

Рекомендована д. фармац. наук, проф. С. М. Марчишин

УДК 54.062:547.98:582.71

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПЛУК У ПАГОНАХ ДЕЯКИХ ВИДІВ ОЖИНИ

© С. В. Ковальов

Національний фармацевтичний університет, Харків

Резюме: у статті наведено результати визначення кількісного вмісту у пагонах ожини білястої, о. широковолатеподібної та о. шорсткої гідроксикоричних кислот ((4,31±0,02) %, (2,76±0,02) %, (5,52±0,03) % відповідно), флавоноїдів ((4,37±0,09) %, (3,49±0,11) %, (2,78±0,08) % відповідно), дубильних речовин ((11,42±0,22) %, (7,52±0,22) %, (19,81±0,22) % відповідно), органічних кислот ((11,42±0,22) %, (12,01±0,22) %, (11,54±0,22) % відповідно).

Ключові слова: ожина біляста, о. широковолатеподібна, о. шорстка, кількісний вміст, фенольні сполуки, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, дубильні речовини, органічні кислоти.

Вступ. Рід Ожина (*Rubus* L.) належить до родини Розових (*Rosaceae*) роду *Rubus*. На території України зустрічаються 19 видів ожини, найпоширенішими є ожина сиза, о. анатолійська, о. шорстка, о. широковолатеподібна, о. біляста. Зарості ожини добре плодоносять у лісах, горах та ярах [1, 2]. Корисні властивості ожини зумовлені її унікальним біохімічним складом. Ягоди ожини містять 9,3–24,3 % сухих речовин, серед яких 5,1–13 % цукрів (глюкоза та фруктоза), 0,5–1,5 % органічних кислот, від 2 до 4 % клітковини, дубильні речовини, до 1,8 % пектинових речовини. До складу ягід і листя входять мікро- та макроелементи, вітаміни А, С, В₁, В₂, К. Вміст нікотинової кислоти значно вищий, ніж у інших плодово-ягідних рослин [1–4]. Найбільше досліджено ожину сизу, де виявлено гідроксикоричні кислоти, галола і елагова кислоти, флавоноїди [5, 6]. Стосовно ожини анатолійської, о. кавказької, о. куцової, то вони вивчені менше. Практично не вивчені ожина біляста (*Rubus sandicans* Weihe), о. широковолатеподібна (*R. eurythrsiger* Juz.), о. шорстка (*R. hirtus* Waldst. et Kit.). В Україні здавна вживають настої та відвари з сушених ягід ожини як потогінний засіб. Настої листя використовують при захворюваннях верхніх дихальних шляхів як відхаркувальний засіб. Ожина регулює діяльність кишечника, при в'ялому травленні вживають відвар кореня ожини. Настої, напари та відвари листя та молодих пагонів застосовують як протизапальний засіб при гінгівітах, стоматитах та ангінах. Лист ожини також входить до складу багатьох сечогінних зборів, діє як дезінфікуючий та протизапальний засіб на сечовидільні шляхи. Відвар листя з плодами ожини знижує кров'яний тиск. Для лікування атеро-

склерозу та гіпертонії приймають настій з суміші ожини з іншими складовими. Ефективним засобом лікування клімактеричного неврозу є чай з листя та плодів ожини. Використовують чай з листя ожини у період клімаксу [7–9]. Листя ожини входять до складу зборів, які використовують при недокрів'ї, анемії, рясних кровотечах. Довготривале вживання чаю з листя ожини покращує обмін речовин при цукровому діабеті. Листя ожини входить до складу чаю для схуднення. Маска зі свіжого подрібненого листя ожини корисна для жирної шкіри. Фітокомплекси з листя ожини сизої виявили капіляростимувальну, мембраностабілізуювальну та кровоспинну дію [10]. Ці розробки стали поштовхом для подальшого дослідження пагонів деяких видів ожини.

Метою даної роботи є визначення кількісного вмісту фенольних сполук у пагонах ожини білястої, о. широковолатеподібної та о. шорсткої.

Методи дослідження. Об'єктом дослідження були пагони ожини білястої, о. широковолатеподібної та о. шорсткої, заготовлені в Івано-Франківській області та у Криму у 2011–2012 роках.

