View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE

УДК 615.322.074:582.929.4
DOI 10.11603/mcch.2410-681X.2016.v0.i3.6935

С. М. Марчишин, Л. В. Гусак, Т. С. Бердей
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

ДОСЛІДЖЕННЯ КИСЛОТ ГІДРОКСИКОРИЧНИХ ТРАВИ ЧИСТЕЦЮ ЗІБОЛЬДА

У статті наведено результати визначення якісного складу та кількісного вмісту кислот гідроксикоричних у траві чистецю Зібольда. За допомогою методу ВЕРХ встановлено наявність кислот хлорогенової, розмаринової, кофейної і п-кумарової. Методом спектрофотометрії визначено кількісний вміст кислот гідроксикоричних у перерахунку на кислоту хлорогенову – (5,98±0,001) %.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **кислоти гідроксикоричні, чистець Зібольда, спектрофотометричний метод, метод ВЕРХ.**

ВСТУП. *Stachys sieboldii* Miq. – стахіс, або чистець Зібольда, – рослина роду Чистець (*Stachys L.*) родини губоцвіті (*Lamiaceae*). До роду Чистець належить більше 200 видів, серед яких лікарські, медоносні та декоративні рослини. Харчовим є тільки чистець Зібольда, який називають китайським артишоком. Вирощують рослину заради бульб, які за смаком подібні до артишоку або спаржі. Кореневі бульби овально-подовженої форми, білі з кремовим відтінком та красивого перламутрового кольору.

Чистець Зібольда (стахіс) використовують у китайській і тибетській народній медицині при лікуванні туберкульозу, гіпертонії, як заспокійливий засіб. Біологічно активні речовини, що містяться в кореневих бульбах, впливають на вуглеводний і ліпідний обмін, знижують артеріальний тиск, вміст холестерину [4–6].

Актуальним є дослідження біологічно активних речовин *Stachys sieboldii* Miq., які зумовлюють його фармакологічну активність.

Кислоти гідроксикоричні – речовини фенольної будови, що широко розповсюджені в рослинному світі.

Актуальним на сьогодні є вивчення кислот гідроксикоричних, що проявляють, за даними літератури, різні види фармакологічної активності: антиоксидантну, антирадикальну, противірусну, імуностимулювальну, гіпоазотемічну, антибластомну, антибактеріальну, протизапальну [3, 7].

© С. М. Марчишин, Л. В. Гусак, Т. С. Бердей, 2016.

Тому метою цього дослідження було встановити наявність та визначити кількісний вміст кислот гідроксикоричних у траві чистецю Зібольда.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктом для досліджень була трава *Stachys sieboldii* Miq. Сировину запропонувала професор Л. Т. Міщенко – провідний науковий співробітник ННЦ "Інститут біології". Для експериментальних досліджень використовували траву врожаю 2014 р.

Для виявлення кислот фенолкарбонових використовували спиртово-водну витяжку. Реакція з 1 % розчином ферум (III) хлориду (поява зелено-сірого забарвлення) свідчила про наявність у досліджуваній витяжці сполук фенольної природи.

Кількісне визначення кислот гідроксикоричних у траві чистецю Зібольда ґрунтується на спектрофотометричному методі.

2,0 г (точна наважка) подрібненої сировини поміщали в колбу місткістю 200 мл і заливали 70 мл 20 % спирту етилового Р. Колбу приєднували до зворотного холодильника і нагрівали на водяній бані протягом 15 хв. Екстракцію проводили тричі. Екстракт охолоджували і фільтрували через паперовий фільтр, використовуючи лійку Бюхнера. Витяжку кількісно переносили в мірну колбу місткістю 250 мл і доводили об'єм розчину до мітки 20 % спиртом етиловим Р (розчин А). У мірну колбу місткістю 50 мл вносили 1 мл розчину А і доводили до мітки 20 % спиртом

етиловим Р. Оптичну густину розчину вимірювали на спектрофотометрі Lambda 25 при довжині хвилі 327 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Для порівняння використовували 20 % спирт етиловий Р.

