

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН В ЕКСТРАКТАХ ЛИСТЯ ЧОРНИЦІ ЗВИЧАЙНОЇ

© О. З. Барчук, Л. В. Вронська

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського

Резюме: проведено аналіз екстрактів листя чорниці звичайної, визначено вміст поліфенолів, проантоціанідинів та арбутину, досліджено залежність їх вмісту від концентрації спирту етилового.

Ключові слова: поліфеноли, проантоціанідини, арбутин, екстракти, листя, чорниця звичайна.

Вступ. Важливим завданням фармацевтичної науки є пошук та створення лікарських препаратів на основі лікарської рослинної сировини. Однією з рослин, що широко використовується в медицині, є чорниця звичайна (*Vaccinium myrtillus* L.) – багаторічний чагарник з родини вересових (Ericaceae) [1]. У листі чорниці звичайної переважають флавоноїди (похідні кверцетину та кемферолу), проантоціанідини, дубильні речовини, фенольні сполуки – неоміртилін, міртилін (2 %), арбутин (1 %), тритерпени (олеанолова та урсолова кислоти), вітаміни групи В, каротиноїди, органічні кислоти [1-3]. У медичній практиці листя чорниці звичайної виявляє протидіабетичну активність [3], С- і Р-вітамінну активність. Листя чорниці – основа багатьох протидіабетичних зборів, ефективних при інсулінозалежному цукровому діабеті [3]. Встановлено сприятливий вплив листя чорниці на процес окисного фосфорильовання в мітохондріях печінки [4, 5]. При атеросклерозі листя чорниці проявляє мембраностабілізуючу і колагенстабілізуючу активність на стінки судин, що сприяє зменшенню кількості склеротичних бляшок, не впливаючи на рівень холестерину [3, 5]. Настій з листя чорниці призначають в нефрології та урології при уретритах, пієлітах, циститах, у зборах – при нирковокам'яній та жовчнокам'яній хворобах [3].

В Україні існує велика сировинна база чорниці, тому актуальним є напрямок з розробки якісних і доступних вітчизняних препаратів рослинного походження на її основі. Мета роботи – визначити вміст поліфенолів, проантоціанідинів і арбутину в екстрактах листя чорниці звичайної, отриманих за допомогою екстрагентів із різним вмістом спирту етилового.

Методи дослідження. Кількісне визначення поліфенолів [6, 7], суми проціанідинів [8] проводили методом спектрофотометрії за модифікованими нами методиками, наведеними ниж-

че. Запис спектрів та вимірювання оптичної густини проводили на спектрофотометрі Cary-50. Кількісне визначення арбутину проводили титриметричним методом [9].

Екстракти листя чорниці отримували шляхом реперколяції, використовуючи сировину – листя чорниці звичайної, зібрану в серпні 2010 р. в Івано-Франківській області (с. Витвиця) і застосовуючи як екстрагенти воду і спиртові розчини різної концентрації. Для всіх отриманих екстрактів зберігалось однаковим екстракційне співвідношення сировина – екстракт. Таким чином нами одержано 11 рідких екстрактів, які в подальшому аналізували на вміст біологічно активних речовин (БАР).

Усі використовувані реактиви та розчини реагентів готували згідно з методиками, наведеними у ДФУ [10] або їх опис наведено одразу у методиці, де реагент застосовується.

Результати й обговорення. Фармакологічна активність листя чорниці звичайної зумовлена комплексом БАР, які присутні у цій лікарській рослинній сировині. Нами зроблено спробу дослідити динаміку вмісту окремих з них залежно від концентрації спирту етилового в екстрагенті, використовуваному для отримання екстракту. Показниками якості екстрактів нами обрано вміст поліфенолів, проантоціанідинів і арбутину. Для кількісного визначення БАР застосовували відомі методики, але зі змінами, тому наводимо їх детальний опис.

Методика кількісного визначення поліфенолів в екстрактах листя чорниці звичайної.