Для визначення основних груп біологічно активних речовин у пагонах досліджуваних видів ожини одержували екстракти наступним способом: 50,0 г подрібненої сировини вичерпно екстрагували хлороформом в апараті Сокслета. Отримані хлороформні екстракти концентрували до повного видалення екстрагенту і використовували для подальшого дослідження. Згущені ліпофільні екстракти піддавали хроматографічному дослідженню на наявність хлорофілів, каротиноїдів, кумаринів, фосфоліпідів, стероїдів.

Знежирену сировину сушили до видалення залишку хлороформу і трічі екстрагували у колбі

з відповідним екстрагентом (гаряча вода або 70 % спирт етиловий) у співвідношенні сировина – екстрагент 1:10, при нагріванні на киплячій водяній бані протягом 30 хвилин. Отримані екстракти з'єднували.

Водні екстракти послідовно обробляли органічними розчинниками з полярністю, що збільшується (етилацетатом, етилацетатно-спиртовими сумішами та н-бутиловим спиртом). Отримані витяжки випарювали у вакуумі до густого залишку і визначали наявність флавоноїдів, похідних гідроксикоричних кислот, дубильних речовин та органічних кислот.

На підставі якісних реакцій, хроматографічних методів аналізу були виявлені флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, органічні кислоти та дубильні речовини, що є підставою для визначення їх кількісного вмісту.

Кількісний вміст гідроксикоричних кислот та флавоноїдів проводився спектрофотометричним методом. Оптичну густину вимірювали у кюветі з товщиною шару 10 мм на спектрофотометрі СФ-46 за відповідної довжини хвилі [11]. Вміст дубильних речовин та органічних кислот визначали за фармакопейними методиками [12].

Для визначення загальної кислотності попередньо, перед проведенням кількісного аналізу, сировину екстрагували хлороформом для видалення хлорофілу, забарвлення якого заважає при титруванні [13]. Вміст вільних органічних кислот визначали у перерахунку на яблучну кислоту в абсолютно сухій сировині.

Гідроксикоричні кислоти. Вміст гідроксикоричних кислот визначали спектрофотометричним методом, у перерахунку на кислоту хлорогенову. Вимірювання проводили при довжині хвилі 327 нм.

2,5 г (точна наважка) подрібнених пагонів ожини, яка проходить крізь сито з діаметром отворів 1 мм, вміщували в колбу місткістю 200 мл, додавали 60 мл води. Колбу з'єднували зі зворотним холодильником і нагрівали на киплячому водяному огрівнику протягом 15 хвилин. Екстрагування проводили двічі. Екстракти з'єднували і після охолодження фільтрували через паперовий фільтр на воронці Бюхнера. Фільтрат кількісно переносили в мірну колбу місткістю 200 мл і доводили об'єм до мітки (розчин А).

У мірну колбу місткістю 25 мл вносили 1 мл розчину А і розчиняли у 20 % спирті, доводили об'єм до мітки тим самим розчинником. Оптичну густину одержаного розчину вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 327 нм. Як розчин порівняння використовували 20 % спирт [12].

Вміст суми гідроксикоричних кислот у відсотках, у перерахунку на кислоту хлорогенову, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 200 \cdot 25 \cdot 100}{E_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot m \cdot 1 \cdot (100 - W)},$$

де А – оптична густина досліджуваного розчину;

m – наважка сировини, г;

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

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Флавоноїди. Вміст суми флавоноїдів визначали спектрофотометричним методом, у перерахунку на рутин.

1,0 г (точна наважка) подрібнених пагонів ожини, яка проходить крізь сито з діаметром отворів 1 мм, поміщали в колбу зі шліфом місткістю 150 мл, додавали 30 мл 70 % спирту. Колбу зважували (з похибкою $\pm 0,01$), приєднували до зворотного холодильника і нагрівали на киплячому водяному огрівнику протягом двох годин, періодично струшуючи для змивання часток сировини зі стінок. Після охолодження колбу знову закривали пробкою, зважували, збиток у масі доповнювали 70 % спиртом і настоювали при періодичному збовтуванні протягом 1 години. Фільтрували через паперовий фільтр (розчин А).

У мірну колбу місткістю 25 мл вміщували 1 мл розчину А, додавали 2 мл розчину алюмінію хлориду в 95 % спирті і доводили об'єм розчину 95 % спиртом до мітки (випробовуваний розчин). Через 40 хв вимірювали оптичну густину розчину на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 415 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин для порівняння використовували розчин, який містив 1 мл розчину А, 2 краплі розведеної оцтової кислоти і доведений 95 % спиртом до мітки в мірній колбі місткістю 25 мл.

