

ФАРМАЦІЯ

В. Р. Карпюк¹, Н. В. Поліш¹, Н. Я. Качмар-Кос¹, І. В. Павлюк², Р. Т. Конечна¹¹ Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології² АТ “Галичфарм”
viktoriiia.r.liakh@lpnu.uaДОСЛІДЖЕННЯ СКЛАДУ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ ДІЇ
ХЛОРОФОРМНОГО ЕКСТРАКТУ ТРАВИ *FICARIA VERNA*<https://doi.org/10.23939/ctas2022.01.061>

Наведено результати дослідження хлороформного екстракту трави *Ficaria verna*, зокрема визначено хімічний склад та антиоксидантну активність. Ідентифіковано 38 летких сполук: вищі жирні кислоти, естери жирних кислот, моноциклічні та біциклічні монотерпеноїди, насичені вуглеводні (алкани) тощо. Встановлено, що хлороформний екстракт проявляє антиоксидантну дію. Крім того, високий вміст біологічно активних речовин у ліпофільній леткій фракції *Ficaria verna* свідчить про перспективи подальших досліджень.

Ключові слова: *Ficaria verna*; хлороформний екстракт; антиоксидантна дія.

Вступ

Використання лікарських рослин для лікування різноманітних захворювань має тисячолітню історію та не втрачає актуальності й сьогодні [1, 2]. Інтерес до лікарських рослинних препаратів зумовлений безпечністю таких препаратів, м'якшим ефектом та практичною відсутністю побічних реакцій [3, 4]. Зважаючи на постійне зростання зацікавленості лікарськими рослинами та їх використанням у медицині, постає питання пошуку та впровадження у практику нових перспективних рослин, які можуть бути потенційним джерелом біологічно активних сполук. До таких рослин можна зарахувати лікарські рослини родини жовтицеві (*Ranunculaceae* L.), які є цінним джерелом біологічно активних сполук (сапоніни, кардіостероїди, алкалоїди, фенольні сполуки тощо) та зумовлюють особливий інтерес науковців.

Пшінка весняна (лат., *Ficaria verna*, англ. *Fig buttercup, lesser celandine, pilewort, and ficaire*) неофіційна рослина родини (*Ranunculaceae* L.), підкласу ранункуліди (*Ranunculidae*), роду пшінка (*Ficaria*), яка вже давно широко використовується в народній медицині різних країн і проявляє широкий спектр лікувальних властивостей. *Ficaria verna* поширена на більшій частині території Європи, в Україні на всій території [5].

Ficaria verna не належить до фармакопейних рослин, проте заслуговує на увагу науковців завдяки вмісту біологічно активних речовин та вираженим лікувальним властивостям. Препарати рослини використовують як сечогінний, відхаркувальний, протизапальний, ранозагоювальний та кровоочисний засіб, проте антиоксидантні властивості досліджено недостатньо. Біологічно активними речовинами *Ficaria verna* (надземної частини рослини) є амінокислоти, мінеральні елементи, вітаміни, сапоніни, глікозиди, алкалоїди, але їх якісний та кількісний вміст вивчено недостатньо [6]. Тому ми здійснюємо системне дослідження ліпофільних сполук.

Мета дослідження – вивчити вміст біологічно активних сполук і компонентний склад хлороформного екстракту трави *Ficaria verna*, його антиоксидантну активність та встановити можливість розроблення на його основі нових лікарських засобів.

Матеріали та методи досліджень

Сировину (траву *Ficaria verna*) для досліджень заготовляли із природних місць зростання (екологічно чистий регіон Волинської області, Україна) у 2020 р. Сушили повітряно-тіньовим способом та подрібнювали.

Ліпофільний екстракт отримували вичерпним екстрагуванням трави *Ficaria verna* хлороформом в апараті Сокслета. Хлороформні екстракти випаровували до повного видалення екстрагенту та зважували. Масу ліпофільної фракції визначали як різницю значення маси приймача, заповненого субстанцією, від попередньо визначеної маси порожнього приймача [7]. Розраховували вихід ліпофільної фракції (X, %) трави *Ficaria verna* у перерахунку на абсолютно суху сировину за формулою:

$$X = \frac{m_{л.ф} \times 100 \times 100}{m_n \times (100 - w)},$$

де $m_{л.ф}$ – маса ліпофільної фракції, г; m_n – маса наважки сировини, г; w – втрата в масі під час висушування, % [8].

