

Н. Є. Стадницька, І. В. Дякон, Л. Д. Болібрух, Я. Т. Місик, І. І. Губицька, В. П. Новіков  
Національний університет “Львівська політехніка”,  
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології

## НАСТОЯНКА ПЕРВОЦВІТУ ВЕСНЯНОГО – ДЖЕРЕЛО ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК З АНТИОКСИДАНТНОЮ АКТИВНІСТЮ

© Стадницька Н. Є., Дякон І. В., Болібрух Л. Д., Місик Я. Т., Губицька І. І., Новіков В. П., 2018

Наведено узагальнену інформацію стосовно фармакологічних властивостей, хімічного складу та використання в народній та офіційній медицині первоцвіту весняного (*Primula veris*). Встановлено, що на фармацевтичному ринку України зареєстровано лише 9 лікарських засобів на основі екстрактів з коренів або квіток первоцвіту з чашечкою, які використовуються для лікування захворювань дихальної системи. Крім цього, визначено вміст екстрактивних речовин, фенольних сполук, флавоноїдів, антиоксидантної активності настоянки трави первоцвіту весняного.

**Ключові слова:** первоцвіт весняний *Primula veris*, захворювання дихальних шляхів, антиоксидантна активність, фенольні сполуки, флавоноїди.

N. E. Stadnytska, I. V. Diakon, L.D. Bolibruh, Y. T. Misyk, I. I. Hubytska, V.P. Novikov

## SPRING PRECIOUS PRESENTATION – SOURCE OF PHENOL COMPOUNDS WITH ANTIOXIDANT ACTIVITY

© Stadnytska N. E., Diakon I. V., Bolibruh L.D., Misyk Y. T., Hubytska I. I., Novikov V. P., 2018

The paper provides generalized information on the pharmacological properties, chemical composition and use of primrose (*Primula veris*) in folk and official medicine. It has been established that only 9 medicines on the basis of extracts from roots or flowers of the primrose with a cup used in diseases of the respiratory system are registered in the pharmaceutical market of Ukraine. In addition, the content of extractives, phenolic compounds, flavonoids, antioxidant activity of tincture of grass of the primrose of spring is determined.

**Key words:** primrose, spring *Primula veris*, respiratory diseases, antioxidant activity, phenolic compounds, flavonoids.

**Постановка проблеми.** Лікарські рослини – безконечне поле для наукових досліджень. Об'єктами вивчення науковців стають як нові маловідомі, так і офіційні рослини. Це пов'язано з комплексним підходом до вивчення хімічного складу та біологічної активності рослинної сировини. Пошук нових технологій переробки та шляхів практичного використання відомих лікарських рослин дозволяє більш раціонально, економно відноситися до природних ресурсів, які, на жаль, через необдумане використання є не безмежними. Особливо це стосується зникаючих або занесених до Червоної книги України рослин. Однією з таких рослин є первоцвіт весняний (*Primula veris*). Відомі препарати на основі сировини первоцвіту використовують для лікування захворювань органів дихання, які сьогодні в Україні залишаються дуже поширеними.

**Аналіз останніх досліджень та публікацій.** Первоцвіт весняний (*Primula veris*) – багаторічна рослина родини первоцвітих (Primulaceae), росте в лісових і лісостепових районах, рідше в північно-східних районах степу. Для лікарських потреб заготовляють кореневища з корінням, квітки з чашечкою, рідше – віночок, а також листя [1].

Коріння первоцвіту містить до 10 % тритерпенових сапонінів, агліконами яких є примулагеніни А, D, SD, глікозиди (примулаверин, примверин), ефірну олію (0,08 %) і каротин. У листі є сапоніни (до 2 %), флавоноїди, каротин (до 3 %). Квіти первоцвіту містять 5–10 % тритерпенових

сапонінів, які вважаються основними діючими речовинами, а також ефірну олію, каротин, флавоноїди, аскорбінову та примулову кислоти. *Primula veris* містить лише незначну кількість приміну – основного алергену первоцвіту, наявність якого контролюється при введенні цієї рослини до складу фітозасобів [4]. Всі частини рослини містять значну кількість аскорбінової кислоти. У листі її, наприклад, до 5,9 % (на суху масу) [1,4].