Паралельно вимірювали оптичну густину розчину ДСЗ рутину, приготовленого аналогічно досліджуваному розчину.

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин і абсолютно суху сировину, у відсотках, розраховували за формулою:

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 30 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot m \cdot 100 \cdot (100 - W)},$$

де А – оптична густина випробовуваного розчину;

A_0 – оптична густина комплексу розчину ДСЗ ДФУ рутину з алюмінію хлоридом;

m – наважка сировини, г;

m_0 – наважка ДСЗ ДФУ рутину, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Примітка. Приготування розчину Державного стандартного зразка (ДСЗ) рутину: близько 0,05 г (точна наважка) ДСЗ рутину, попередньо висушеного при температурі 130 – 135 °С протягом 3 год, розчиняють

у 85 мл 95 % спирту в мірній колбі місткістю 100 мл при нагріванні на водяній бані, охолоджують, кількісно переносять у мірну колбу місткістю 100 мл, доводять об'єм розчину тим самим спиртом до мітки і перемішують.

Результати й обговорення. У результаті проведених досліджень у пагонах досліджуваних видів ожини визначено кількісний вміст гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, дубильних речовин та органічних кислот (табл. 1).

Таблиця 1. Метрологічні характеристики визначення кількісного вмісту фенольних сполук у пагонах досліджуваних видів ожини

Досліджуваний вид	$x_i, \%$	Статистичні дані
Гідроксикоричні кислоти		
Ожина біляста	4,310	$\bar{x} = 4,31$
	4,310	$S^2 = 0,0005$
	4,311	$S_{\bar{x}} = 0,0100$
	4,309	$\Delta\bar{x} = \pm 0,02$
	4,310	$\bar{\varepsilon} = 0,65\%$
Ожина широковолодетеподібна	2,760	$\bar{x} = 2,76$
	2,761	$S^2 = 0,0005$
	2,761	$S_{\bar{x}} = 0,0100$
	2,759	$\Delta\bar{x} = \pm 0,02$
	2,759	$\bar{\varepsilon} = 1,08\%$
Ожина шорстка	5,520	$\bar{x} = 5,52$
	5,520	$S^2 = 0,0005$
	5,521	$S_{\bar{x}} = 0,0100$
	5,519	$\Delta\bar{x} = \pm 0,03$
	5,520	$\bar{\varepsilon} = 0,51\%$
Флавоноїди		
Ожина біляста	4,372	$\bar{x} = 4,37$
	4,370	$S^2 = 0,0005$
	4,371	$S_{\bar{x}} = 0,0316$
	4,369	$\Delta\bar{x} = \pm 0,09$
	4,370	$\bar{\varepsilon} = 2,01\%$
Ожина широковолодетеподібна	3,493	$\bar{x} = 3,49$
	3,491	$S^2 = 0,0063$
	3,491	$S_{\bar{x}} = 0,0354$
	3,489	$\Delta\bar{x} = \pm 0,11$
	3,490	$\bar{\varepsilon} = 2,82\%$
Ожина шорстка	2,783	$\bar{x} = 2,78$
	2,780	$S^2 = 0,0045$
	2,782	$S_{\bar{x}} = 0,0300$
	2,779	$\Delta\bar{x} = \pm 0,08$
	2,780	$\bar{\varepsilon} = 3,01\%$

