

# Дослідження якісного та кількісного вмісту поліфенольних сполук у листках гінкго білоба

Ю.В.Юдіна, І.О.Криклия, О.А.Рубан, В.Г.Дем'яненко, Ю.С.Маслій

Національний фармацевтичний університет, кафедра промислової технології  
Харків, Україна

У статті наведені дані дослідження якісного та кількісного вмісту поліфенольних сполук листя гінкго дволопатевого протягом періоду вегетації. Виявлено наявність флавоноїдів: рутину, кверцетину, кемпферолу, мірицетину та фенолкарбонових кислот (кавової та хлорогенової). Визначено оптимальний період збору сировини, коли кількість поліфенольних сполук досягає максимальних значень.

**Ключові слова:** гінкго дволопатево, поліфенольні сполуки, період вегетації, якісний та кількісний вміст.

## ВСТУП

Хімічний склад листків гінкго почали вивчати з 80-х рр. ХХ ст. [5-10]. Однак у рослині постійно йдуть біохімічні процеси, тому її хімічний склад постійно змінюється. Крім того хімічний склад сировини залежить від кліматичних умов та особливостей культивування. Із цієї причини

при розробці фармацевтичних препаратів на основі рослинної сировини дуже важливим є визначення термінів її збору, коли вміст активних речовин досягає максимальних значень.

Геропротективні властивості препаратів на основі гінкго зумовлюють поліфенольні сполуки [1], тому нами було проведено ряд досліджень, метою яких було визначення періоду вегетації гінкго дволопатевого, що культивується у широтах України, коли спостерігається максимальний вміст цих речовин.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом дослідження було листя гінкго дволопатевого, зібране протягом періоду вегетації на території ботанічного саду Харківського національного університету ім. В.Н.Каразіна.

Для визначення суми поліфенольних сполук у листях гінкго дволопатевого застосовували наступну методику. Близько 1 г листя гінкго, подрібненого до розміру часток 1-2 мм, заливали 70% спиртом етиловим у співвідношенні маси сировини до об'єму екстрагента 1:10, настоювали протягом 1 години.

ТАБЛИЦЯ 1

Якісне визначення суми поліфенольних сполук у листках гінкго дволопатевого протягом періоду вегетації

Назва реактиву	Період вегетації			
	Початок вегетації	Цвітіння	Утворення плодів	Розсіювання плодів
ціанідінова проба	червоне забарвлення розчину, органічна фаза забарвлена менш інтенсивно	червоне забарвлення розчину, органічна фаза забарвлена менш інтенсивно	червоне забарвлення розчину, органічна фаза забарвлена менш інтенсивно	червоне забарвлення розчину, органічна фаза забарвлена менш інтенсивно
1% спиртовий розчин КОН	жовте забарвлення розчину переходить у жовтогаряче	жовте забарвлення розчину переходить у жовтогаряче	жовте забарвлення розчину переходить у жовтогаряче	жовте забарвлення розчину переходить у жовтогаряче
розчин оцтовокислого свинцю	жовтий осад	жовтий осад	жовтий осад	жовтий осад
розчин хлориду заліза (III)	чорно-зелене забарвлення розчину	чорно-зелене забарвлення розчину	чорно-зелене забарвлення розчину	чорно-зелене забарвлення розчину