Препарати первоцвіту весняного мають відхаркувальну дію та підсилюють секреторну активність слизових оболонок верхніх дихальних шляхів і бронхів. Відхаркувальні властивості зумовлені вмістом в корені рослини тритерпенових глікозидів. Крім того, первоцвіт підвищує активність миготливого епітелію і прискорює вихід секрету з дихальних шляхів; має незначні спазмолітичні властивості. Гамма-ліноленова кислота, яка є у рослині, необхідна для вироблення простагландину першої групи – гормоноподібної речовини, що відіграє важливу роль у функціонуванні нашого організму, адже впливає на імунітет і відновлення клітин та володіє судинорозширювальною дією, тобто знижує тонус стінок кровоносних судин, спричиняючи тим самим зниження артеріального тиску. Крім того, гамма-ліноленові кислоти можуть виявитися корисними для лікування хворих з ураженням периферійних судин, що проявляються погіршенням кровотоку в них, а також для лікування певних вроджених захворювань серцево-судинної системи. Простагландини захищають також слизову оболонку шлунку від утворення виразок та токсичної дії аспірину та індометацину. За нестачі гамма-ліноленової кислоти в організмі виникають такі негативні процеси, як зниження захисних функцій організму, схильність до онкозахворювань, порушення роботи серцево-судинної системи [1, 3]. Фізіологічно активні речовини квітів первоцвіту поліпшують регенерацію слизової оболонки, сприяють відновленню її фізіологічних функцій. Народна медицина рекомендує первоцвіт весняний використовувати у складі зборів для лікування бронхіту, ларингіту, трахеїту, бронхіальної астми, кашлю, коклюшу, пневмонії.

У народній медицині первоцвіт використовують у вигляді монопрепарату для лікування бронхіальної астми.

**Мета роботи** – узагальнити інформацію стосовно фармакологічних властивостей, хімічного складу та використання в народній та офіційній медицині первоцвіту весняного (*Primula veris*). Проаналізувати, які і скільки препаратів на основі первоцвіту є сьогодні на фармацевтичному ринку України. Визначити вміст екстрактивних речовин, фенольних сполук, флавоноїдів та дослідити антиоксидантну активність настоянки трави первоцвіту весняного.

**Виклад основного матеріалу і обговорення результатів.** За останні десятиріччя на численних об'єктах доказано біологічну активність рослинних екстрактів, які містять фенольні сполуки, зокрема флавоноїди. Ці екстракти володіють антиоксидантними, антимікробними, протипухлинними, нейропротекторними властивостями. В зв'язку з цим вміст флавоноїдів в рослинній сировині є необхідним показником його біологічної цінності.

На першому етапі нашого дослідження ми провели огляд ринку України стосовно наявності препаратів із вмістом первоцвіту весняного (табл. 1).

Як видно з інформації, наведеної в таблиці, сировиною первоцвіту весняного в препаратах є квітки з чашечкою (*Flores Primulae cum Calycibus*) та корені (*Radix Primulae*). Слід звернути увагу на те, що сьогодні на фармацевтичному ринку України не зареєстровано жодного препарату із вмістом первоцвіту весняного вітчизняного виробництва, що підтверджує доцільність та необхідність проведення фітохімічних та біологічних досліджень цієї рослини.

**Експериментальна частина. Збирання та підготовка рослинної сировини.** Для дослідження збирали надземну частину (траву) первоцвіту весняного у фазі цвітіння в околицях міста Львова. Сушили на добре провітрюваному горіщі в захищеному від сонця місці. Висушену сировину зберігали в паперовому пакеті в сухому приміщенні.

