

Дослідження фенольних сполук спиртового екстракту з трави лаванди вузьколистої

А.С.Гейдеріх, Т.В.Упир, А.М.Комісаренко, О.М.Кошовий

Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук
Харків, Україна

Досліджено склад фенольних сполук спиртового екстракту з трави лаванди вузьколистої, зокрема ідентифіковано дві фенолкарбонові кислоти — галову та елагову, гідроксикоричні кислоти — хлорогенову та кумарову, три кумарини — кумарин, метилумбеліферон та герніарин, три флавоноїдні аглікони — апігенін, лютеолін та кверцетин. Встановлено вміст похідних гідроксикоричної кислоти ($2,83 \pm 0,02\%$), флавоноїдів ($1,24 \pm 0,01\%$) та поліфенольних сполук ($15,99 \pm 0,02\%$) у густому спиртовому екстракті з трави лаванди вузьколистої.

Ключові слова: лаванда вузьколиста, густий екстракт, спирт, фенольні сполуки.

ВСТУП

За кордоном виробляється понад 20 комплексних препаратів (Нервофлюкс, Еспол, Алталекс, Лалабі, Тавіпек, Бітнер трав'янистий еліксир, Вітрум б'юті еліт та ін.), які застосовують як спазмолітичні, седативні та антимикробні засоби, до складу яких входять БАР лаванди вузьколистої, зокрема ефірна олія, основним компонентом якої є ліналоол та ліналолацетат. Вітчизняною фармацевтичною промисловістю випускається лише один лікарський препарат «Лівіан» з ранозагоювальною дією [1].

Відомо, що ефірна олія лаванди володіє широким спектром фармакологічної активності: заспокійлива, антимикробна, протипаразитарна, антисептична, антиалергічна, відхаркувальна, спазмолітична, тонізуюча, антитоксична, протизапальна, седативна, сечогінна, потогінна, жовчогінна та ін.

Квітки лаванди використовуються лише в якості сировини для отримання ефірної олії,

решта рослини не знайшла застосування у фармацевтичній та медичній практиці внаслідок недостатньої вивченості сировини. Оскільки фармацевтичною промисловістю використовують лише терпеноїдні сполуки, тоді як дана лікарська рослинна сировина (ЛРС) багата іншими класами біологічно активних речовин (БАР), зокрема фенольними сполуками.

Метою дослідження було вивчити хімічний склад фенольних сполук густого спиртового екстракту з трави лаванди вузьколистої для створення нового лікарського засобу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом дослідження був густий спиртовий екстракт з трави лаванди вузьколистої, отриманий екстракцією 96% спиртом етиловим у співвідношенні 1:10 при кімнатній температурі протягом доби. Аналіз отриманого екстракту проводили згідно з ДФУ [5] та віднесли його до густих екстрактів.

Попередній хімічний аналіз отриманого екстракту проводили загальнопринятими методами: якісними реакціями, паперовою хроматографією (ПХ) та хроматографією в тонкому шарі сорбенту (ТШХ). Екстракт розчиняли в спирті та хроматографували на папері марки «FN-12» в системах розчинників: I напрям — 15% оцтова кислота, II напрям — н-бутанол — оцтова кислота — вода у співвідношенні (4:1:2). Детектування фенольних сполук на хроматограмах проводили в УФ-світлі до і після обробки спиртовими розчинами натрію гідроксиду, алюмінію хлориду і діазореактивом [2].

Для виявлення кумаринових сполук розчин густого екстракту хроматографували на папері в системах хлороформ (формамід 25%), гексан (формамід 25%) та на пластинках Silicagel 60 F 254 (Merck) в системі «бензол — етилацетат» (3:2). При перегляді хроматограм у фільтрованому УФ світлі та обробці 10% спиртовим

розчином калію гідроксиду та діазореактивом виявлено не менше три речовин кумаринової природи, які в порівнянні зі стандартами були ідентифіковані як кумарин, метилумбеліферон та герніарин.

