

Рекомендована д.ф.н., професором В.М.Ковальовим

УДК 547.587.51:547.814.5:582.542.1

## ДОСЛІДЖЕННЯ ГІДРОКСИКОРИЧНИХ КИСЛОТ CALAMAGROSTIS EPIGEIOS (L.) ROTH.

І.С.Бурлака, В.С.Кисличенко

Національний фармацевтичний університет

**Вперше досліджено фенольний склад трави куничника звичайного. В досліджуваному виді сировини встановлено наявність флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, кумаринів. З трави куничника звичайного виділено в індивідуальному стані 3 гідроксикоричних кислоти і встановлена їх будова. Для стандартизації трави куничника звичайного визначено кількісний вміст гідроксикоричних кислот.**

Систематичне вивчення природних рослинних ресурсів з метою пошуку нових джерел біологічно активних сполук, які можуть значно розширити номенклатуру лікарської рослинної сировини і лікарських засобів на її основі, пояснює інтерес до дослідження дикорослих рослин флори України.

До таких перспективних культур належить куничник звичайний – *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth., родини злакові – Poaceae Barnh. Куничник звичайний – багаторічна трав'яниста дикоросла рослина. Стебло заввишки 80-150 см, пряме, грубе, шорхувате з 3-5 вузлами. Листкові пластинки до 15 мм завширшки зверху шорхуваті, дещо грубі, лінійні, плазкі або згорнуті сизо-зеленого кольору. Сизо-зелені піхви їх шорсткі, голі чи волосисті, язичок довжиною від 9 до 12 мм. Суцвіття – довга (до 20-30 см) багатоголоскова волоть 1,5-6 см завширшки, густа, усаджена дрібними шипиками з короткими гілочками, які відхиляються від осі суцвіття під час цвітіння і пізніше, стиснута, прямостояча, після розпускання широка, яка по мірі дозрівання звужується і набуває жовто-солом'яного кольору. Багаточисельні колоски зелені або брудно-фіолетові лінійно-ланцетні. Плід – зернівка довжиною 1-2 мм [2, 4]. Це євразійський довгокореневищний вид, який зустрічається як рослина-емігрант у багатьох країнах з помірним кліматом. Широко розповсюджений на всій території України, будучи при цьому наймасовішим видом з куничників, який досить широко розповсюджений на території країн СНД та світу. В Україні, як і в інших країнах світу, куничник звичайний є рослиною неофіційною [6, 7]. У попередніх дослідженнях було вивчено амінокислотний, мінеральний склад трави куничника звичайного [1, 10, 11].

Метою нашої роботи стало дослідження фенольних сполук, а саме гідроксикоричних кислот трави куничника звичайного для розробки національних специфікацій якості, встановлення стандартів на лі-

карську рослинну сировину з достатньою сировинною базою в Україні.

### Матеріали та методи

Досліджувану рослинну сировину заготовляли в Харківській області в 2010-2011 рр. При вивченні гідроксикоричних кислот використовували загальноприйняті методи органолептичних та фізико-хімічних досліджень.

Для приготування спирто-водної витяжки наважку (20,0 г) подрібненої до розміру часток 2-3 мм сировини заливали 200 мл 70% спирту етилового і нагрівали зі зворотним холодильником на киплячому водяному огрівнику протягом 30 хв. Отриману витяжку фільтрували через паперовий фільтр. Екстракцію сировини проводили ще двічі новими порціями екстрагента. Об'єднані витяжки концентрували у вакуумі і хроматографували на папері Filtrak FN 3 (ПХ) в системах розчинників: н-бутанол-кислота оцтова-вода (4:1:2) – I напрямок і 15% кислота оцтова – II напрямок.

Суму гідроксикоричних кислот визначали методом прямої спектрофотометрії [5].

### Результати та їх обговорення

Методом ПХ у траві куничника звичайного було виявлено не менше 20 речовин, які на основі хроматографічної рухливості, хромогенних реакцій зі специфічними реагентами і флуоресценції в УФ-світлі віднесені до флавоноїдів, їх глікозидів, гідроксикоричних кислот і кумаринів [3, 12].

Для виявлення і підтвердження домінуючих компонентів суми гідроксикоричних кислот провели порівняння спектрів поглинання кавової, ферулової, хлорогенової кислот і витяжки з трави куничника звичайного, які представлені на рисунку. Співпадіння максимумів спектрів поглинання витяжок з досліджуваної сировини і хлорогенової кислоти дозволило обчислювати вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту.

Результати кількісного визначення загального вмісту гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту в траві куничника звичайного представлені у таблиці.