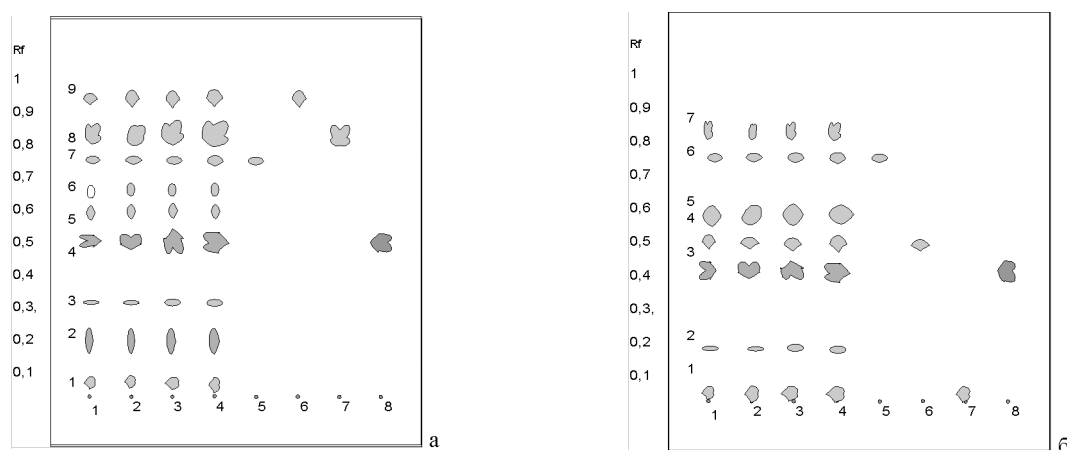


Рис. 1. Схеми хроматограм екстракту листків гінґґо дволопатевого. а – система розчинників – БОВ 4:1:5, б – система розчинників – 15% оцтова кислота. 1 – початок вегетації, 2 – масове цвітіння, 3 – дозрівання плодів, 4 – розсіювання плодів. Вірогідні зразки: 5 – хлорогенова кислота, 6 – кавова кислота, 7 – кверцетин, 8 – рутин.

Потім колбу з екстрактом з'єднували зі зворотнім холодильником та нагрівали, підтримуючи слабе кипіння, протягом 2 год. Після охолодження екстракт фільтрували та проводили якісне визначення поліфенольних сполук за відомими методиками [2-4].

Аналіз якісного вмісту флавоноїдів проводили методом висхідної одновимірної хроматографії на хроматографічному папері марки «Filtrak» №7, 11 у системах розчинників 15% оцтова кислота; бутанол – оцтова кислота – вода 4:1:5 (БОВ 4:1:5) та на пластинках «Silufol UV-254»/«Silufol UV-366» у системі розчинників БОВ 4:1:5.

За результатами проведених досліджень якісного вмісту поліфенольних сполук у листях гінґґо була обрана загальновідома методика для їх кількісного визначення [3, 4].

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

**Якісні дослідження поліфенольних сполук листків гінґґо.** Для визначення якісного складу речовин поліфенольної природи були проведені кольорові та осадкові реакції на ці сполуки, результати яких наведені в табл. 1.

Як видно з табл. 1, наявність поліфенольних сполук спостерігається протягом усього літньо-осіннього періоду, про що говорить інтенсивне чорно-зелене забарвлення 70% спиртового екстракту листя гінґґо при реакції з хлоридом заліза III.

Ціанідінова проба за Бріантом виявила, що флавоноїдні сполуки в листках гінґґо містяться більше у вигляді агліконів, ніж глікозидів, про що

ТАБЛИЦЯ 2

### Результати хроматографічного розділення сполук поліфенольної природи, виділених з листків гінґґо

Система розчинників							
15% оцтова кислота				БОВ 4:1:5			
	Забарвлення плям				Забарвлення плям		
	Ден. світло	УФ-св.	З парами NH <sub>3</sub>		Ден. світло	УФ-св.	З парами NH <sub>3</sub>
0,02	жовт.	жовт.	жовт.	0,05	св. жовт.	синє	Фіолет.
0,14	жовт.	жовт.	жовт.	0,21	жовт.	жовт.	жовт.
0,43	св. жовт.	т. жовт.	т. жовт.	0,32	св. жовт.	жовт.	жовт.
0,50	жовт.	синє	синє	0,53	св. жовт.	жовт.	т. жовт.
0,59	т. жовт.	кор.	кор.	0,59	т. жовт.	кор.	кор.
0,77	жовт.	синє	синє	0,65	св. жовт.	т. жовт.	т. жовт.
0,84	т. жовт.	синє	синє	0,74	жовт.	синє	синє
				0,82	жовт.	жовт.	жовт.
				0,94	жовт.	синє	синє

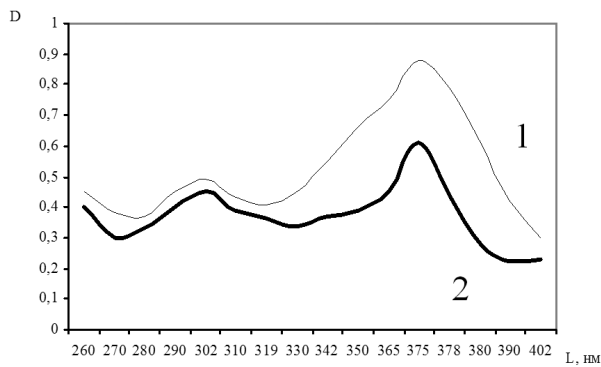


Рис. 2. УФ-спектри поглинання стандартного зразка кверцетину (1) та досліджуваного екстракту листя гінґґо дволопатевого (2).