Після обробки двомірної хроматограми парами аміаку та 2% спиртовим розчином алюмінію хлориду плями агліконів набули яскраво-жовтої флуоресценції, а темно-коричневі плями стали жовто-зеленими, що характерно для флавонових глікозидів. У спиртовому екстракті було ідентифіковано не менше шість речовин флавоноїдної природи. Для встановлення їх природи проводили кислотний гідроліз 8% хлористоводневою кислотою [2].

За характерною флуоресценцією, величиною R_f та забарвленням плям на хроматограмі після обробки парами аміаку та розчином алюмінію хлориду в порівнянні з достовірними зразками аглікони флавоноїдів ідентифіковані як апігенін, лютеолін та кверцетин.

Розчин густого екстракту хроматографували з достовірними зразками похідних гідроксикоричної кислоти в системах: I – н-бутанол – кислота оцтова – вода (4:1:2) і II – 15% кислота оцтова з наступною обробкою хроматограм парами аміаку та діазореактивом. Встановили, що в екстракті міститься хлорогенова кислота (I – $R_s=0,62$; II – $R_s=0,70$) та кумарова кислота (I – $R_s=0,90$; II – $R_s=0,60$)

Фенолокислоти досліджували методом хроматографії на папері в 2% оцтової кислоти висхідним способом. Детектування кислот проводили в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм [3].

При детектуванні фенолокислот в УФ-світлі виявлено кілька плям з блакитною, блакитно-зеленою та блакитно-фіолетовою флуоресценцією, які після прояву хроматограми реактивом Паулі набували забарвлення у видимому світлі. За хроматографічною поведінкою (забарвлення плям в УФ-світлі, значення R_f при порівнянні зі стандартами) були ідентифіковані галова ($R_f=0,61$) та елагова ($R_f=0,71$) кислоти.

У результаті хроматографічного вивчення спиртового екстракту та продуктів його гідролізу (5% сірчаною кислотою) за допомогою паперової хроматографії (ПХ) в системах: I – н-бутанол – кислота оцтова – вода (4:1:2), II – 5%, III – 30% та IV – 60% кислота оцтова з використанням 1% спиртового розчину заліза хлориду (III) як хромогенного реактиву встановили наявність галової та елагової кислот.

Кількісне визначення похідних гідроксикоричної кислоти, флавоноїдів та поліфенольних

сполук проводили спектрофотометричним методом. Оптичну густину вимірювали в кюветі з товщиною шару 10 мм на спектрофотометрі Specol 1500 (Швейцарія) за відповідної довжини хвилі [5]. Виміри проводили 5 разів. Статистичну обробку результатів проводили згідно з вимогами ДФУ [5].

Вміст похідних гідроксикоричних кислот визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на хлорогенову кислоту. Максимум поглинання РСЗ хлорогенової кислоти відбувається при 327 нм, тому виміри проводили при цій довжині хвилі [4, 6].

1,0 г густого екстракту (точна наважка) кількісно поміщали в мірну колбу ємністю 100,0 мл, розчиняли в 96% спирті етиловому, доводили об'єм до мітки тим же розчинником та перемішували (розчин А). 1,0 мл розчину А поміщали в мірну колбу ємністю 25,0 мл, доводили об'єм до мітки 20% спиртовим розчином, перемішували. 1,0 мл розчину поміщали в мірну колбу ємністю 10,0 мл, доводили об'єм до мітки 20% спиртовим розчином і фільтрували та вимірювали оптичну густину. Паралельно 0,05 г (точна наважка) хлорогенової кислоти (РОТУ 6-09-14-66) поміщали в мірну колбу ємністю 100,0 мл, розчиняли в 20% спирті етиловому, доводили об'єм тим же розчинником до мітки. 1,0 мл отриманого розчину поміщали в мірну колбу ємністю 50,0 мл, доводили об'єм до мітки 20% етиловим спиртом, перемішували та вимірювали оптичну густину в таких же умовах, як і досліджуваний розчин. Розчином порівняння служив 20% спирт етиловий.

