

Рекомендована д.ф.н., професором А.Г. Сербіним

УДК 615.322:582.734.3:581.47:577.15/.17:543.42.062

ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПЛОДІВ ГЛОДІВ ПІВНІЧНОАМЕРИКАНСЬКОЇ ГРУПИ

А.М.Ковальова, Н.В.Сидора, С.В.Ковалев, А.М.Комісаренко

Національний фармацевтичний університет

Проведене порівняльне морфологічне дослідження плодів глодів: — Г. віялоподібного (*C. flabellata* (Bosc.) C. Koch), Г. густоквіткового (*C. densiflora* Sarg.) та Г. соковитого (*C. succulenta* Schrad.). На основі хроматографічної характеристики та УФ-спектрів речовин у плодах ідентифіковані хлорогенова та неохлорогенова кислоти, гіперозид, вітексин, кемпферол та рутин. Спектрофотометричним методом встановлено кількісний вміст флавоноїдів у плодах північноамериканських видів глодів, який відповідає вимогам державної фармакопеї України.

Проведене нами раніше фітохімічне дослідження плодів чотирьох видів глодів у порівнянні з фармакопейними дозволило визначити якісний склад фенольних сполук та кількісний вміст суми флавоноїдів [1, 3, 4]. Одержані результати свідчать про перспективність подальшого дослідження глодів представників *Crataegus* північноамериканської групи. Продовжуючи фармакогностичне дослідження північноамериканських видів глодів, які культивуються на території України, ми дослідили види: глід соковитий *Crataegus succulenta* Schrad., глід густоквітковий *Crataegus densiflora* Sarg. та глід віялоподібний *Crataegus flabellata* (Bosc.) Koch. Об'єктами дослідження стали плоди цих глодів, які заготовлялись у Харкові та Харківській області (у Ботанічному саду ХНУ та на фармакопейній ділянці НФаУ) у серпні-вересні 2005 р.

Експериментальна частина

Проведене порівняльне морфологічне вивчення плодів досліджуваних видів дозволило встановити діагностичні ознаки, основні з яких: форма плодів від кулеподібної до еліпсоїдальної, м'якоть мучниста або соковита, кісточок від 3 до 5, які мають 1-3 реберця на спинці [2, 10, 11]. Порівняльну характеристику плодів північноамериканських видів глодів наведено у табл. 1 [5, 6, 7]. Якісне визначення основних груп БАР — флавоноїдів та гідроксикоричних кислот проводили з використанням хроматографічних методів аналізу у порівнянні з фармакопейними видами — глодом криваво-червоним *C. sanguinea* Pall., глодом одноматочковим *C. monogyna* Jacq. та глодом колючим

C. oxyacantha Pojark., які були заготовлені в той же період [1].

Тонкошарова хроматографія проводилася з використанням пластинок "Silufol" у системі розчинників етилацетат-етанол (95:5) та хлороформ-оцтова кислота (3:1), насичених водою [9]. Для паперової хроматографії використовували папір "Filtrak" №12 системи: I — етилацетат-мурашина кислота-вода (10:2:3) та II — 2% оцтова кислота. Хромогенними проявниками служили фільтроване УФ-світло (354 нм), пари амоніаку, 1% розчин AlCl_3 в етанолі, 1% спиртовий розчин ваніліну та концентрована сірчана кислота, діазотована сульфанілова кислота та 5% розчин гідроксиду натру [8, 12, 9].

Кількісне визначення суми флавоноїдів проводили за допомогою методів хроматоспектрофотометрії та диференційної спектрофотометрії. Використовували спектрофотометр СФ-46.

Результати та їх обговорення

Хімічними реакціями та хроматографічними методами аналізу були виявлені гідроксикоричні кислоти, гідроксикумарини, флавоноїди, дубильні речовини, тритерпенові сапоніни, амінокислоти. Речовини визначали за флуоресценцією в УФ-світлі до та після обробки парами амоніаку, а також за порівнянням R_f та R_s з вірогідними зразками.

У плодах глоду віялоподібного та глоду густоквіткового виявлено 19 сполук фенольної природи, з них 4 належать до флавоноїдів; у глоду крупноколючкового — 20 сполук (6 флавоноїдів), глоду соковитого — 25 сполук (8 флавоноїдів).