свідчить менш інтенсивне забарвлення органічної фази. За інтенсивністю забарвлення зроблено висновок, що найбільший їх вміст приходить на вересень-жовтень.

Для з'ясування природи поліфенольних сполук були проведені хроматографічні дослідження 70% етанольного екстракту листя гінґґо дволопатевого протягом періоду вегетації. Схеми хроматограм наведені на рис. 1.

При хроматографуванні в системі розчинників 15% оцтова кислота було виявлено 7 сполук, БОВ 4:1:5 — 9 сполук. При вивченні хроматограм у денному світлі поліфенольні сполуки проявлялись у вигляді жовто-коричневих плям в усіх системах розчинників. В УФ-світлі та при проявленні парами аміаку колір плям змінювався в залежності від природи речовини (табл. 2).

При порівнянні плям зразків екстракту з вірогідними зразками та за значеннями Rf було виявлено наявність флавоноїдів рутину, кверцетину, кемпферолу, мірицетину та фенолкарбонових кислот (кавової та хлорогенової). При цьому за інтенсивністю забарвлення плям зроблено висно-

вок, що рутин та кверцетин є домінантними речовинами у екстракті.

**Кількісне визначення суми поліфенольних сполук у листках гінґґо дволопатевого.** Для вивчення кількісного вмісту сполук поліфенольної природи у листках гінґґо було проведено спектрофотометричне дослідження вмісту цих сполук.

УФ-спектри екстракту листя гінґґо та кверцетину стандарту наведені на рис. 2.

Спектр стандартного зразка кверцетину (1) має максимум поглинання при довжині хвилі  $375 \pm 1$  та  $303 \pm 1$  нм, спектр досліджуваних екстрактів листя гінґґо (2) має максимуми поглинання при довжині хвилі  $302 \pm 1$  нм та  $374 \pm 1$  нм.

Розрахунки кількісного вмісту поліфенольних сполук у листках гінґґо протягом періоду вегетації наведені в табл. 3.

Як показали результати досліджень, поліфенольні сполуки поступово накопичуються протягом періоду вегетації, і їх максимальна кількість спостерігається у свіжоопалих листках у вересні-жовтні і складає  $3,4 \pm 0,08\%$  у перерахунку на кверцетин. Потім у листопаді вміст цих сполук знижується і складає вже  $2,1 \pm 0,04\%$ .

Таким чином, за результатами проведених досліджень можна зробити висновок, що оптимальний період збору сировини, коли кількість поліфенольних сполук досягає максимальних значень, приходить на вересень-жовтень.

## ВИСНОВКИ

1. Якісні дослідження природи поліфенольних сполук у листках гінґґо дволопатевого показали їх наявність протягом усього періоду вегетації. Визначено, що у листках гінґґо дволопатевого містяться флавоноїди кверцетин, рутин, які є домінантними, а також кемпферол, мірицетин, кофейна та хлорогенова кислоти.

2. Спектрофотометричні дослідження кількісного вмісту поліфенольних сполук у листках гінґґо довели, що термін збору сировини, коли вміст поліфенольних сполук досягає максимальних значень ( $3,4 \pm 0,08\%$ ), приходить на вересень-жовтень.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Геріатричний лікарський засіб «Гіногран» // Ю.В.Щирова, В.Г.Дем'яненко, Л.В.Деримедвідь, С.М.Дроговоз. — Пат. України 58880 А, МКІ А61К35/78, №2002119103; заявл. 15.11.02; опубл. 15.08.03. Бюл. №8, 2003.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.