Вміст суми похідних гідроксикоричної кислоти в екстракті з листя мучниці у відсотках (X) у перерахунку на хлорогенову кислоту обчислювали за формулою:

$$X = \frac{D_1 \cdot a_0 \cdot 100 \cdot 10 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot a_1 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 100 \cdot 50 \cdot (100 - w)}$$

де D_1 – оптична густина досліджуваного розчину; D_0 – оптична густина розчину РСЗ хлорогенової кислоти; a_1 – наважка екстракту в грамах; a_0 – наважка РСЗ хлорогенової кислоти в грамах; w – втрата в масі при висушуванні у відсотках.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Після статистичної обробки встановили, що в екстракті міститься $2,83 \pm 0,02\%$ похідних гідроксикоричних кислот.

Вміст суми флавоноїдів визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на рутин після утворення комплексу з $AlCl_3$ при довжині хвилі 417 нм [4, 6].

1,0 мл розчину А поміщали в мірну колбу ємністю 10,0 мл, додавали 1,0 мл 3% алюмінію хлориду в 96% спирті етиловому, доводили об'єм 70% спиртом до мітки та перемішували. Через 30 хв. розчин фільтрували крізь паперовий фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші порції фільтрату, та вимірювали оптичну густину при довжині хвилі 417 нм. Розчином порівняння служив розчин, що містить 1,0 мл розчину А, доведений у мірній колбі ємністю 10,0 мл до мітки 70% спиртом [5]. Паралельно в тих же умовах проводили дослід з РСЗ рутину: 0,01г (точна наважка) рутину (ФС 42-2508-87), висушеного при температурі 135°C до постійної маси, поміщали в мірну колбу ємністю 25,0 мл, розчиняли в 96% спирті етиловому, доводили об'єм до мітки і перемішували. До 1 мл отриманого розчину РСЗ рутину додавали 1,0 мл 3% алюмінію хлориду і доводили 70% спиртом до 25,0 мл [5]. Як розчин порівняння використовували розчин РСЗ рутину, доведений у мірній колбі ємністю 25,0 мл до мітки 70% етиловим спиртом. Перед вимірюванням оптичної густини розчини фільтрували через паперовий фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші порції фільтрату.

Вміст суми флавоноїдів в екстракті в перерахунку на рутин обчислювали у відсотках за формулою:

$$X = \frac{D_1 \cdot a_0 \cdot 100 \cdot 1 \cdot 10 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot a_1 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 10 \cdot (100 - w)},$$

де D_1 — оптична густина випробуваного розчину; D_0 — оптична густина розчину комплексу РСЗ рутину з алюмінію хлоридом; a_1 — наважка екстракту в грамах; a_0 — наважка РСЗ рутину; w — втрата в масі при висушуванні у відсотках.

Після статистичної обробки встановили, що в екстракті міститься 1,24±0,01% суми флавоноїдів.

Вміст суми поліфенольних сполук визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на галову кислоту, тому що вона є їх основним компонентом. Максимум поглинання РСЗ галової кислоти відбувається при 214 та 270 нм. Виміри доцільніше проводити при 270 нм, тому що при цьому вплив супутніх речовин на результати вимірювання менший [4, 6].

1,0 мл розчину А поміщали в мірну колбу ємністю 25,0 мл, доводили об'єм 40% етиловим спиртом до мітки та перемішували. 1,0 мл отриманого розчину вносили в мірну колбу ємністю 10,0 мл та доводили об'єм тим же розчинником до мітки. Перед виміром оптичної густини розчини фільтрували. Як розчин порівняння використовували 40% спирт етиловий [4, 6].

Вміст суми поліфенольних сполук (X) у перерахунку на кислоту галову обчислювали у відсотках за формулою:

$$X = \frac{D \cdot 100 \cdot 25 \cdot 10 \cdot 100}{540 \cdot m \cdot 1 \cdot 1 \cdot (100 - w)},$$

де D — оптична густина випробуваного розчину; m — маса наважки екстракту в грамах; 540 — коефіцієнт питомого поглинання розчину кислоти галової в 40% спирті при довжині хвилі 270 нм; w — втрата в масі при висушуванні сировини у відсотках.

Після статистичної обробки встановили, що в екстракті міститься 15,99±0,01% поліфенольних сполук.

Статистично оброблені результати кількісного визначення БАР наведені в табл. 1.