Випробуваний розчин. До аліквотної частини розчину досліджуваного спиртового екстракту, достатню для отримання оптичної густини в межах 0,2–0,6, додають 1,0 мл фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву Р, 10,0 мл води Р і доводять об'єм розчину до 25,0 мл розчином 290 г/л натрію карбонату Р. Через 30 хв вимірюють оптичну густину розчину при довжині хвилі

760 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як компенсаційний розчин воду Р.

Приготування стандартного розчину: безпосередньо перед випробуванням 50 мг пірогалолу Р розчиняють у воді Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл. 5,0 мл одержаного розчину доводять водою до об'єму 100,0 мл. Суміш 2,0 мл одержаного розчину, 1,0 мл фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву і 10,0 мл води доводять розчином 290 г/л натрію карбонату до об'єму 25,0 мл. Через 30 хв вимірюють оптичну густину розчину при довжині хвилі 760 нм, використовуючи як компенсаційний розчин воду.

Вміст поліфенолів (X) у рідкому екстракті, в перерахунку на пірогалол, у відсотках (X), розраховують за формулою:

$$X = \frac{A_x \cdot m_0 \cdot P}{10 \cdot A_0 \cdot V_a}$$

де A_x – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина стандартного розчину пірогалолу;

m_0 – наважка стандартного зразка пірогалолу, в грамах;

V_a – об'єм аликвоти розчину досліджуваного екстракту, взятої для приготування випробуваного розчину, в мілілітрах;

P – кратність розведення екстракту при приготуванні розчину досліджуваного екстракту.

Результати визначення кількісного вмісту поліфенолів в екстрактах листя чорниці звичайної наведено у таблиці 1.

Методика кількісного визначення суми проантоціанідинів в екстрактах листя чорниці звичайної.

Аліквотну частину спиртового екстракту поміщають у конічну колбу місткістю 50 мл зі шліфом, додають 15,0 мл кислоти хлористоводневої Р1 і 10,0 мл води Р та нагрівають на киплячій водяній бані протягом 80 хв, охолоджують і фільтрують та доводять об'єм фільтрату спиртом (70 % V/V) до 100,0 мл.

Випробуваний розчин. 25,0 мл одержаного розчину поміщають у випарну чашку і випарюють на киплячій водяній бані до об'єму близько 3 мл і переносять у ділильну ліжку місткістю 250 мл. Чашку обполіскують послідовно 10,0 мл і 5,0 мл води Р, яку потім переносять у ділильну ліжку. Об'єднаний розчин струшують із трьома порціями, по 15,0 мл кожна, бутанолу Р. Бутанольні вилучення збирають у мірну колбу місткістю 50 мл, фільтруючи їх через паперовий фільтр з 5 г натрію сульфату безводного Р. Об'єм одержаного бутанольного розчину доводять до 50,0 мл, промиваючи фільтр бутанолом Р. Оп-

тичну густину одержаного розчину вимірюють за довжини хвилі 545 нм, використовуючи як компенсаційний розчин бутанол Р.

Вміст проантоціанідинів (X) у рідкому екстракті, в перерахунку на ціанідину хлорид, у відсотках, розраховують за формулою:

$$X = \frac{2 \cdot A_x \cdot 100}{75 \cdot V_a}$$

де A_x – оптична густина досліджуваного розчину;

75 – питомий показник поглинання ціанідину хлориду за довжини хвилі 545 нм;

V_a – об'єм аликвоти досліджуваного екстракту, взятої для аналізу, у мілілітрах.

За вказаних умов в електронному спектрі поглинання випробуваного розчину спостерігали максимум поглинання за довжини хвилі (545 ± 2) нм (рис. 1).