Для виділення речовин з метою встановлення їх структури подрібнену до розмірів часток 2-3 мм сировину (1,0 кг) вичерпно екстрагували 70% етанолом у співвідношенні сировина-екстрагент 1:10. Отриману таким чином спирто-водну витяжку упарювали в вакуум-ротаційному апараті до водної і послідовно обробляли хлороформом, етилацетатом і н-бутано-

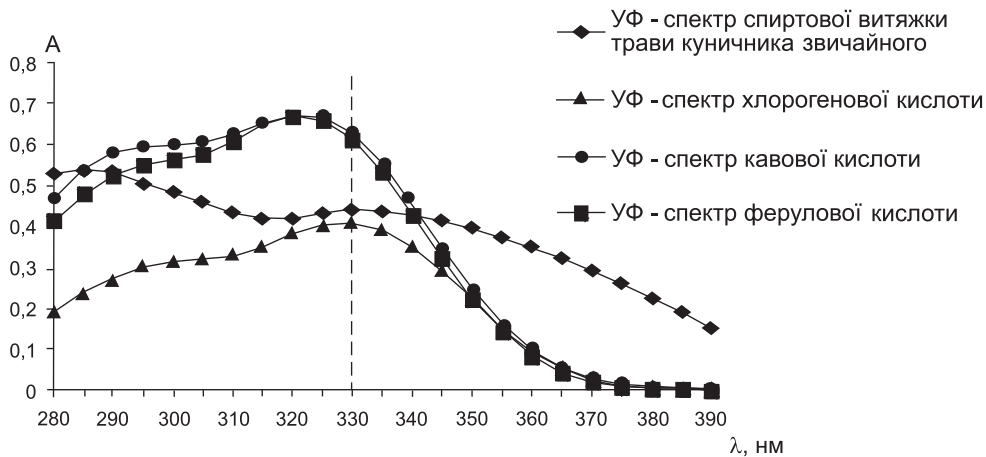


Рис. УФ-спектр витяжки з трави куничника звичайного та УФ-спектри кавової, ферулової і хлорогенової кислот.

Таблиця

Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у траві куничника звичайного

Сировина	m	n	$\chi_{\text{ср.}}$	$S^2$	$S_{\text{ср}}$	P	t (P, v)	Довірчий інтервал	$\epsilon$ , %
Трава куничника звичайного	5	4	0,89	0,0017	0,0184	0,95	2,78	0,89±0,05	5,76

лом. Для виявлення гідроксикоричних кислот досліджували етилацетатну, бутанольну фракції та водний залишок. Гідроксикоричні кислоти вивчали методом ПХ в системі розчинників 2% оцтова кислота з вірогідними зразками гідроксикоричних кислот з наступною обробкою хроматограм парами аміаку та діазореактивом. З вірогідними зразками в траві куничника звичайного були ідентифіковані *n*-кумарова, ферулова та хлорогенова кислоти. У подальшому ці сполуки (1-3) було виділено в індивідуальному стані методом колонкової хроматографії. Речовини 1-3 давали позитивні якісні реакції на фенольний гідроксил з феруму (III) хлоридом діазотованою сульфаніловою кислотою і тому були віднесені нами до фенольних сполук. Кислотні властивості цих сполук виявлені на підставі утворення синіх плям на ПХ з бромтимоловим синім. При обробці паперової хроматограми реактивом кислоти барбітурової пляма речовини 3 давала блакитне забарвлення, що свідчило про наявність у її складі кислоти хінної.

Належність досліджуваних сполук до похідних гідроксикоричних кислот підтверджувалася даними УФ-спектрів з характерними для цієї групи максимумами поглинання у діапазоні хвиль при 310-325 та 228-245 нм. Батохромні зсуви при іонізації натрію гідроксидом підтверджували наявність вільних гідроксигруп у речовинах 1-3. Комплексоутворення речовини 3 з алюмінію (III) хлоридом викликало батохромний зсув смуги спектра на 25-35 нм, що вказувало на присутність орто-дигідроксіугруповання. В продуктах лужного плавлення речовини 1 знайдено *n*-гідроксibenзойну кислоту, що свідчило про присутність OH-групи у положенні С-4 досліджуваної сполуки, а також давало можливість припустити, що сполука 1 являла собою *n*-кумарову кислоту. УФ-спектр

(EtOH,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм): 310, 228, 217; + NaOH 330. Порівняння фізико-хімічних властивостей речовини 1 та *n*-кумарової кислоти підтвердило їх ідентичність. Отже, речовина 1 – це *n*-кумарова кислота (4-гідроксикорична).

