

## Дослідження фенольних сполук спиртового екстракту з листя брусниці звичайної

М.А.Комісаренко, А.С.Гейдерих, А.М.Ковальова, О.М.Кошовий

Національний фармацевтичний університет  
Харків, Україна

Досліджено склад фенольних сполук спиртового екстракту з листя брусниці звичайної, зокрема ідентифіковано арбутин, дві фенолкарбонові кислоти — галова та елагова, три гідроксикоричні кислоти — хлорогенова, кумарова та ферулова, чотири кумарини, три флавоноїдні аглікони — лютеолін, кемпферол та кверцетин. гало- та елаготаніни. Встановлено вміст похідних гідроксикоричної кислоти ( $2,19 \pm 0,02\%$ ), арбутину ( $10,88 \pm 0,02\%$ ), флавоноїдів ( $3,14 \pm 0,01\%$ ) та поліфенольних сполук ( $24,75 \pm 0,02\%$ ) в густому спиртовому екстракті з листя брусниці звичайної, що буде використано для його подальшої стандартизації.

**Ключові слова:** вересові, спирт, фенольні сполуки, екстракт.

### ВСТУП

В Україні та Російській Федерації зареєстровані такі препарати та біологічно активні добавки, як складний настій Панкова, Брусниці лист, «Фиторен», «Милона-14», до складу яких входять біологічно активні речовини (БАР) листя брусниці [1].

Основними БАР листя брусниці звичайної є, фенольні сполуки: прості феноли, фенолкарбонові та гідроксикоричні кислоти, флавоноїди та дубільні речовини.

Хвороби нирок і сечовивідних шляхів займають серед захворювань лідируюче місце. Кожна третя людина схильна до захворювань сечостатевої системи. В Україні 10% населення мають ознаки хронічних захворювань сечостатевої системи. Для лікування цих захворювань у традиційній медицині використовують відвар листя брусниці. Ця сировина входить до скла-

ду багатьох зборів, але монопрепарату з неї на ринку України немає [1].

Метою дослідження було дослідити хімічний склад фенольних сполук густого спиртового екстракту з листя брусниці звичайної для створення нового лікарського засобу.

### ОСНОВНА ЧАСТИНА

Об'єктом дослідження був густий спиртовий екстракт з листя брусниці звичайної, отриманий екстракцією 96% спиртом у співвідношенні 1:10 при кімнатній температурі протягом доби. Аналіз отриманого екстракту проводили згідно з ДФУ [8] та віднесли його до густого екстракту.

Попередній хімічний аналіз отриманого екстракту проводили загальноприйнятими методами: якісними реакціями, паперовою хроматографією (ПХ) та хроматографією в тонкому шарі сорбента (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 та діазореактивом [2].

Кількісне визначення похідних гідроксикоричної кислоти, флавоноїдів та поліфенольних сполук проводили спектрофотометричним методом. Оптичну густину вимірювали в кюветі з товщиною шару 10 мм на спектрофотометрі Spocol 1500 (Швейцарія) за відповідної довжини хвилі [6]. Виміри проводили 5 разів. Статистичну обробку результатів проводили згідно з вимогами ДФУ [5].

Арбутин. Ідентифікацію арбутину в досліджуваному екстракті проводили методом ТШХ в порівнянні з достовірним зразком у системі хлороформ — етанол (6:4). Хроматограму проявляли 10% спиртовим розчином гідрокси-

ду натрію та реактивом Паулі. Арбутин проявляється у вигляді червоно-оранжевої плями на рівні достовірного зразка. При цьому на хроматограмі виявляються плями інших фенольних сполук [3].

Вміст арбутину в екстракті визначали титрометричним методом згідно з ГФ XI [7] та обчислювали в перерахунку на абсолютно сухий екстракт у відсотках (X) за формулою:

$$X = \frac{V \cdot 0,01361 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 50 \cdot (100 - w)},$$

де: 0,01361 — кількість арбутину, що відповідає 1 мл розчину йоду (0,1 моль/л), г; V — об'єм розчину йоду (0,1 моль/л), витраченого на титрування, мл; m — маса екстракту, г; W — втрата в масі при висушуванні екстракту, %.