Вміст кислот гідроксикоричних у перерахунку на абсолютно суху сировину у відсотках (*X*) обчислювали за формулою:

$$X=\frac{A\cdot 250\cdot 50\cdot 100}{E^{1\,\%}_{1\,cm}\cdot m\cdot 1\cdot(100-W)},$$

де *A* – оптична густина досліджуваного розчину;

250 – об'єм розчину, мл;

m – маса сировини, г;

$E^{1\,\%}_{1\,cm}$ – питомий показник поглинання кислоти хлорогенової (531);

W – втрата в масі при висушуванні, % [1].

Якісний склад та кількісний вміст кислот гідроксикоричних у траві чистецю Зібольда досліджували також методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Хроматографічне розділення проводили на рідинному хроматографі Agilent 1200 3 D LC System Technologies (США) з діодноматричним детектором G1315C, на колонці Supelco Discovery C18 HPLC column 5 мкм при температурі термостата колонок 25 °С. Вводили пробу автосамплером, обсяг проби – 10 мкл, швидкість потоку − 0,7 мл/хв, робочий тиск елюенту – 10 000–12 000 кПа.

Для приготування рухомої фази використовували ацетонітрил марки Chromasolv gradient grade, for HPLC, >99,9 % (Sigma-Aldrich), кислоту ортофосфатну − Chromasolv gradient grade, for HPLC, >99,9 % (Sigma-Aldrich), бідистильовану воду отримували на Simplicity SIMSV00 Water Purification System Millipore (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). Для екстракції кислот гідроксикоричних застосовували метанол марки Chromasolv gradient grade, for HPLC, >99,9 % (Sigma-Aldrich). Стандартні речовини − кислоти хлорогенова, кофейна, *n*-кумарова, ферулова, розмаринова; апігенін; скополетин, умбеліферон виробництва "Sigma Chemical Co".

Підготовка проб для аналізу: близько 1 г рослинної сировини (точна наважка), екстрагували 50 мл 60 % розчину метанолу протягом 15 хв на водяній бані зі зворотним холодильником при перемішуванні. Після цього фільтрували, кількісно переносили в мірну колбу місткістю 100 мл і доводили об'єм розчину до мітки 60 % метанолом. Отриманий розчин відфільтровували через мембранний фільтр з розміром пор 0,45 мкм.

Для поділу фенольних сполук застосовували такі умови: градієнтне елюювання сумішшю бідистильованої води, підкисленої кислотою ортофосфатною до pH=2,85 (А), та ацетонітрилу (В): 0 хв 5 % "В", 8 хв 8 % "В", 15 хв 10 % "В", 30 хв 20 % "В", 40 хв 40 % "В", 41–42 хв 75 % "В", 43–50 хв 5 % при довжині детектування 320 і 330 нм [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Кількісний вміст суми кислот гідроксикоричних, визначених спектрофотометричним методом у перерахунку на абсолютно суху сировину, наведено в таблиці 1.

Встановлено, що вміст суми гідроксикоричних кислот у досліджуваному об'єкті становив (5,98±0,001) %.

Методом ВЕРХ у траві чистецю Зібольда було виявлено, ідентифіковано і встановлено кількісний вміст хлорогенової, розмаринової, кофейної та *n*-кумарової кислот. Результати експерименту наведено в таблиці 2 і на рисунку.

Таблиця 1 – **Метрологічна характеристика результатів визначення кількісного вмісту суми кислот гідроксикоричних у траві чистецю Зібольда**

m	f	X_i	$X_{сер.}$	S^2	$S_{сер.}$	P	t(P, f)	Кількісний вміст	ε, %
5	4	5,9760	5,9747	0,00000084	0,0004	0,95	2,78	5,9747±0,0011	0,019
		5,9747							
		5,9747							
		5,9747							
		5,9734							

Таблиця 2 – **Кількісний вміст кислот гідроксикоричних у траві *Stachys sieboldii* Miq.**

БАР	УФ-спектр λ max, нм	RT, хв	Кількісний вміст, %
Кислота хлорогенова	330	22.796	$12{,}19\cdot10^{-2}$
Кислота розмаринова *(депсид кислоти 3,4-дигідроксикоричної)*	330	37.550	$11{,}82\cdot10^{-2}$
Кислота кофейна (*кислота 3,4-дигідроксикорична*)	320	24.546	$2{,}44\cdot10^{-2}$
Кислота *n*-кумарова *(кислота 4-гідроксикорична)*	320	44.610	$1{,}42\cdot10^{-2}$