У плодах фармакопейних видів виявлено: у глоду одноматочкового 18 (4 флавоноїди), глоду колючого — 20 (4 флавоноїди), глоду криваво-червоного — 11 (5 флавоноїдів) фенольних сполук.

Фенольні сполуки досліджуваних видів представлені на схемі хроматограмами (рис. 1).

У результаті дослідження ідентифіковані флавоноїди: гіперозид, вітексин, кемпферол та рутин. В усіх видах виявлено хлорогенову та неохлорогенову кислоти, кавову та ферулову кислоти. З плодів ці речовини були виділені препаративною хроматографією.

Таблиця 1

Морфологічна характеристика плодів північноамериканських видів глодів

| Види глодів | Форма плоду | Колір плоду | Чашо-листки | Розмір плоду, мм | | Колір м'якоті плоду | Кількість кісточок | Форма кісточок | Розмір кісточок | |
|--------------|-------------------------------------|----------------|--|------------------|--------|-----------------------|--------------------|--|-----------------|--------|
| | | | | довжина | ширина | | | | довжина | ширина |
| C.succulenta | Еліпсоїдальна | Червоний | Цілокраї | 15 | 12 | Жовтувато-бурштиновий | 4 | Еліпсоїдальні, трохи ввігнуті, один кінець з гострим краєм, інший кулястий, зісподу з кілем, зверху з трьома реберцями | 6 | 5 |
| C.densiflora | Короткоеліпсоїдальна | Темно-червоний | Трикутні, цілокраї, відігнуті | 12 | 10 | Жовто-червоний | 4 | Округлі, зісподу з кілем, з боків трохи ввігнуті, з верхнього боку з трьома борозенками | 5 | 5 |
| C.flabellata | Широкоеліпсоїдальна або кулеподібна | Кармінний | Вузькі, лінійно-ланцетні, опущені, зверху заlossenistozубчасті | 10-12 | 8-10 | Жовтуватий | 3-5 | Витягнуті, тригранні, зверху з 1-3 реберцями, з боків майже гладкі, іноді ввігнуті | 8 | 5 |