**Вибір екстрагента.** При одержанні настоянок у фармацевтичній промисловості широко використовують спирт етиловий у різних розбавленнях. Як екстрагент він має ширший діапазон вилучення біологічно активних речовин порівняно з водою, його екстрагуюча здатність залежить від концентрації: що концентрація спирту вища, то в його середовищі меншою мірою можливі

гідролітичні процеси, також відбувається інактивація ферментів. Екстракти одержано за використання спирту етилового в концентрації  $\geq 70\%$ , вільні від біополімерів (білків, слизів, пектинів). Їйому характерні консервувальні властивості. Ефект консервування починається з 15–18 %; в екстраційних (новогаленових та галенових препаратах) – у концентрації 20 % (у спиртових сумішах понад 20 % не розвиваються мікроорганізми та пліснява). Найкращі антисептичні властивості має 70 % етанол, що важливо при тривалому зберіганні настоянок та екстрактів. Тому найчастіше для екстрагування рослинної сировини в ролі екстрагенту використовують суміші етанолу та води з відсотковим вмістом в межах від 30 до 70 %.

Таблиця 1

**Препарати із вмістом *Primula veris* на фармацевтичному ринку України**

Назва/лікарська форма/виробник	Склад діючих речовин
ПАРАЛЕН® ТИМ'ЯН-ПРИМУЛА / рідина оральна по 100 мл у флаконі № 1 / Ей. Натгерманн енд Сайі ГмбХ, Німеччина	100 г рідини містять: екстракту рідкого чебрецю / <i>Thymus vulgaris</i> L./ (1:2–2,5) 5 г; екстракту рідкого кореня первоцвіту / <i>Primula veris</i> L./ (1:2–2,5) 2,5 г; склад екстрагенту для екстракту рідкого чебрецю: амонію розчин 10 %, гліцерин 85 %, етанол 90 %), вода у співвідношенні (1:20:70:109); склад екстрагенту для екстракту рідкого кореня первоцвіту: етанол 70 % (м/м)
ГЕРБІОН® СИРОП ПЕРВОЦВІТУ / сироп по 150 мл у флаконах № 1 разом з мірною ложечкою / КРКА, д.д., Ново место, Словенія	екстракт рідкий кореня первоцвіту, екстракт рідкий трави чебрецю; 5 мл сиропу (1 мірна ложка) містять екстракт рідкий кореня первоцвіту ( <i>Radix Primulae veris</i> , <i>Radix Primulae elatior</i> ) (1:2–4,6) (екстрагент – вода) – 1,03 г; екстракт рідкий трави чебрецю ( <i>Herba Thymi vulgaris</i> , <i>Herba Thymi zygis</i> ) (1:3,3) (екстрагент – вода) – 2,06 г
БРОНХИПРЕТ® ТП / таблетки, вкриті оболонкою, № 20 (20x1), № 50 (25x2), № 100 (25x4) у блістерах/ Біонорика СЕ, Німеччина	1 таблетка, вкрита оболонкою, містить: 160 мг екстракту трави чебрецю сухого (4-8:1) ( <i>Herba Thymi vulgaris</i> ), (екстрагент етанол 70 %); 60 мг екстракту коренів первоцвіту сухого (5,3–7,8:1) ( <i>Radix Primulae</i> ), (екстрагент етанол 47,4 %)
СИНУПРЕТ® / краплі оральні по 100 мл у флаконі № 1 / Біонорика СЕ, Німеччина	100 г крапель містять 29 г екстракту (1:11) з кореня горечавки ( <i>Radix Gentianae</i> ); квіток первоцвіту з чашечкою ( <i>Flores Primulae cum Calycibus</i> ); трави шавлю ( <i>Herba Rumicis</i> ); квіток бузини ( <i>Flores Sambuci</i> ); трави вербени ( <i>Herba Verbenaе</i> ) (1:3:3:3:3), (екстрагент етанол 59 %)
