

Кількісне визначення органічних кислот в листі та квітках *Orchis militaris* L., *Orchis maculata* L., *Orchis provincialis* Balb., *Orchis sphaerica* M.B.

І.В.Ярошенко, І.О.Журавель, В.С.Кисличенко, Н.Є.Бурда

Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук
Харків, Україна

З метою більш повного фітохімічного вивчення рослин роду *Orchis* титриметричними методами та за допомогою спектрофотометрії провели кількісне визначення суми органічних, зокрема гідроксикоричних кислот, а також аскорбінової кислоти в листі та квітках зозулинця (з.) шоломоносного (*O. militaris* L.), з. плямистого (*O. maculata* L., *Dactylorhiza maculata* L.), з. прованського (*O. provincialis* Balb.), з. сферичного (*O. sphaerica* M.B., *Traunsteinera sphaerica* (M.B.) Schlechter).

Ключові слова: зозулинець, органічні кислоти, гідроксикоричні кислоти, аскорбінова кислота.

ВСТУП

Надземна частина представників роду *Orchis*, на відміну від підземних органів, в офіційній медицині не застосовується. Хімічний склад теж мало вивчений. За даними літератури надземна частина зозулинця виявляє бактерицидну активність [2]. Одним із важливих класів біологічно активних речовин, які беруть участь у багатьох процесах організму, виявляють антимікробну, протизапальну дію, є органічні кислоти. Найважливішою серед органічних кислот є аскорбінова кислота, яка бере участь в окисно-відновних процесах організму, вуглеводному обміні, регенерації тканин, у синтезі стероїдів [5]. Гідроксикоричні кислоти виявляють антиоксидантну та антибактеріальну активність [3, 4]. Тому було доцільно визначити кількісний вміст цих сполук.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Досліджували листя та квітки зозулинця (з.) шоломоносного (*O. Militaris* L.), з. плямистого (*O. maculata* L., *Dactylorhiza maculata* L.), з. прованського (*O. provincialis* Balb.), з. сферичного (*O. sphaerica* M.B., *Traunsteinera sphaerica* (M.B.) Schlechter).

Втрату в масі при висушуванні сировини визначали за методикою Державної Фармакопеї СРСР XI видання [1]. Визначення проводили за загально відомими методиками.

Визначення суми органічних кислот. 5 г (точна наважка) подрібненої сировини вміщували в колбу місткістю 250 мл, заливали 200 мл води і витримували протягом 2 год. на киплячому водяному підігрівачі, охолоджували, кількісно переносили в мірну колбу місткістю 250 мл, доводили об'єм водою до позначки і перемішували (розчин А).

10 мл розчину А вміщували в колбу місткістю 500 мл, додавали 250 мл свіжопрочищеної води, 2 краплі 1% спиртового розчину фенолфталеїну, 1 краплю 0,1% розчину метиленового синього і титрували розчином натрію гідроксиду (0,1 моль/л) до появи в піні лілово-фіолетового забарвлення.

Вміст вільних органічних кислот (X, %) у перерахунку на кислоту яблучну в абсолютно сухій сировині обчислювали за формулою: $X = (V * 0,0067 * 250 * 100 * 100) / (m * 10 * (100 - W))$, де 0,0067 — кількість кислоти яблучної, яка відповідає 1 мл розчину натрію гідроксиду (0,1 моль/л), г; V — об'єм розчину натрію гідроксиду, який пішов на титрування, мл; m — маса сировини, г; W — втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Визначення гідроксикоричних кислот. 2,0 г (точна наважка) подрібненої сировини вміщували в колбу місткістю 200 мл і додавали 70 мл

ТАБЛИЦЯ 1
Результати проведення кількісного визначення органічних кислот

ЛРС	Вміст суми органічних кислот, %	Вміст гідроксикоричних кислот, %	Вміст аскорбінової кислоти, %
Листя <i>Orchis provincialis</i> Balb.	3,26±0,005	0,68±0,002	0,023±0,002
Квітки <i>Orchis provincialis</i> Balb.	0,86±0,007	0,32±0,005	0,064±0,001
Листя <i>Orchis sphaerica</i> M.B.	2,75±0,003	0,53±0,002	0,23±0,003
Квітки <i>Orchis sphaerica</i> M.B.	2,45±0,003	0,40±0,007	0,14±0,003
Листя <i>Orchis maculata</i> L.	2,05±0,001	0,41±0,002	0,19±0,004
Квітки <i>Orchis maculata</i> L.	0,96±0,005	0,33±0,001	0,11±0,006
Листя <i>Orchis militaris</i> L.	0,77±0,002	0,20±0,007	0,17±0,005
Квітки <i>Orchis militaris</i> L.	1,37±0,004	0,31±0,001	0,075±0,001

води. Колбу приєднували до зворотного холодильника і нагрівали на водяному підігрівачі протягом 15 хв. Екстракцію повторювали ще двічі. Екстракти охолоджували і фільтрували крізь паперовий фільтр на воронці Бюхнера. Витяжки кількісно переносили в мірну колбу місткістю 200 мл і доводили об'єм розчину водою до позначки (розчин А).

У мірну колбу місткістю 50 мл вносили 3 мл розчину А і доводили об'єм розчину 20% етанолом до позначки. Оптичну густину отриманого розчину вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 327 нм. Розчином порівняння служив 20% етанол.