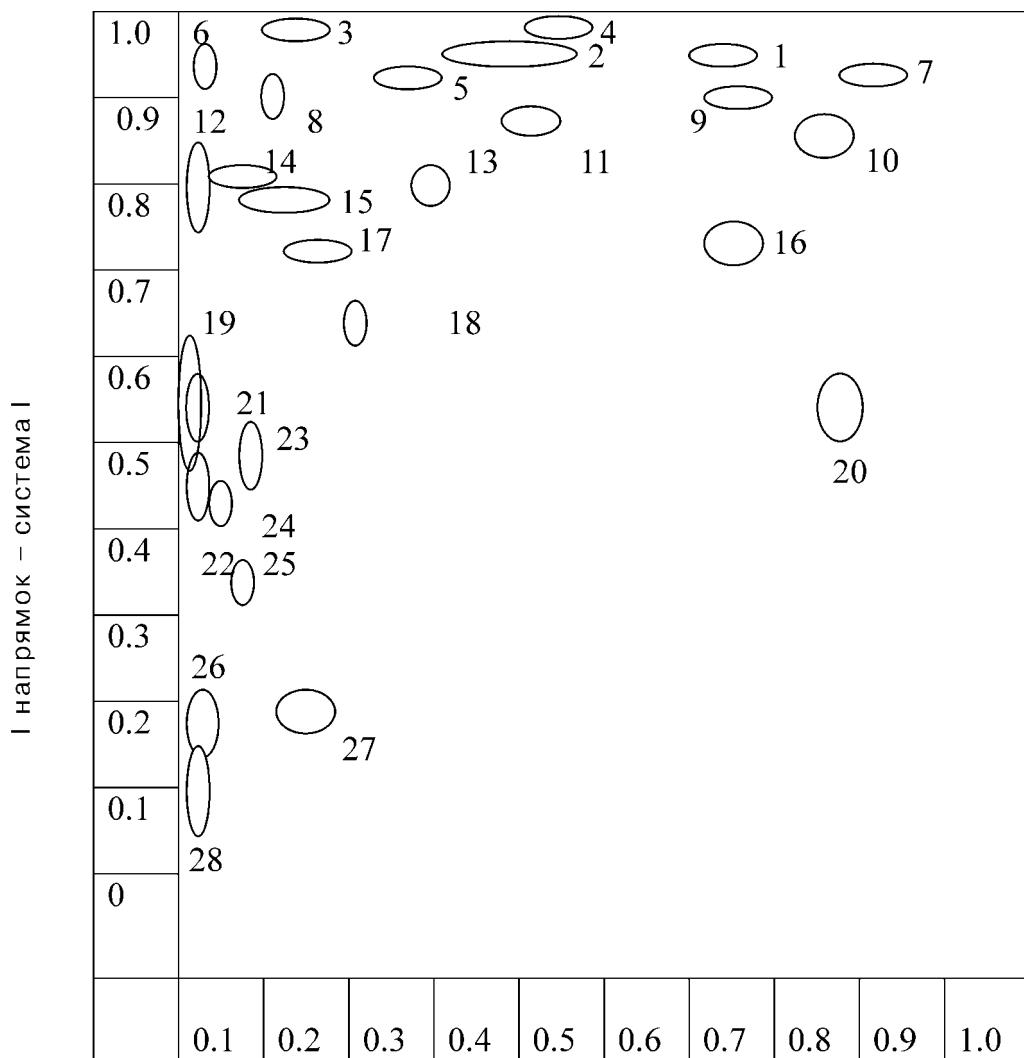


Рис. 1. Схема загальної хроматограми фенольних сполук досліджуваних видів.

Таблиця 2
Хроматографічна характеристика фенольних сполук глодів

| № плями | Значення Rf·100 в системах | | Флуоресценція в УФ-світлі | | Види глодів | | | | | |
|---------|----------------------------|----|---------------------------|------------------------------|----------------|----------------|----------------|---------------|--------------|----------------|
| | I | II | До обробки реактивом | Після обробки паром амоніаку | C. flabel-lata | C. densi-flora | C. succu-lenta | C. san-guinea | C. mono-gyna | C. oxya-cantha |
| 1 | 97 | 74 | Бірюзове | Бірюзове | | | + | | | + |
| 2 | 97 | 42 | Темно-зел. | Синє | + | | | | + | |
| 3 | 97 | 29 | Зелене | Зелене | | | + | | + | |
| 4 | 95 | 50 | Синє | Синє | + | | | | | + |
| 5 | 95 | 34 | Синє | Синє | | + | + | + | | + |
| 6 | 94 | 18 | — | Блакитне | + | | | | | |
| 7 | 90 | 84 | — | Синє | + | | | | | |
| 8 | 90 | 15 | Темне | Кор-ж-зел | + | | + | | | |
| 9 | 87 | 70 | Блакитне | Бірюзове | + | | | | + | |
| 10 | 85 | 88 | Блакитне | Блакитне | | + | + | | | |
| 11 | 85 | 55 | Блакитне | Бірюзове | + | + | | | + | |
| 12 | 82 | 7 | Темне | Темне | | | + | + | + | + |
| 13 | 80 | 37 | Блакитне | Блакитне | | | + | | + | |
| 14 | 80 | 10 | Зелене | Зелене | | + | | | | + |
| 15 | 77 | 20 | Темне | Темне | + | | + | | | |
| 16 | 75 | 75 | Блакитне | Бірюзове | + | | | | + | |
| 17 | 74 | 20 | Темне | Ж-зел-кор | + | + | | | + | |
| 18 | 68 | 28 | Темне | Жовте | + | + | + | + | + | + |
| 19 | 65 | 7 | Темне | Темне | + | | | | | + |
| 20 | 60 | 87 | Темне | Темне | | | + | + | | |
| 21 | 60 | 5 | — | Жовте | | + | + | | | |
| 22 | 55 | 7 | Блакитне | Блакитне | + | + | | | | |
| 23 | 53 | 17 | Червоне | Червоне | + | + | | | | |
| 24 | 48 | 7 | Темн.-кор. | Темн.-кор. | | + | + | | | |
| 25 | 43 | 17 | Рожеве | Рожеве | + | + | | | | |
| 26 | 30 | 14 | Темне | Темне | | | + | | + | |
| 27 | 29 | 20 | Темн.-кор. | Темн.-кор. | | | + | | | + |
| 28 | 25 | 7 | Темн.-кор. | Темн.-кор. | | | + | | + | |

Хроматографічна характеристика речовин та розповсюдження їх у видах глодів наведені у табл. 2.