ВИСНОВКИ

Досліджено склад фенольних сполук спиртового екстракту з трави лаванди вузьколистої, зокрема ідентифіковано: дві фенолкарбонові кислоти — галову та елагову, гідроксікоричні кислоти — хлорогенову та кумарову, три кумарини — кумарин, метилумбеліферон та герніарин, три флавоноїдні аглікони — апігенін, лютеолін та кверцетин.

ТАБЛИЦЯ 1

Кількісний вміст фенольних сполук у густому спиртовому екстракті з трави лаванди вузьколистої

Сполуки	Метод	Кількісний вміст, %
Похідні гідроксікоричної кислоти	Спектрофотометричний метод у перерахунку на хлорогенову кислоту	2,83±0,02
Флавоноїди	Спектрофотометричний метод у перерахунку на рутин	1,24±0,01
Поліфенольні сполуки	Спектрофотометричний метод у перерахунку на галову кислоту	15,99±0,02

Встановлено вміст похідних гідрокси-коричної кислоти ($2,83 \pm 0,02\%$), флавоноїдів ($1,24 \pm 0,01\%$) та поліфенольних сполук ($15,99 \pm 0,02\%$) в густому спиртовому екстракті з трави лаванди вузьколистої, що буде використано для його подальшої стандартизації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Компендиум 2008 — лекарственные препараты / Под ред. В.Н.Коваленко, А.П.Викторова. — К.: Морион, 2008. — 2270 с.
2. Применение цветных реакций для обнаружения флавоноидов путем хроматографии на бумаге / В.А.Бандюкова // Растительные ресурсы. — Т.1, №4. — 1965. — С. 591-597.
3. Фенолоксилоны растений, их эфиры и гликозиды / В.А.Бандюкова // Химия природных соединений. — 1983. — №3. — С. 263-272.
4. Дослідження фенольних сполук листя евкаліпта / О.М.Кошовий, А.М.Комісаренко, А.М.Ковальова та співавт. // Фармаком. — 2005. — №2-3. — С. 151-161.
5. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. — Доп. 2. — Харків: ДП «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.
6. Розробка метода стандартизації нового лікарського засобу іфламін / А.М.Ковальова, Г.В.Георгієвський, В.М.Ковальов и співавт. // Фармаком. — №2. — 2002. — С. 92-97.

А.С.Гейдерих, Т.В.Упыр, А.Н.Комисаренко, О.Н.Кошевой. Исследование фенольных соединений спиртового экстракта из травы лаванды узколистной. Харьков, Украина.

Ключевые слова: лаванда узколистная, густой экстракт, спирт, фенольные соединения.

Исследован состав фенольных соединений спиртового экстракта из травы лаванды узколистной, в частности идентифицированы две фенолкарбоновые кислоты — галловая и эллаговая, гидроксикоричные кислоты — хлорогеновая и кумаровая, три кумарина — кумарин, метилумбелиферон и герниарин, три флавоноидных агликона — апигенин, лютеолин и кверцетин. Установлено содержание производных гидроксикоричной кислоты ($2,83 \pm 0,02\%$), флавоноидов ($1,24 \pm 0,01\%$) и полифенольных соединений ($15,99 \pm 0,02\%$) в густом спиртовом экстракте из травы лаванды узколистной.

A.S.Geiderikh, T.V.Upyr, A.N.Komissarenko, O.N.Koshevoy. The study of phenolic compounds of alcoholic extract from the herba of Lavandula. Kharkiv, Ukraine.

Key words: Lavandula angustifolia, thick extract, alcohol, phenolic compounds.

The composition of phenolic compounds in the alcoholic extract from herb of Lavandula angustifolia was investigated particularly 2 phenolcarboxylic acid: gallic, ellagic; hydroxycinnamic acids: coumaric and chlorogenic acids; 3 coumarins: coumarin, metilumbeliferon and gernerarin; 3 ahlikon flavonoids: apigenin, luteolin and quercetine. Contents of phenolic compounds in the dense alcohol extract from the herb Lavandula angustifolia hydroxycinnamic acid derivatives are $2,83 \pm 0,02\%$, flavonoids — $1,24 \pm 0,01\%$ and polyphenols compounds — $15,99 \pm 0,02\%$. It will be used to further standardize of the extract.

Надійшла до редакції 13.11.2011 р.