Досліджуваний вид	$x_i, \%$	Статистичні дані
Дубильні речовини		
Ожина біляста	11,421 11,434 11,420 11,419 11,411	$\bar{x} = 11,42$ $S^2 = 0,0311$ $S_{\bar{x}} = 0,0788$ $\Delta\bar{x} = \pm 0,22$ $\bar{\varepsilon} = 1,92\%$
Ожина широковологтеподібна	7,521 7,541 7,521 7,519 7,507	$\bar{x} = 7,52$ $S^2 = 0,0312$ $S_{\bar{x}} = 0,0789$ $\Delta\bar{x} = \pm 0,22$ $\bar{\varepsilon} = 2,92\%$
Ожина шорстка	19,810 19,818 19,810 19,809 19,805	$\bar{x} = 19,81$ $S^2 = 0,0310$ $S_{\bar{x}} = 0,0787$ $\Delta\bar{x} = \pm 0,22$ $\bar{\varepsilon} = 1,11\%$
Органічні кислоти		
Ожина біляста	11,421 11,434 11,420 11,419 11,411	$\bar{x} = 11,42$ $S^2 = 0,0312$ $S_{\bar{x}} = 0,0788$ $\Delta\bar{x} = \pm 0,22$ $\bar{\varepsilon} = 1,92\%$
Ожина широковологтеподібна	12,011 12,023 12,010 12,009 12,002	$\bar{x} = 12,01$ $S^2 = 0,0311$ $S_{\bar{x}} = 0,0788$ $\Delta\bar{x} = \pm 0,22$ $\bar{\varepsilon} = 1,82\%$
Ожина шорстка	11,541 11,554 11,540 11,539 11,531	$\bar{x} = 11,54$ $S^2 = 0,0311$ $S_{\bar{x}} = 0,0788$ $\Delta\bar{x} = \pm 0,22$ $\bar{\varepsilon} = 1,90\%$

Як видно з даних, наведених в таблиці 1, вміст гідроксикоричних кислот у пагонах ожини білястої складає $(4,31 \pm 0,02) \%$, флавоноїдів – $(4,37 \pm 0,09) \%$, дубильних речовин – $(11,42 \pm 0,22) \%$, органічних кислот – $(11,42 \pm 0,22) \%$; у пагонах

ожини широковологтеподібної вміст гідроксикоричних кислот складає $(2,76 \pm 0,02) \%$, флавоноїдів – $(3,49 \pm 0,11) \%$, дубильних речовин – $(7,52 \pm 0,22) \%$, органічних кислот – $(12,01 \pm 0,22) \%$; у пагонах ожини шорсткої вміст гідроксикоричних кис-

лот складає $(5,52 \pm 0,03)$ %, флавоноїдів – $(2,78 \pm 0,08)$ %, дубильних речовин – $(19,81 \pm 0,22)$ %, органічних кислот – $(11,54 \pm 0,22)$ %.

Наведені дані свідчать, що пагони ожини білястої, о. широковолокотеподібної та о. шорсткої є перспективними для подальшого вивчення і використання їх як лікарської сировини для створення лікарських засобів.

Висновки. 1. Вперше проведено якісний аналіз пагонів ожини білястої, о. широковолокотеподібної та о. шорсткої. Виявлені перспективні групи біологічно активних речовин, а саме фла-

воноїди, гідроксикоричні кислоти, дубильні речовини та органічні кислоти.

2. Вперше у пагонах ожини білястої, о. широковолокотеподібної та о. шорсткої визначено кількісний вміст гідроксикоричних кислот ($(4,31 \pm 0,02)$ %, $(2,76 \pm 0,02)$ %, $(5,52 \pm 0,03)$ % відповідно), флавоноїдів ($(4,37 \pm 0,09)$ %, $(3,49 \pm 0,11)$ %, $(2,78 \pm 0,08)$ % відповідно), дубильних речовин ($(11,42 \pm 0,22)$ %, $(7,52 \pm 0,22)$ %, $(19,81 \pm 0,22)$ % відповідно), органічних кислот ($(11,42 \pm 0,22)$ %, $(12,01 \pm 0,22)$ %, $(11,54 \pm 0,22)$ % відповідно).

Література

1. Шеренговий П. З. І в Лісостепу, і на Поліссі буде рости ожина / П. З. Шеренговий // Сад, виноград і вино України. – 2005. – № 1/2 – С. 24–26.
2. Ярмілка В. В. Ожина – перспективна ягідна культура / В. В. Ярмілка // Дім, сад, огород. – 2007. – № 8 – С. 12–15.
3. Ткаченко Е. Н. Малина і ежевика / Е. Н. Ткаченко // Дом, сад, огород. – 2004. – № 3,4 – С. 61–63.
4. Шеренговий П. В. Ягоди – вкуснейшие, побеги – без шипов: Ежевика / П. В. Шеренговий, В. В. Силенко, О. А. Сердюк // Огородник. – 2007. – № 2 – С. 28–30.
5. Флавоноиды листьев малины и ежевики, их антиоксидантная активность / В. С. Никита, Г. В. Шендель, А. Я. Герчинов [и др.] // Химико-фармац. журн. – 2000. – Т. 34, № 11. – С. 25–27.
6. Гісцева О. А. Фармакогносичне вивчення пагонів ожини сизої та створення на її основі лікарських засобів: автореф. дис. ... канд. фармац. наук: 15.00.02 / О. А. Гісцева. – Х.: Б. в., 2005. – 20 с.
7. Болтарович Зоріана. Українська народна медицина: історія і практика / Зоріана Болтарович. – К.: Абрис, 1994. – 320 с.
8. Товстуха Е. С. Золоті рецепти української народної