СИНУПРЕТ® / сироп по 100 мл у флаконі № 1/ Біонорика СЕ, Німеччина	100 г сиропу містять: 10 г екстракту (1:11) з кореня горечавки ( <i>Radix Gentianae</i> ), квіток первоцвіту з чашечкою ( <i>Flores Primulae cum Calycibus</i> ), трави вербени ( <i>Herba Verbenaе</i> ), трави шавлю ( <i>Herba Rumicis</i> ), квіток бузини ( <i>Flores Sambuci</i> ) (1:3:3:3:3), (екстрагент етанол 59 %)
СИНУПРЕТ® ФОРТЕ / таблетки, вкриті оболонкою, № 20 (20x1), № 50 (25x2), № 100 (25x4) у блістерах / Біонорика СЕ, Німеччина	1 таблетка містить висушені лікарські рослини у вигляді порошку: трави шавлю ( <i>Herba Rumicis</i> ) 36 мг; трави вербени ( <i>Herba Verbenaе</i> ) 36 мг; кореня горечавки ( <i>Radix Gentianae</i> ) 12 мг; квіток бузини ( <i>Flores Sambuci</i> ) 36 мг; квіток первоцвіту з чашечкою ( <i>Flores Primulae cum Calycibus</i> ) 36 мг;
СИНУПРЕТ® / таблетки, вкриті оболонкою, № 50 (25x2) у блістерах / Біонорика СЕ, Німеччина	1 таблетка містить висушені лікарські рослини у вигляді порошку: кореня горечавки ( <i>Radix Gentianae</i> ) 6 мг, квіток первоцвіту з чашечкою ( <i>Flores Primulae cum Calycibus</i> ) 18 мг, трави шавлю ( <i>Herba Rumicis</i> ) 18 мг, квіток бузини ( <i>Flores Sambuci</i> ) 18 мг, трави вербени ( <i>Herba Verbenaе</i> ) 18 мг
БРОНХОСОЛ / сироп по 100 мл, 200 мл у флаконах № 1 / Фітофарм Кленка С.А., Польща	100 мл сиропу містять густого складного екстракту (3:1) із суміші сировини трави чебрецю ( <i>Thymus vulgaris</i> L.)/ коренів первоцвіту (7,6/1) 4,360 г (екстрагент: вода очищена) і тимолу 19,8 мг
СИНУПРЕТ® ЕКСТРАКТ / таблетки, вкриті оболонкою № 20 (10x2), № 40 (10x4) у блістерах / Біонорика СЕ, Роттендорф Фарма ГмбХ, Вівельхове ГмбХ, Драгенофарм Апотекер Пюшль ГмбХ, Німеччина	1 таблетка містить 160 мг сухого екстракту (3–6:1) з кореня горечавки ( <i>Radix Gentianae</i> ), квіток первоцвіту з чашечкою ( <i>Flores Primulae cum Calycibus</i> ), трави шавлю ( <i>Herba Rumicis</i> ), квіток бузини ( <i>Flores Sambuci</i> ), трави вербени ( <i>Herba Verbenaе</i> ) (1:3:3:3:3), (екстрагент етанол 51 %)

**Приготування водно-спиртової витяжки.** Екстрагентом для приготування дослідного зразка обрано водно-етанольну суміш із вмістом спирту етилового 70 %. Цей вибір обумовлено тим фактом, що саме цей розчинник забезпечує максимальне вилучення фенольних сполук з рослинних об'єктів, а також використовується в фармацевтичній промисловості для виготовлення настоек та екстрактів, як було зазначено вище. Методом екстракції обрано класичну мацерацію із співвідношенням сировина – екстрагент 1:10. Цей спосіб екстрагування дозволяє одержати комплекс БАР у незмінному природному вигляді, оскільки не передбачає додаткового підведення тепла. Сушу сировину подрібнювали до розміру частинок 1–3 мм та заливали спиртово-водною 70 % сумішшю до повного покриття сировини. Настоявали при кімнатній температурі протягом тижня та зливали зелено-бурого забарвлення настоянку.