Сполуки дають позитивну реакцію з бромти-моловим синім, хлоридом оксиду заліза, діазотованою сульфаніловою кислотою. Як видно з табл. 2, гіперозид виявлено поряд з офіцинальними видами у плодах глодів віялоподібного, густоквіткового та соковитого ($Rf \cdot 100: 68 - I \text{ i } 28 - \text{II системи}$); вітексин — у глоду віялоподібного ($Rf \cdot 100: 65 - I \text{ i } 7 - \text{II системи}$); кемпферол — у глоду соковитого ($Rf \cdot 100: 82 - I \text{ i } 7 - \text{II системи}$); рутин — у глоду соковитого ($Rf \cdot 100: 30 - I \text{ i } 14 - \text{II системи}$).

Сумарні спектри витяжок глодів представлена на рис. 1.

За ДФ XI вміст флавоноїдів у плодах глодів пропонується визначати у перерахунку на гіперозид; вміст повинен бути 0,06% [2]. Але фармакопейна методика визначення складна та мало відтворювана. Тому визначення вмісту суми флавоноїдів у перерахунку на гіперозид проводилось методом хроматоспектрофотометрії. Для цього отримували двовимірні хроматограми спиртових витяжок глодів, плями флавоноїдів вирізували, елюювали, доводили в мірній колбі до певного об'єму та визначали поглинання елюатів при довжині хвилі 360 nm в перерахунку на гіперозид, використовуючи його питоме поглинання $E^{1\%}_{1 \text{ см}}$ при цій довжині хвилі.

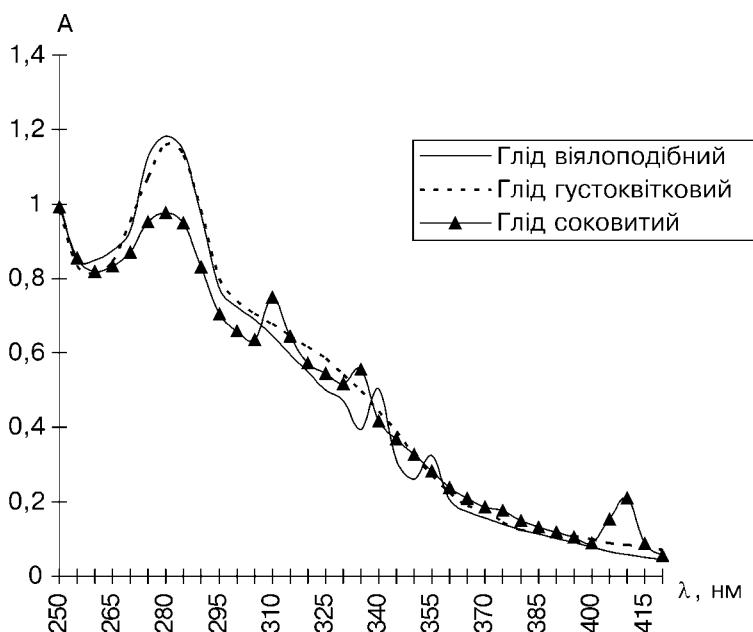


Рис. 2. Сумарні УФ-спектри спиртових екстрактів глодів.

Таблиця 3

Метрологічна характеристика кількісного визначення суми флавоноїдів ($n=5$, $P=0,95$, $t=2,78$)

| X_I | X_{sep} | S^2 | S_{sep} | Довірчий інтервал | $\pm \varepsilon, \%$ |
|----------------------|------------------|------------------------|------------------------|---------------------|-----------------------|
| <i>C.succulenta</i> | | | | | |
| 0,2261 | 0,2328 | $0,4836 \cdot 10^{-4}$ | $0,3110 \cdot 10^{-2}$ | $0,2328 \pm 0,0086$ | 3,71 |
| 0,2420 | | | | | |
| 0,2380 | | | | | |
| 0,2270 | | | | | |
| 0,2310 | | | | | |
| <i>C. densiflora</i> | | | | | |
| 0,2240 | 0,2241 | $0,4782 \cdot 10^{-4}$ | $0,3093 \cdot 10^{-2}$ | $0,2241 \pm 0,0086$ | 3,84 |
| 0,2128 | | | | | |
| 0,2250 | | | | | |
| 0,2310 | | | | | |
| 0,2280 | | | | | |
| <i>C. flabellata</i> | | | | | |
| 0,2010 | 0,2015 | $0,3012 \cdot 10^{-4}$ | $0,2454 \cdot 10^{-2}$ | $0,2015 \pm 0,0068$ | 3,39 |
| 0,2015 | | | | | |
| 0,1960 | | | | | |
| 0,1985 | | | | | |
| 0,2105 | | | | | |

Статистична обробка результатів кількісного визначення суми флавоноїдів у глодах хроматоспектрофотометричним методом наведена у табл. 3.