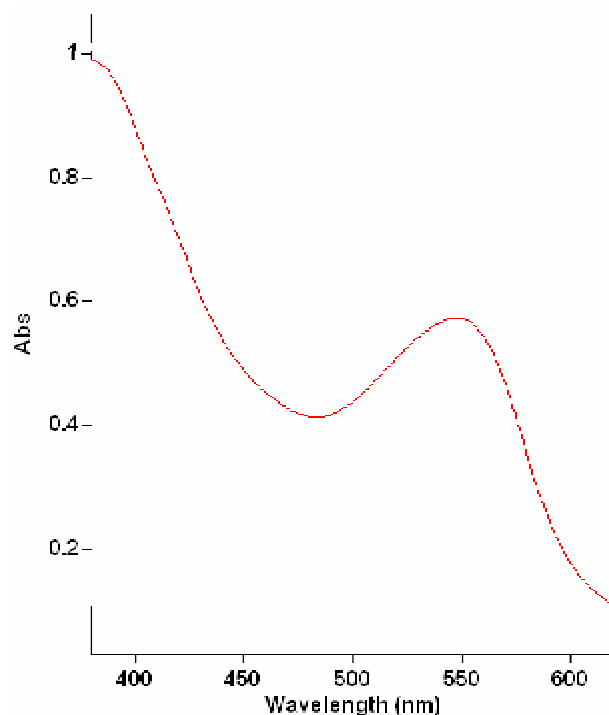


Рис. 1. Електронний спектр поглинання випробуваного розчину в умовах кількісного визначення проантоціанідинів в екстрактах листя чорниці звичайної.

Результати визначення вмісту суми проантоціанідинів в екстрактах листя чорниці звичайної наведено у таблиці 1.

Методика кількісного визначення арбутину в екстрактах листя чорниці звичайної.

Аліквотну частину досліджуваного спиртового екстракту поміщають у конічну колбу місткістю 200 мл зі шліфом і додають 3 мл розчину свинцю (II) ацетату основного Р, 50,0 мл води Р. Кол-

бу приєднують до зворотного холодильника і нагрівають на киплячій водяній бані до повної коагуляції осаду. Гарячий розчин фільтрують в конічну колбу місткістю 200 мл через паперовий фільтр, промиваючи колбу і осад на фільтрі двома порціями, по 10 мл кожна, води Р. Після охолодження до фільтрату додають 1,0 мл сірчаної кислоти Р. Колбу приєднують до зворотного холодильника та нагрівають на киплячій водяній бані протягом 1,5 год.

Одержаний розчин охолоджують і фільтрують у конічну колбу місткістю 200 мл через паперовий фільтр. До фільтрату додають 0,1 г цинкового порошку Р і струшують протягом 5 хв. Розчин нейтралізують по лакмусовому папірцю натрію гідрокарбонатом Р, після чого додають ще 2,0 г натрію гідрокарбонату Р, добре струшують протягом 5 хв. Одержану суміш фільтрують у мірну колбу місткістю 200,0 мл через паперовий фільтр, промиваючи колбу і осад на фільтрі двома порціями, по 10,0 мл кожна, води Р.

Таблиця 1. Результати кількісного визначення поліфенолів, проантоціанідинів та арбутину в екстрактах листя чорниці звичайної

Концентрація спирту в екстрагенті, %	Вміст поліфенолів, %	Вміст проантоціанідинів, $\times 10^3$, %	Вміст арбутину, $\times 10^2$, %
0	1,36	0,08	3,27
10	2,05	0,09	4,08
20	2,54	0,12	5,13
30	2,34	0,14	6,96
40	3,20	0,40	7,56
50	3,58	5,01	9,32
60	3,67	3,52	5,05
70	3,34	2,71	3,66
80	2,62	2,05	1,88
90	2,27	2,71	1,69
96	1,88	3,21	0,65

Аналіз отриманих даних (табл. 1) дає можливість зробити висновок, що найбільша кількість поліфенольних сполук міститься в екстрактах, отриманих з використанням 60 % спирту етилового, тоді як 50 % спирт етиловий є кращим екстрагентом проантоціанідинів та арбутину з листя чорниці звичайної. Дані результати можна використовувати при розробці технології екстрактів з листя чорниці звичайної, а також з аналітичною метою – при отриманні спиртових витягів для подальшого контролю якості даної лікарської сировини.

Висновки. 1. Запропоновано спектрофото-

25,0 мл фільтрату переносять в колбу місткістю 500 мл, додають 200 мл води і титрують з мікробюретки 0.1 моль/л розчином йоду до появи синього забарвлення, який не зникає протягом 1 хв (індикатор – крохмаль).