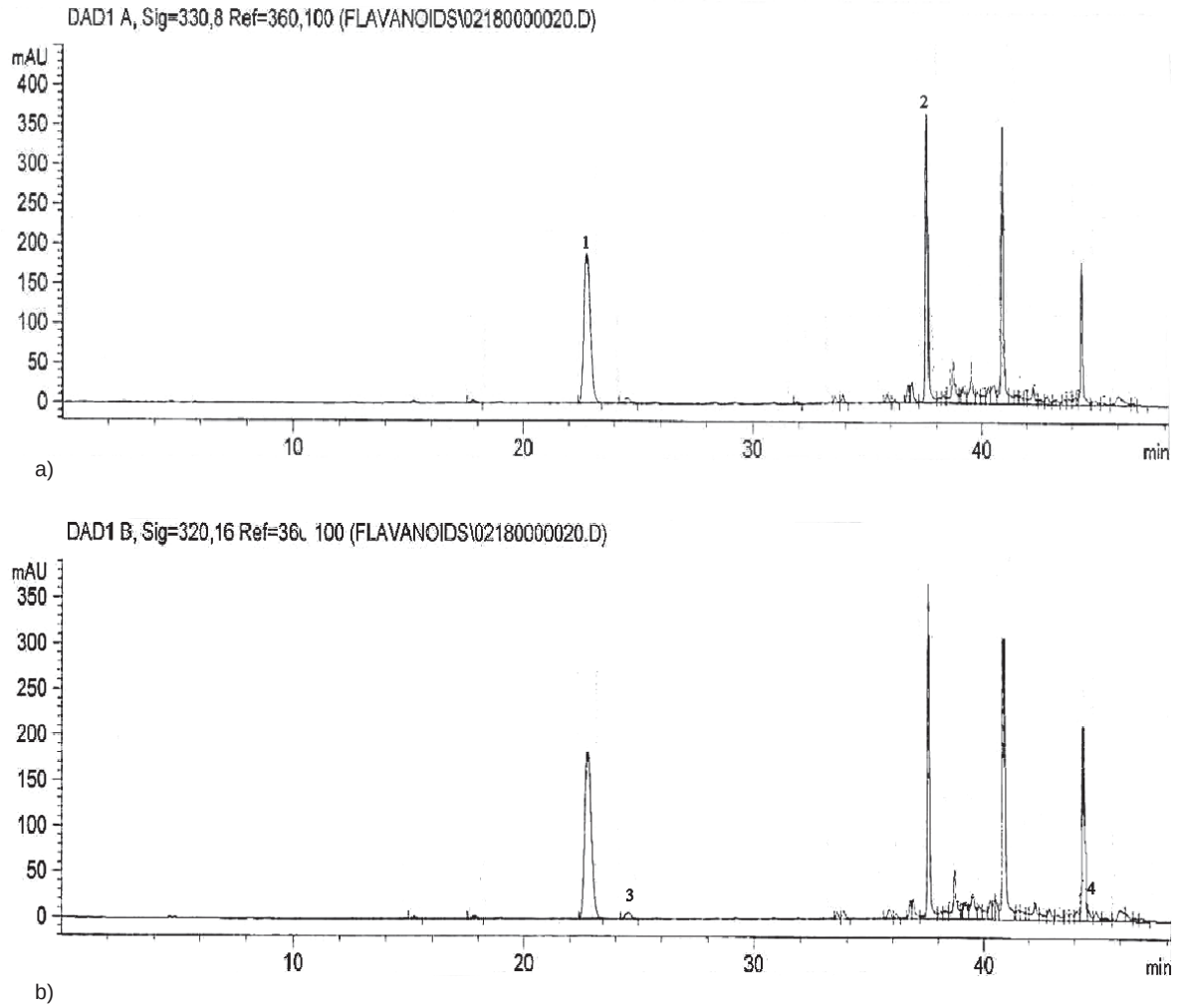

Рис. ВЕРХ-хроматограма спиртово-водної витяжки трави *Stachys Sieboldii* Miq. при a) λ=330 нм та b) λ=320 нм: 1 – кислота хлорогенова; 2 – кислота розмаринова; 3 – кислота кофейна; 4 – кислота *п*-кумарова.