ВИСНОВКИ

1. Проведено морфологічне вивчення плодів глодів північноамериканської групи: глоду віялоподібного, глоду густоквіткового, глоду соковитого та визначені їх діагностичні ознаки.

2. Виявлені гідроксикоричні кислоти, кумарини, флавоноїди, дубильні речовини. У плодах північноамериканських глодів вперше ідентифіковані кавова, ферулова та неохлорогенова кислоти, флавоноїди: гіперозид, кемпферол, вітексин та ругин.

3. Визначено кількісний вміст флавоноїдів у плодах досліджуваних глодів, який становить (у %) для Г. віялоподібного — $0,2015 \pm 0,0068$, Г. густоквіткового — $0,2241 \pm 0,0086$, г. соковитого — $0,2328 \pm 0,0086$.

ЛІТЕРАТУРА

1. Державна фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний центр”. — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
2. Дерев'я и кустарники СССР. — М., 1954. — Т. 3. — С. 873.
3. Ковальова А.М., Сидора Н.В., Ковалев С.В. та ін. // Вісник фармації. — 2005. — №2 (42). — С. 16-20.
4. Сидора Н.В., Ковальова А.М., Ковалев С.В. та ін. // Вісник фармації. — 2004. — №3 (39). — С. 22-27.
5. Barnes J., Anderson L.A., Phillipson J.D. *Herbal Medicines*. — London Chicago: Pharmaceutical Press, 2002. — P. 284-287.
6. Bean. W. *Trees and Shrubs Hardy in Great Britain*. — Vol. 1-4, Suppl. — Murray, 1981.
7. Christensen K.I. // *The American Society of Plant Taxonomists*. — 1992. — Vol. 35, №1-4. — P. 18-20, 100-113.
8. European Pharmacopea. Suppl. 2001. — Strasbourg: Council of Europe, 2000. — P. 930-931.
9. Fisel J. // *Arzneimittel-Forsch.* — 1966. — Jg. 16, H. 1. — S. 80-82.
10. Genders R. *Scented Flora of the World*. Robert Hale. — London, 1994.
11. Huxley A. *The New RHS Dictionary of Gardening*. — MacMillan Press, 1992.
12. Who monographs on selected medicinal plants. — Vol. 2. — World Health Organization. — Geneva, 2002.

УДК 615.322:582.734.3:581.47:577.15/.17:543.42.062

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛОДОВ БОЯРЫШНИКОВ СЕВЕРОАМЕРИКАНСКОЙ ГРУППЫ
А.М.Ковалева, Н.В.Сидора, С.В.Ковалев, А.Н.Комисаренко
Проведено сравнительное морфологическое исследование плодов боярышников: Б. вееровидного (*C. flabellata* (Bosc.) C. Koch), Б. густоцветкового (*C. densiflora* Sarg.) и Б. сочного (*C. succulenta* Schrad.). На основании хроматографической характеристики и УФ-спектров в плодах идентифицированы хлорогеновая и неохлорогеновая кислоты, гиперозид, витексин, кемпферол и рутин. Спектрофотометрическим методом установлено количественное содержание флавоноидов в плодах североамериканских видов боярышников, которое отвечает требованиям Государственной фармакопеи Украины.

UDC 615.322:582.734.3:581.47:577.15/.17:543.42.062

PHARMACOGNOSTIC STUDY FRUITS OF NORTH-AMERICAN HAWTHORN

A.M.Kovalyova, N.V.Sidora, S.V.Kovalyov, A.N.Komissarenko
The comparative method of morphological research of hawthorn fruits: *C. flabellata* (Bosc.) C. Koch, *C. densiflora* (Sarg.) and *C. succulenta* (Schrad.) has been carried out. On the basis of chromatographyc characteristics and UV-spectra of substances in fruits the chlorogenic and neochlorogenic acids, hyperoside, vitexin, kempferol and rutin have been identificated. By spectrophotometric method a quantitative content of flavonoids in fruits of Nort-American hawthorn has been established, which conforms the orders of pharmacopoeia of Ukraine.