ТАБЛИЦЯ 3

**Кількісний вміст суми поліфенольних сполук у листках гінґґо дволопатевого протягом періоду вегетації**

Фаза вегетації	Кількісний вміст поліфенольних сполук у листках гінґґо, % (n=5)	
	Вміст	$E_{отн}$
Початок вегетації	$1,7 \pm 0,05$	$E_{отн} = 2,35\%$
Масове цвітіння	$2,4 \pm 0,03$	$E_{отн} = 1,72\%$
Початок утворення плодів	$3,0 \pm 0,04$	$E_{отн} = 1,84\%$
Масове дозрівання та розсіювання плодів	$3,4 \pm 0,08$	$E_{отн} = 2,67\%$
Листопад	$2,1 \pm 0,04$	$E_{отн} = 2,15\%$

3. Костенникова З.П. Количественное определение флавоноидов в настойке календулы методом УФ-спектроскопии / З.П.Костенникова, Г.А.Панова // Фармация. — 1984. — №6. — С. 33-35.
4. Сур С.В. Методи ідентифікації та кількісного визначення флавоноїдів у лікарських зборах / С.В.Сур, О.Г.Макаренко, Т.В.Герасимчук // Фармац. журнал. — 2001. — №4. — С. 85-90.
5. Biaucon-Schield F. HPLC separation and quantitative determination of biflavonoides in leaves from Ginkgo biloba / F.Biaucon-Schield, A.Robert, A.Lobstein-Guth // Planta Med. — 1983. — Vol. 49, №4. — P. 204-207.
6. Chemistry of the ginkgolides V. on the preparation of the ginkgolide skeleton / K.Weinges, M.Reummler, H.Schick, G.Schilling // Liebigs Ann. Chem. — 1993. — №3. — P. 287-291.
7. Gu Hiaomi. Measurement of rutin in leaves of Ginkgo biloba with revers-phase HPLS / Gu Hiaomi, Li Lei // Sepu. — 1995. — Vol. 13, №3. — P. 216-217.
8. Isolation of amentoflavone from Ginkgo biloba / A.Lobstein-Guth, F.Briancon-Scheid, C.Victoire // Planta Med. — 1988. — Vol. 54, №6. — P. 555-556.
9. Kaempferol coumarol glucorhamnoside from Ginkgo biloba / R.Anton, C.Nars, M.Haag-Berrurier, A.Lobstein-Guth // Phutochemistry. — 1986. — Vol. 25, №3. — P.770-771.
10. You Soug. Flavone glycosides from the leaves of Ginkgo biloba / You Soug, Yao Xinsheng, Shluyang Yaoxueyau // Xuebao. — 1989. — Vol. 6, №4. — P. 284-285.

**Ю.В.Юдина, И.А.Крикливая, Е.А.Рубан, В.Г.Демьяненко, Ю.С.Маслий.** *Исследование качественного и количественного содержания полифенольных соединений в листьях гинкго билоба. Харьков, Украина.*

**Ключевые слова:** гинкго двулопастное, полифенольные соединения, период вегетации, качественное и количественное содержание.

*В статье приведены данные исследования качественного и количественного содержания полифенольных соединений листьев гинкго двулопастного в течение периода вегетации. Обнаружено наличие флавоноидов: рутина, кверцетина, кемпферола, мирицетина и фенолкарбоновых кислот (кофейной и хлорогеновой). Определен оптимальный период сбора сырья, когда содержание полифенольных соединений достигает максимальных значений.*

**Iu.V.Iudna, I.A.Krikliyaya, E.A.Ruban, V.G.Demianenko, Iu.S.Masliy.** *Qualitative and quantitative content of polyphenol substances in Ginkgo biloba leaves. Kharkiv, Ukraine.*

**Key words:** Ginkgo biloba, polyphenol substances, period of vegetation, qualitative and quantitative content.

*The article deals with the qualitative and quantitative content of polyphenol substances in ginkgo biloba leaves during the period of vegetation. Presence of flavonoids rutin, quercetin, kaempferol, miricetin, and phenolcarboxylic acids coffee and chlorogenic were found. The optimum period of raw material gathering when the amount of polyphenol substances arrives at maximal values was determined.*

Надійшла до редакції 14.01.2010 р.