Вміст арбутину (X) у рідкому екстракті, у відсотках, розраховують за формулою:

$$X = \frac{0,01361 \cdot V \cdot K \cdot 200 \cdot 100}{25 \cdot V_e}$$

де 0,01361 – маса арбутину, що відповідає 1 мл 0,1 моль/л розчину йоду, у грамах;

V – об'єм розчину йоду, витраченого на титрування, у мілілітрах;

K – коефіцієнт поправки до концентрації 1 моль/л розчину йоду;

V_e – об'єм аликвоти досліджуваного екстракту, взятої для аналізу, у мілілітрах.

Результати визначення вмісту арбутину в екстрактах листя чорниці звичайної наведено у таблиці 1.

метричні методики кількісного визначення поліфенольних сполук, проантоціанідинів і титриметричну методику визначення арбутину в екстрактах листя чорниці звичайної, які також можна застосовувати при аналізі сировини – листя або пагонів чорниці звичайної.

2. Аналіз залежності вмісту БАР в екстрактах від концентрації використаного для отримання екстракту екстрагента показує, що екстрагентом поліфенольних сполук з листя чорниці звичайної слід обирати 60 % спирт етиловий, а екстракцію проантоціанідинів та арбутину необхідно здійснювати 50 % спиртом етиловим.

Література

1. Яковлева Г. П. Лекарственное растительное сырье. Фармакогнозия / Под ред. Г. П. Яковлева, К. Ф. Блиновой. – Санкт-Петербург: СпецЛит, 2004. – С. 551–554.

2. Оптимизация условий экстрагирования природных антиоксидантов из растительного сырья / Н. И. Базыкина, А. Н. Николаевский, Т. А. Филипенко [и др.] //

- Химико-фармацевтический журнал. – 2002. – № 2. – С. 46–49.
3. Кобзар А. Я. Фармакогнозія в медицині: навчальний посібник / А. Я. Кобзар. – К.: Медицина, 2007. – С. 311–313.
4. Пономаренко Т. М. Вплив водорозчинної субстанції й одержаних з неї таблеток з різними термінами зберігання на перебіг експериментальної уремії / Т. М. Пономаренко // Фармацевтичний журнал. – 2003. – № 5. – С. 98–102.
5. Макро- і мікроелементи брусниці, буяків, чорниці та мучниці / М. Г. Марсов, М. С. Фурса, Т. А. Горохова [та ін.] // Фармацевтичний журнал. – 2004. – № 3. – С. 102–104.
6. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-ше вид. – Доповнення 2. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.
7. Бензель І. Л. Стандартизація листя скумпії звичайної / І. Л. Бензель // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2010. – № 4, вип. XXII. – С. 11–12.
8. Farmakopea Polska VIII. Monografia 01/2008:1602 Myrtilli fructus recens. – Warszawa: Polske Towarzystwo Farmaceutyczne, 2008. – S. 2385.
9. Государственная фармакопея СССР. – Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.
10. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-ше вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – 556 с.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ЭКСТРАКТАХ ЛИСТЬЕВ ЧЕРНИКИ ОБЫКНОВЕННОЙ

О. З. Барчук, Л. В. Вронска

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого

Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского

Резюме: проведен анализ экстрактов листьев черники обыкновенной, определено содержание полифенолов, проантоцианидинов и арбутина, исследована зависимость их содержания от концентрации спирта этилового.

Ключевые слова: полифенолы, проантоцианидины, экстракты, листья, черника обыкновенная.

THE DETERMINATION OF THE CONTENT OF BIOLOGICALY ACTIVE SUBSTANCES IN VACCINIUM MYRTILLUS LEAVES EXTRACTS

O. Z. Barchuk, L. V. Vronska

Lviv National Medical University by Danylo Halyskyi

Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky

Summary: the analysis of extracts leaves *Vaccinium myrtillus* has been conducted, the content of polyphenols, proantocyanins and arbutin has been determined, the dependence between their content and ethanol concentration has been investigated.

Key words: polyphenols, proantocyanins, arbutine, leaves, extracts, *Vaccinium myrtillus*.