Вміст суми гідроксикоричних кислот (X, %) у перерахунку на хлорогенову кислоту обчислювали за формулою: $X = (A * 200 * 50 * 1000 / (E_{1\text{см}}^{1\%} * m * 1 * (100 - W)))$, де А — оптична густина досліджуваного розчину; m — наважка сировини, г; $E_{1\text{см}}^{1\%}$ — питомий показник поглинання хлорогенової кислоти, який дорівнює 531; W — втрати в масі при висушуванні, %.

Визначення аскорбінової кислоти. 2,5 г (точна наважка) подрібненої сировини вміщували в колбу місткістю 250 мл, додавали 75 мл води і настоювали 10 хв. Потім витяжку фільтрували. У конічну колбу місткістю 100 мл вносили 1 мл отриманого фільтрату, 1 мл 2% розчину кислоти хлористоводневої, 13 мл води, перемішували і титрували розчином натрію 2,6-дихлорфеноліндофенолятом (0,001 моль/л) до появи рожевого забарвлення, яке не зникало протягом 30-60 с. Вміст аскорбінової кислоти (X, %) у перерахунку на абсолютно суху

сировину обчислювали за формулою: $X = (V * 0,000088 * 300 * 100 * 100) / (m * 1 * (100 - W))$, де 0,0067 — кількість кислоти аскорбінової, яка відповідає 1 мл розчину натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту (0,001 моль/л), г; V — об'єм розчину натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту, який пішов на титрування, мл; m — маса сировини, г; W — втрата в масі при висушуванні сировини, %.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Визначення суми органічних кислот та аскорбінової кислоти проводили титриметричними методами, а визначення гідроксикоричних кислот — методом спектрофотометрії при довжині хвилі 327 нм у перерахунку на абсолютно суху сировину.

Результати проведених досліджень наведені в табл. 1.

Таким чином, бачимо, що в найбільшій кількості органічні кислоти містяться в листі з прованського (3,26±0,005%), з сферичного (2,75±0,003%) та у квітках з сферичного (2,45±0,003%); гідроксикоричні кислоти — у листі з прованського (0,68±0,002%) та з сферичного (0,53±0,002%); аскорбінова кислота — у листі з сферичного (0,23±0,003%) і з плямистого (0,19±0,004%).

ВИСНОВКИ

З метою більш повного фітохімічного вивчення рослин роду *Orchis* листя та квіток з шоломоносного (*O. militaris* L.), з плямистого (*O. maculata* L., *Dactylorhiza maculata* L.), з прованського (*O. provincialis* Balb.), з сферичного (*O. sphaerica* M.B., *Traunsteinera sphaerica* (M.B.) Schlechter) проведено кількісне визначення суми органічних кислот, гідроксикоричних кислот та аскорбінової кислоти. Одержані результати можуть бути використані для розробки АНД на дані види сировини.

ЛІТЕРАТУРА

1. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1987. — 336 с.
2. Растительные ресурсы России и сопредельных государств. Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Butomaceae-Turphaceae / Отв. ред. П.Д.Соколов. — С.-Пб.: Наука, 1994. — 272 с.
3. Хайруллина В.Р. Количественное изучение антиокислительных свойств фенолкарбонных кислот коры *Larix sibirica* // Химия природных соединений. — 2008. — №2. — С.124-127.

4. Храмов В.А. Хлорогеновая кислота в листьях и лиофилизированных экстрактах стевии / В.А.Храмов, Н.В.Дмитриенко // Химико-фармацевтический журнал. — 2000. — Т.34. — №11. — С.34-35.
5. Черных В.П. Органическая химия. В 3 кн. / В.П.Черных, Б.С.Зименковский, И.С.Гриценко // Кн.3. Гетероциклические и природные соединения. — Х.: Основа, 1997. — 248 с.

И.В.Ярошенко, И.А.Журавель, В.С.Кисличенко, Н.Е.Бурда. Количественное определение органических кислот в листьях и цветках *Orchis militaris* L., *Orchis maculata* L., *Orchis provincialis* Balb., *Orchis sphaerica* M.B. Харьков, Украина.

Ключевые слова: ятрышник, органические кислоты, гидроксикоричные кислоты, аскорбиновая кислота.

С целью более полного фитохимического изучения растений рода *Orchis* титриметрическими методами и с помощью спектрофотометрии провели количественное определение суммы орга-

*нических кислот, в частности гидроксикоричных кислот, а также аскорбиновой кислоты в листьях и цветках ятрышника шлемоносного (*O. militaris* L.), я. пятнистого (*O. maculata* L., *Dactylorhiza maculata* L.), я. прованского (*O. provincialis* Balb.), я. сферического (*O. sphaerica* M.B., *Traunsteinera sphaerica* (M.B.) *Schlechter*).*

I.V.Yaroshenko, I.A.Zhuravel, V.S.Kislichenko, N.Ye.Burda. Quantitative definition of organic acids in leaves and flores of *Orchis militaris* L., *Orchis maculata* L, *Orchis provincialis* Balb., *Orchis sphaerica* M.B. Kharkiv, Ukraine.

Key words: *Orchis*, organic acids, hydroxicoric acids, ascorbic acid.

*Phytochemical study of plants of sort *Orchis* by titrimetric methods and by spectrophotometric method have lead quantitative definition of the sum of organic acids, hydroxicoric acids, and ascorbic acid in leaves and flores of *Orchis militaris* L., *Orchis maculata* L, *Orchis provincialis* Balb., *Orchis sphaerica* M.B.*

Надійшла до редакції 22.06.2009 р.