Після статистичної обробки встановили, що в екстракті міститься 10,88±0,02% арбутину.

Похідні гідроксикоричної кислоти. Розчин густого екстракту хроматографували з достовірними зразками похідних гідроксикоричної кислоти в системах: I — н-бутанол — кислота оцтова — вода (4:1:2); II — 15% кислота оцтова з наступною обробкою хроматограм парами аміаку та діазореактивом. Встановили, що в екстракті міститься хлорогенова, кумарова та ферулова кислоти.

Вміст похідних гідроксикоричних кислот визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на хлорогенову кислоту при довжині хвилі 327 нм [4, 6]. Вміст суми похідних гідроксикоричної кислоти в екстракті з листя брусниці у відсотках (X) у перерахунку на хлорогенову кислоту обчислювали за формулою:

$$X = \frac{D_1 \cdot a_0 \cdot 100 \cdot 10 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot a_1 \cdot 1 \cdot 2 \cdot 100 \cdot 50 \cdot (100 - w)},$$

де D<sub>1</sub> — оптична густина досліджуваного розчину; D<sub>0</sub> — оптична густина розчину РСЗ хлорогенової кислоти; a<sub>1</sub> — наважка екстракту, г; a<sub>0</sub> — наважка РСЗ хлорогенової кислоти, г; w — втрата в масі при висушуванні, %.

Після статистичної обробки встановили, що в екстракті міститься 2,19±0,02% похідних гідроксикоричних кислот.

Флаваноїди. 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 шести речовин флавоноїдної природи. Для встановлення природи агліконів прово-

дили кислотний гідроліз 8% хлористоводневою кислотою [2] та обробляли невеликою кількістю етилацетату, етилацетатну фракцію хроматографували в системі хлороформ — оцтова кислота — вода (13:6:2).

За характерною флуоресценцією, величиною R<sub>f</sub> та забарвленням плям на хроматограмі після обробки парами аміаку та розчином алюмінію хлориду в порівнянні з достовірними зразками аглікони флавоноїдів ідентифіковані як лютеолін, кемпферол, кверцетин.

Вміст суми флавоноїдів визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на рутин після утворення комплексу з AlCl<sub>3</sub> при довжині хвилі 417 нм [4, 6]. Вміст суми флавоноїдів в екстракті в перерахунку на рутин обчислювали у відсотках за формулою:

$$X = \frac{D_1 \cdot a_0 \cdot 100 \cdot 2 \cdot 10 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot a_1 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 10 \cdot (100 - w)},$$

де D<sub>1</sub> — оптична густина випробуваного розчину; D<sub>0</sub> — оптична густина розчину комплексу РСЗ рутину з алюмінію хлоридом; a<sub>1</sub> — наважка екстракту, г; a<sub>0</sub> — наважка РСЗ рутину, г; w — втрата в масі при висушуванні, %.

Після статистичної обробки встановили, що в екстракті міститься 3,14±0,01% суми флавоноїдів.

Поліфенольні сполуки. 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 та гало-, елаготанінів.

Вміст суми поліфенольних сполук визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на галову кислоту при довжині хвилі 270 нм [4, 6]. Вміст суми поліфенольних сполук (X) обчислювали у перерахунку на галову кислоту у відсотках за формулою:

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

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

Після статистичної обробки встановили, що в екстракті міститься 24,75±0,01% поліфеноль-

ТАБЛИЦЯ 1

## Кількісний вміст фенольних сполук у густому спиртовому екстракті з листя брусниці

Група БАР	Кількісний вміст, %
<b>Арбутин:</b>	
Титриметричний метод	10,88±0,02
<b>Похідні гідроксикоричної кислоти:</b>	
Спектрофотометричний метод у перерахунку на хлорогенову кислоту	2,19±0,02
<b>Флавоноїди:</b>	
Спектрофотометричний метод у перерахунку на рутин	3,14±0,01
<b>Поліфенольні сполуки:</b>	
Спектрофотометричний метод у перерахунку на галову кислоту	24,75±0,02

них сполук.