Компонентний аналіз вмісту біологічно активних речовин ліпофільного екстракту виконували за допомогою хроматографа Agilent Technology 6890 GC System із мас-спектрометричним детектором HP 5973 Mass Selective Detector. Компоненти розділяли на колоні із плавленим кремнеземом Restek Rtx-5MS довжиною 30 м і внутрішнім діаметром 0,32 мм. Стаціонарна рідка фаза завтовшки 0,25 мкм складалася з 95 % поліметилсилоксану і 5 % фенілполісилоксану. Газом-носієм був гелій. Швидкість газу-носія становила 2,0 мл/хв. Термостат колони нагрівали за такою програмою: початкову температуру 60 °С підтримували протягом 10 хв, а потім температуру підвищували з темпом 20 °С/хв до 280 °С. Ця температура залишалася постійною упродовж 30 хв, температура детектора та випарника становила 280 °С. Біологічно активні речовини ідентифікували за часом утримування, порівнюючи його зі стандартами та з бібліотекою мас-спектрів NIST 05 та WILEY 2007, загальна кількість спектрів понад 470000.

Антиоксидантну активність визначали із використанням радикала ДПФГ (2,2-дифеніл-1-пікрілгідразил) та катіон-радикала АБТС (2,2'-азино-біс-(3-етилбензгіазолін-6-сульфо кислоти), що є стабільним вільним радикалом.

Дослідження антиоксидантної дії здійснено за допомогою модифікованого методу. На першому етапі дослідження одержували свіжоприготовлений розчин 0,1 мМ ДФПГ. На наступному етапі до 500 мкл досліджуваного екстракту додавали 4,5 мл розчину ДФПГ та інкубували протягом 30 хв у темному місці за кімнатної температури. Після цього здійснювали дослідження

на спектрофотометрі Hitachi U-2810 за довжини хвилі 517 нм. Як контрольний зразок використовували етанол.

Розрахунок антиоксидантної активності виконували за формулою:

% інгібування = $(A_{control} - A_{sample})/A_{control} \times 100$ %, де $A_{control}$ – оптична густина вихідного розчину ДФПГ; A_{sample} – оптична густина зразка з розчином ДФПГ. Вимірювання виконано тричі [9–11].

Ефект поглинання вільних радикалів екстракту визначали за допомогою аналізу знебарвлення катіон-радикала АБТС. Основний розчин готували, додаючи 10 мл 0,014 мМ розчину АБТС до розчину персульфату калію (приготованого розчиненням 0,0135 г $K_2S_2O_8$ в 10 мл води). Одержану суміш перемішували і залишали в темному місці за кімнатної температури на 20 год. Так отримували катіон-радикал АБТС (АБТС *). Після цього готували розведений розчин АБТС * ($A_{control}$) – 1 мл розчину розводили до 100 мл водою. Досліджуваний екстракт змішували з розведеним розчином АБТС * (A_{sample}) та вимірювали коефіцієнт поглинання.

Дослідження виконували на спектрофотометрі Hitachi U-2810 за довжини хвилі 734 нм. Всі вимірювання здійснювали тричі. Відсоток інгібування поглинання розраховували, використовуючи наведені вище рівняння [12, 13].

Радикалпоглинальний ефект обчислювали у відсотках для досліджуваного екстракту порівняно з еталоном – аскорбіновою кислотою та кверцетином.

Одержані результати статистично оброблені із використанням програми STATISTICA 8 та пакета статистичних функцій програми Microsoft Excel. Визначено середнє арифметичне відхилення m , середнє арифметичне значення M , t -критерій Стьюдента, кількість повторень n .

Результати досліджень та їх обговорення

Перший етап досліджень полягав у аналізі одержаної хроматограми експериментального зразка екстракту (рис. 1). У результаті дослідження виявлено і встановлено кількісний вміст 38 летких сполук (рис. 1 та таблиця).

Як свідчать дані табл. 1, у досліджуваному екстракті ідентифіковано 38 летких сполук: вищі жирні кислоти, естери жирних кислот, моноциклічні та біциклічні монотерпеноїди, насичені вуглеводні (алкани) тощо.