За результатами ВЕРХ-аналізу встановлено, що у траві чистецю Зібольда домінують кислоти хлорогенова та розмаринова (12,19·10^{-2} і 11,82·10^{-2} % відповідно).

ВИСНОВКИ. 1. Встановлено наявність та визначено кількісний вміст кислот гідроксикоричних у траві чистецю Зібольда, який склав (5,97±0,001) %.

2. Методом ВЕРХ-аналізу в траві чистецю Зібольда встановлено індивідуальні кислоти гідроксикоричні (хлорогенову, розмаринову, кофейну, *п*-кумарову), визначено їх кількісний вміст.

3. Встановлено, що у траві чистецю Зібольда домінує кислота хлорогенова, вміст якої в досліджуваному об'єкті становив 12,19·10^{-2} %, тому її можна рекомендувати для стандартизації сировини.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Державна Фармакопея України / Держ. п-во "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів". – 1-ше вид., доп. 3. – 2009. – 280 с.

2. Марчишин С. М. Определение гидроксикоричных кислот в антиаллергическом сборе методом ВЭЖХ [Электронный ресурс] / С. М. Марчишин, С. С. Козачок // Медицина и образование в Сибири : сетевое науч. изд. – 2013. – № 4. – Режим доступа : http://cyberleninka.ru/article/n/opredelenie-gidroksikorichnyh-kislot-v-antiallergicheskom-sbore-metodom-vezhh.

3. Определение гидроксикоричных кислот в лекарственном растительном сырье и объектах растительного происхождения / Ю. В. Медведев, О. И. Передеряев, А. П. Арзамасцев [и др.] // Вопросы биол., мед. и фармац. химии. – 2010. – № 3. – С. 25–31.

4. Сотников В. Стахіс або китайский артишок / В. Сотников // Земля моя годувальниця. – 2013. – № 44 (722). – С. 9.

5. Исследование жирнокислотного состава травы золототысячника обыкновенного и травы чистеца Зибольда [Электронный ресурс] / Л. И. Стойко, Л. В. Гусак, С. М. Марчишин, О. Л. Демидяк // Медицина и образование в Сибири : сетевое науч. изд. – 2015. – № 6. – Режим доступа : http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1957.

6. Туманян А. Ф. Овощной стахис (*Stachys sieboldii* Miq.): здоровый посадочный материал как результат клонального микроразмножения / А. Ф. Туманян, М. А. Молчанова // Аграрная наука : научно-производственный журн. – 2013. – № 2. – С. 16–17.

7. Chanaj-Kaczmarek, J. Phenolics in the Tussilago farfara leaves / J. Chanaj-Kaczmarek, M. Wojcinska, I. Matlawska // Herba polonica. – **59**. – № 1. – 2013. – P. 35–43.

С. М. Марчишин, Л. В. Гусак, Т. С. Бердей
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ИССЛЕДОВАНИЕ КИСЛОТ ГИДРОКСИКОРИЧНЫХ ТРАВЫ ЧИСТЕЦА ЗИБОЛЬДА

Резюме

В статье приведены результаты определения качественного состава и количественного содержания кислот гидроксикоричных в траве чистеца Зибольда. С помощью метода ВЭЖХ установлено наличие кислот хлорогеновой, розмариновой, кофейной и п-кумаровой. Методом спектрофотометрии определено количественное содержание кислот гидроксикоричных в пересчете на кислоту хлорогеновую – (5,98±0,001) %.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **кислоты гидроксикоричные, чистец Зибольда, спектрофотометрический метод, метод ВЭЖХ.**

S. M. Marchyshyn, L. V. Husak, T. S. Berdey
I. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

DETERMINATION OF HYDROXYCINNAMIC ACIDS IN THE HERB OF *STACHYS SIEBOLDII* MIQ.

Summary

In the article the results of study of qualitative composition and quantitative content of hydroxycinnamic acids in the herb of Stachys sieboldii Miq. are presented. By the method of HPLC it was established the presence of chlorogenic, rosemarinic, caffeic and p-coumaric acids. Quantitative content of hydroxycinnamic acids was determined by the method of spectrophotometry.

KEY WORLDS: **hydroxycinnamic acids, *Stachys sieboldii* Miq., spectrophotometry, HPLC.**

Отримано 02.08.16

Адреса для листування: *С. М. Марчишин, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: svitlanafarm@ukr.net.*