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

## ВИСНОВКИ

Досліджено склад фенольних сполук спиртового екстракту з листя брусниці звичайної, зокрема ідентифіковано арбутин, дві фенолкарбонові кислоти — галова та елагова, три гідроксикоричні кислоти — хлорогенова, кумарова та ферулова, чотири кумарини, три флавоноїдні аглікони — лутеолін, кемпферол та кверцетин, гало- та елаготаніни.

Встановлено вміст похідних гідроксикоричної кислоти (2,19±0,02%), арбутину (10,88±0,02%), флавоноїдів (3,14±0,01%) та поліфенольних сполук (24,75±0,02%) в густому спиртовому екстракті з листя брусниці звичайної, 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. — 1965. — Т.1, №4. — С. 591-597.
3. Содержание арбутина в *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. из разных районов Народной Республики Болгарии / Г.М.Китанов, Е.М.Генова, В.М.Руменин // Растительные ресурсы. — №3. — 1986. — С. 425-431.
4. Дослідження фенольних сполук листя евкаліпта / О.М.Кошовий, А.М.Комісаренко, А.М.Ковальова [и др.] // 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 піфламін / А.М.Ковальова, Г.В.Георгієвський, В.М.Ковальов [и др.] // Фармаком. — 2002. — №2. — С. 92-97.
7. Государственная фармакопея СССР. 11-е изд. Вып. I. — М.: Медицина, 1987. — 334 с.

*Н.А.Комиссаренко, А.С.Гейдерих, А.М.Ковалева, О.Н.Кошевой. Исследование фенольных соединений спиртового экстракта из листьев брусники обыкновенной. Харьков, Украина.*

**Ключевые слова:** вересковые, спирт, фенольные соединения, экстракт.

*Исследован состав фенольных соединений спиртового экстракта из листьев брусники обыкновенной, в частности идентифицированы арбутин, две фенолкарбоновые кислоты — галловая и эллаговая, три гидроксикоричные кислоты — хлорогеновая, кумаровая и феруловая, четыре кумарини, три флавоноидные агликоны — лутеолин, кемпферол и кверцетин, галло- и элаготанины. Установлено содержание производных гидроксикоричный кислоты (2,19±0,02%), арбутина (10,88±0,02%), флавоноидов (3,14±0,01%) и полифенольных соединений (24,75±0,02%) в густом спиртовом экстракте из листьев брусники обыкновенной, что будет использовано для его дальнейшей стандартизации.*

*Н.А.Комиссаренко, А.С.Гейдерих, А.М.Ковалева, О.Н.Кошевой. The study of phenolic compounds of alcoholic extract from the leaves of *vaccinium vitis-idaea*. Kharkiv, Ukraine.*

**Key words:** Ericaceae, alcohol, phenolic compounds, extract.

*The composition of phenolic compounds in the alcoholic extract from leaves of *vaccinium vitis-idaea*, was investigated 2 phenolcarboxylic acid: gallic and ellagic acid, hydroxycinnamic acids: coumaric, chlorogenic and ferulic acids, 4 coumarin, 3 ahlikon flavonoids: luteolin, kaempferol, quercetin; galo- and elahotanins were identified. Contents of phenolic compounds in the dense alcohol extract from the leaves *vaccinium vitis-idaea*: hydroxycinnamic acid derivatives are 2,19±0,02%, arbutin 10,88±0,02%, flavonoids 3,14±0,01% and polyphenols compounds 24,75±0,02%. It will be used to further standardize of the extract.*

Надійшла до редакції 27.10.2011 р.