При лужному плавленні речовини 2 утворювалася ванілінова кислота, що вказувало на наявність у досліджуваній речовині OH- та OCH<sub>3</sub>-груп у положеннях С-4 та С-3 відповідно. УФ-спектр (EtOH,  $\lambda_{\text{max}}$ , нм): 320, 290, 234; + NaOH 349, 305, 240. На основі проведених досліджень та результатів порівняння з достовірним зразком речовину 2 було охарактеризовано як ферулову (3-метокси-4-гідроксикоричну) кислоту.

При лужному гідролізі речовини 3 утворювалася кавова і D-хінна кислоти в еквімолярних кількостях. Це свідчить про те, що речовина 3 являла собою естер кавової та D-хінної кислоти. В УФ-спектрі етанольного розчину виявлялися максимуми речовини 3 при 329, 300, 245 нм; + NaOH 380, 265; + AlCl<sub>3</sub> 360, 215, 238 нм; Т.пл. – 202-204°C.

#### ВИСНОВКИ

1. Вперше досліджено фенольний склад, зокрема гідроксикоричні кислоти трави куничника звичайного.

2. Хроматографічна поведінка, якісні реакції, дані УФ-, ІЧ-спектрів, відсутність депресії температур плавлення порівняно з вірогідними зразками гідроксикоричних кислот дозволили встановити їх будову.

3. Вперше виділені в індивідуальному стані та ідентифіковані в траві куничника звичайного *n*-кумарова, ферулова та хлорогенова кислоти.

4. Визначено кількісний вміст гідроксикоричних кислот у траві куничника звичайного (0,89±0,02%) з метою стандартизації сировини.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Бурлака І.С., Кисличенко В.С., Вельма В.В. // *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л.Шурика*. – К., 2011. – Вип. 20, кн. 2. – С. 476-481.
2. Вульф Е.В., Малеева О.Ф. *Мировые ресурсы полезных растений. Пищевые, кормовые, технические, лекарственные и другие: Справ.* – Л.: Наука, 1969. – С. 30-31.
3. Ложкин А.В., Сакалян Е.И. // *Хим.-фарм. журн.* – 2006. – Т. 40, №6. – С. 47-57.
4. Прокудин Ю.Н., Вовк А.Г., Петрова О.А. и др. *Злаки Украины: монография*. – К.: Наукова думка, 1977. – 518 с.
5. Руденко В.П. *Фармакогносичне вивчення рослин роду злинка: автореф. дис. ... канд. фармац. наук: спец. 15.00.02.* – Х., 1997. – 23 с.
6. *American Herbal Pharmacopoeia and Therapeutic Compendium*. – California, 1999. – 456 p.
7. *European Pharmacopoeia. 4-th ed.* – Council of Europe, Strasbourg, 2001. – 3469 p.
8. Hulten E., Fries M. *Atlas of North European Vascular Plants North of the Tropic of Cancer*. – Konigstein: Koeltz Scientific Books. – 1986. – Vol. 1-3. – P. 1168.
9. Kakade M.L., Simons N., Liener I.E. // *Analyt. Biochem.* – 1970. – Vol. 33. – P. 225.
10. Khoi B.H., Dien L.D., Lasztity K. et al. // *J. Sci. Food Agric.* – 1987. – Vol. 39, №8. – P. 137-143.
11. Sripriya G., Usha A., Chandra T. // *Food Chemistry*. – 1997. – Vol. 58, №4. – P. 345-350.
12. Wu L., Wang X., Xu W. et al. // *Curr. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 16 (32). – P. 4236-4260.

УДК 547.587.51:547.814.5:582.542.1

ИССЛЕДОВАНИЕ ГИДРОКСИКОРИЧНЫХ КИСЛОТ CALAMAGROSTIS EPIGEIOS (L.) ROTH.

И.С.Бурлака, В.С.Кисличенко

Впервые исследован фенольный состав травы вейника наземного. В исследуемом виде сырья установлено наличие флавоноидов, гидроксикоричных кислот, кумаринов. Из травы выделено 3 гидроксикоричные кислоты и установлена их структура. Для стандартизации травы вейника наземного определено количественное содержание гидроксикоричных кислот.

UDC 547.587.51:547.814.5:582.542.1

THE STUDY OF CALAMAGROSTIS EPIGEIOS (L.) ROTH. HYDROXYCINNAMOMIC ACIDS

I.S.Burlaka, V.S.Kyslychenko

For the first time the study of phenolic compounds of Reedgrass herb has been carried out. The presence of flavonoids, hydroxycinnamomic acids, coumarins have been determined in the raw material under research. Three hydroxycinnamomic acids have been isolated from the herb and their structure has been identified. The quantitative content of hydroxycinnamomic acids has been determined for standardization of Reedgrass herb.