медицини / Е. С. Товстуха. – Л.: KM Publishing, 2010. – 552 с.

9. Турова А. Д. Лекарственные растения СССР и их применение / А. Д. Турова, Э. М. Сапожникова. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1993. – 288 с.
10. Пат. 58820, Україна МПК А61/К35/78. Лікарський засіб з капіляррозміцнювальною, мембраностабілізуювальною та кровоспинною дією / Гісцева О. А., Ковальов В. М., Краснікова Т. О., Яковлева Л. В., Котелевць Н. В. – № u 200218739; заявл. 05.11.02; опубл. 15.08.03, бюл № 8.
11. Особенности применения стандартного образца рутина в анализе растительного сырья, витаминных и фитопрепаратов / Л. П. Смирнова, С. С. Николаева, В. А. Быков [и др.] // Хим.-фармац. журн. – 2000. – Т. 34, № 2. – С. 49–52.
12. Государственная Фармакопея СССР. Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. – 11-е изд. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.
13. Биологически активные вещества растительного происхождения: В 3 томах / [Б. Н. Головкин, Р. Н. Руденская, И. А. Трофимова и др.]. – М.: Наука, 2001–2002.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПОБЕГАХ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЕЖЕВИКИ

С. В. Ковалев

Национальный фармацевтический университет, Харьков

Резюме: в статье приведены результаты определения количественного содержания в побегах ежевики беловатой, е. ширококостевидной и е. жестковолосистой гидроксикоричных кислот ($(4,31 \pm 0,02)$ %, $(2,76 \pm 0,02)$ %, $(5,52 \pm 0,03)$ % соответственно), флавоноидов ($(4,37 \pm 0,09)$ %, $(3,49 \pm 0,11)$ %, $(2,78 \pm 0,08)$ % соответственно), дубильных веществ ($(11,42 \pm 0,22)$ %, $(7,52 \pm 0,22)$ %, $(19,81 \pm 0,22)$ % соответственно), органических кислот ($(11,42 \pm 0,22)$ %, $(12,01 \pm 0,22)$ %, $(11,54 \pm 0,22)$ % соответственно).

Ключевые слова: ежевика беловатая, е. ширококостевидная, е. жестковолосистая, количественное содержание, фенольные соединения, гидроксикоричные кислоты, флавоноиды, дубильные вещества, органические кислоты.

QUANTITATIVE DETERMINATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN SHOOTS OF DEWBERRY SPECIES

S. V. Kovalyov

National University of Pharmacy, Kharkiv

Summary: the results of quantitative content determination of hydroxycinnamic acid, flavonoids, tannins and organic acids in the shoots of Dewberry species are given in the article. The content of hydroxycinnamic acids of shoots of *Rubus candicans* is $4,31 \pm 0,02$ %, flavonoids – $4,37 \pm 0,09$ %, tannins – $11,42 \pm 0,22$ % and organic acids – $11,42 \pm 0,22$ %. The content of hydroxycinnamic acids of shoots of *Rubus eurythyriger* is $2,76 \pm 0,02$ %, flavonoids – $3,49 \pm 0,11$ %, tannins – $7,52 \pm 0,22$ % and organic acids – $12,01 \pm 0,22$ %. The content of hydroxycinnamic acids of shoots of *Rubus hirtus* is $5,52 \pm 0,03$ %, flavonoids – $2,78 \pm 0,08$ %, tannins – $19,81 \pm 0,22$ % and organic acids – $11,54 \pm 0,22$ %.

Key words: Dewberry, *Rubus candicans*, *Rubus eurythyriger*, *Rubus hirtus*, assay, phenolic compounds, hydroxycinnamic acids, flavonoids, tannins, organic acids.