Гоженко, Н.Г. Славина // Фармацевтичний журнал. – 1997. – № 4. – С. 71-75.
3. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.
4. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.
5. Омельченко З.І. Дослідження фенольних спо-

лук *Setaria italica* (L.) / З.І. Омельченко, В.С. Кисличенко, О.І. Нешерет // Фармацевтичний журнал – 2008. – №1. – С. 79-83.

6. Новосел О.М. Визначення кількісного вмісту фенольних сполук в листі яблуні лісової та груші звичайної / О.М. Новосел, В.С. Кисличенко // Збірник наукових праць співробітників КМАПО ім. П.Л. Шупика. – К., 2003. – Вип. 12, кн. 2. – С. 811-818.

7. Рыбаченко А.И. Исследование фенольного состава препарата Эрикан. – Фармаком. – 2001. – № 1. – С. 61-64.

8. Havsteen B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency // *Biocem. Pharmacol.* – 1983. – №32. – P. 141-148.

Кацуба І.К., Кисличенко В.С., Новосел О.М. Дослідження фенольних сполук листя мати-й-мачухи // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 6. – С. 92-94.

Якісними реакціями та паперовою хроматографією було встановлено наявність фенольних сполук у листі мати-й-мачухи. За допомогою спектрофотометричного та титриметричного методів аналізу визначено їх кількісний вміст. В результаті проведених досліджень встановлено, що вміст гідроксикоричних кислот у сировині, що вивчалася, складає $8,06\%$, флавоноїдів – $5,70\%$, дубильних речовин – $9,39\%$.

Ключові слова: гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, дубильні речовини, мати-й-мачуха.

Кацуба И.К., Кисличенко В.С., Новосел Е.Н. Исследование фенольных соединений листьев мать-и-мачехи // Украинский медицинский альманах. – 2011. – Том 14, № 6. – С. 92-94.

Качественными реакциями и бумажной хроматографией было установлено наличие фенольных соединений в листьях мать-и-мачехи. С помощью спектрофотометрического и титриметрического методов определено их количественное содержание. В результате проведенных исследований установлено, что содержание гидроксикоричных кислот в изучаемом сырье составляет $8,06\%$, флавоноидов – $5,70\%$, дубильных веществ – $9,39\%$.

Ключевые слова: гидроксикоричные кислоты, дубильные вещества, мать-и-мачеха.

Katsuba I.K., Kyslychenko V.S., Novosel O.M. The study of phenolic compounds from the coltsfoot leaf // Украинский медицинский альманах. – 2011. – Том 14, № 6. – С. 92-94.

The presence of phenolic compounds in coltsfoot leaves was established by means of qualitative reactions and paper chromatography. Their quantitative content was determined by spectrophotometric and titrimetric methods. As a result of present study the content of hydroxycinnamic acids in the investigated plant material was determined to be $8,06\%$, flavonoids – $5,70\%$, oxidizable polyphenols – $9,39\%$.

Key words: hydroxycinnamic acids, tannins, coltsfoot.

Надійшла 19.09.2011 р.

Рецензент: проф. Л.В.Савченкова