**Визначення вмісту екстрактивних речовин у настоянці.** У зважену скляну ємкість вносили 1 мл досліджуваної настоянки. Розчинник віддували під струменем азоту за температури 40 °С на приладі RapidVar® Vertex Evaporator. Повторно зважували і розраховували вміст екстрактивних речовин (ЕР) в одному мілілітрі екстракту.

**Визначення вмісту поліфенолів.** До 0,25 мл настоянки додавали 1,25 мл розчину Фоліна-Чокалтеу та 2,5 мл H<sub>2</sub>O, залишали на 5 хвилин, додавали 3,75 мл 20 % Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, після чого доводили водою до мітки. Залишали на 2 год в темноті. Вимірювали оптичну густину на спектрофотометрі Hitachi U-2810 при довжині хвилі 760 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння 70 % спирт. Кратність повторів дорівнювала трьом. Розраховували вміст фенольних сполук у настоянці (в перерахунку на хлорогенову кислоту) з використанням калібрувального графіка залежності показника оптичної густини від концентрації хлорогенової кислоти в розчині. Для його побудови готували серію розбавлень вихідного розчину кислоти з концентрацією 0,1 мг/мл. Одержані результати наведено в табл. 2.

**Визначення вмісту флавоноїдів.** До мірної колби місткістю 25 мл вносили 2 мл досліджуваного розчину, 2 мл 3 % розчину алюміній хлориду та 0,1 мл оцтової кислоти, розведеної Р, доводили об'єм розчину 96 % спиртом Р до мітки. Через 40 хв вимірювали оптичну густину розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі в діапазоні 360–420 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовували розчин з 2 мл досліджуваного розчину, 0,1 мл оцтової кислоти, розведеної Р, і доведений 96 % спиртом Р до мітки в мірній колбі місткістю 25 мл. Розраховували вміст флавоноїдів у настоянці (в перерахунку на кверцетин) з використанням калібрувального графіка залежності показника оптичної густини від концентрації хлорогенової кислоти в розчині. Для його побудови готували серію розбавлень вихідного розчину кверцетину з концентрацією 0,1 мг/мл. Одержані результати наведено в табл. 2.

**Визначення радикалпоглинальної активності за допомогою стабільного вільного радикала 2,2-дифенілпікрілгідразу.** До 0,2 мл досліджуваної настоянки додавали 1,8 мл розчину 2,2-дифенілпікрілгідразу в етанолі з концентрацією 4,0 мг/100 мл. Після перемішування пробу витримували протягом 30 хвилин у темноті. Для контролю змішували 0,2 мл етанолу та 1,8 мл робочого розчину DPPH в етанолі. Вимірювали оптичну густину на спектрофотометрі при довжині хвилі 517 нм. Дослід проводили в трьох повторях.

Радикалпоглинальну здатність обчислювали за формулою:

$$\text{РПА}(\%) = 100(A_0 - A_1)/A_0.$$

Для визначення значення IC<sub>50</sub>, тобто концентрації досліджуваного зразка, за якої відбувається інгібування 50 % вільного радикала, готували серію розбавлень настоянки.

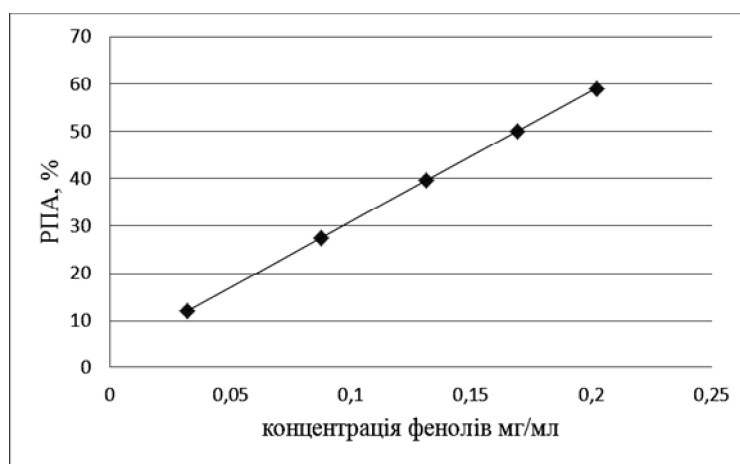
Знаючи значення IC<sub>50</sub> розраховували антирадикальну активність за формулою:

$$\text{АРА} = 1/\text{IC}_{50}.$$

Загальну антиоксидантну активність подавали в мг аскорбінової кислоти (аскорбінової кислоти еквівалент (АКЕ)) і обчислювали за формулою

$$\text{АКЕ} = \text{АРА зразка} / \text{АРА аскорбінової кислоти}.$$

Для визначення IC<sub>50</sub> аскорбінової кислоти готували серію розбавлень її розчину з концентрацією 1 мг/мл. Ми отримали значення IC<sub>50</sub>(АК)=0,043 мг/мл, тоді АРА(АК)= 23,256 (рисунок).



Залежність радикалпоглинальної активності від вмісту фенольних сполук настоянки первоцвіту весняного

Таблиця 2

#### Показники антиоксидантної активності настоянки первоцвіту весняного

Об'єкт	IC <sub>50</sub>	АРА*	АКЕ*
Настоянка первоцвіту весняного	0,169	5,917	0,254
Аскорбінова кислота	0,043	23,256	1,0

\*АРА (анти радикальна активність) АРА=1/IC 50.

АКЕ (аскорбінової кислоти еквівалент) АКЕ=АРА зразка/АРА аскорбінової кислоти.

**Визначення антиоксидантної активності.** Для визначення антиоксидантної активності використовували метод FRAP (ferric reducing antioxidant power – залізовідновлювальна антиоксидантна сила), який ґрунтується на реакції відновлення комплексу атомів Fe<sup>3+</sup>-TPTZ до Fe<sup>2+</sup>-TPTZ (TPTZ – 2,4,6-tryridylo-S-triazyn. До 0,1 мл досліджуваної настоянки додавали 3,0 мл розчину FRAP 0,3 мл води. Через 5 хвилин витримки визначали показник оптичної густини при довжині хвилі 595 нм. Дослід проводили в трьох повторах.

Таблиця 3

#### Вміст екстрактивних речовин, фенольних сполук, флавоноїдів та радикалпоглинальна активність настоянки первоцвіту весняного

Об'єкт	ЕР*, мг/л	Фенольні сполуки, мг/л	Флавоноїди, мг/л	РПА*, %	ЗВАП*, ммоль/л
Настоянка первоцвіту весняного	86000	2630	294	87	7656

**Висновки.** Одержані результати підтвердили високий потенціал настоянки як джерела фенольних сполук, зокрема флавоноїдів, і доцільність подальших її досліджень з метою детальнішого вивчення фітохімічного складу та біологічної активності. Поповнення фармацевтичного ринку України фітозасобом із вмістом первоцвіту весняного вітчизняного виробництва заслуговує на особливу увагу, оскільки це матиме позитивний економічний ефект (понижить собівартість препарату).

1. Гродзінський А. М. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник. – К.: Голов. ред. УРЕ, 1990. – 544 с. 2. Попов А. П. Лекарственные растения в народной медицине. – К.: Здоровье, 1970. – 315 с. 3. Чекман И. С. Фармакология, рецептура, практические занятия. – К.: Рада, 2003. 4. Ismail C. (2005) Pharmacology of Sinupret. Recent results on the rationale for the Sinupret compound. HNO, 53(Suppl. 1): S38– S42. 5. Ismail C., Wiesel A., März R.W., Queisser-Luft A. (2003) Surveillance study of Sinupret in comparison with data of the Mainz birth registry. Arch. Gynecol. Obstet., 267(4): 196–201.