Abundance

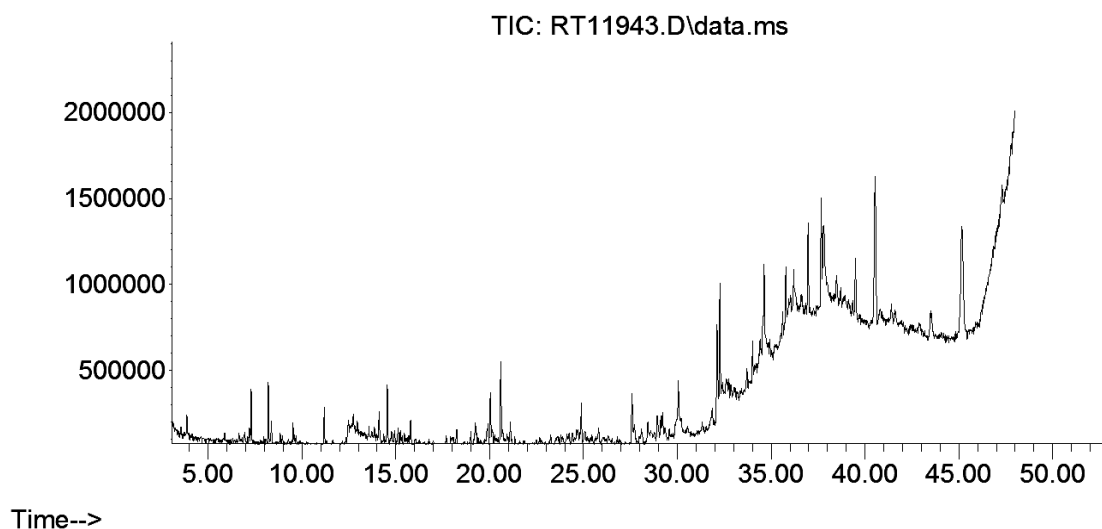


Рис. 1. Хроматограма хлороформного екстракту трави *Ficaria verna*

Склад та вміст ідентифікованих сполук хлороформного екстракту трави *Ficaria verna*

№ з/п	Час утримання	Назва речовини	Вміст, %
1	2	3	4
1	7,303	D-лімонен	0,93
2	8,217	Метилундекан C ₁₂ H ₂₆	1,03
3	8,374	Ейкозан C ₂₀ H ₄₂	0,51
4	14,548	Тридекан C ₁₃ H ₂₈	1,11
5	14,777	Гексадекан	0,46
6	17,935	1-йододекан C ₁₀ H ₂₁ I	0,61
7	19,235	Гептадекан C ₁₇ H ₃₆	0,88
8	19,907	Гептадекан C ₁₇ H ₃₆	0,78
9	20,050	Гептадекан (тетракозан)	1,12
10	24,894	Гексадекан (цетан) C ₁₆ H ₃₄	1,11
11	27,595	Міртанал C ₁₀ H ₁₆ O	1,11
12	28,438	Гідразид стеаринової кислоти C ₁₈ H ₃₈ N ₂ O	0,68
13	28,938	2-амінобензофенон гідразон	0,82
14	30,067	Пальмітинова кислота C ₁₆ H ₃₂ O ₂	2,27
15	30,196	Пальмітинова кислота C ₁₆ H ₃₂ O ₂	0,46
16	31,339	Гептадекан	0,27
17	31,868	Октадекан	0,75
18	32,125	Фітол C ₂₀ H ₄₀ O	2,57
19	32,411	(5Z)-5,17 – октадекадієніл ацетат	1,18
20	32,611	Нонадекан	0,88
21	32,654	Трикозан, ейкозан	0,68
22	32,754	Генейкозан	0,62
23	32,854	Пентадекан C ₁₅ H ₃₂	0,78

1	2	3	4
24	33,711	Трибутил ацетилцитрат $C_{20}H_{34}O_8$	0,51
25	34,012	Трикозан $C_{23}H_{48}$	0,84
26	34,412	Трикозан $C_{23}H_{48}$	1,63
27	34,626	Олеамід $C_{18}H_{35}NO$	3,28
28	34,712	Ейкозан $C_{20}H_{42}$	0,83
29	34,926	Октадекан $C_{18}H_{38}$	0,54
30.	35,541	Метилгексадекан $C_{17}H_{36}$	0,89
31.	35,784	Тетрадекан $C_{14}H_{30}$	2,16
32	36,041	Ейкозан $C_{20}H_{42}$	2,92
33	36,198	Фталева кислота, ізогексил неопентил естер	4,14
34	36,427	Олеїнова кислота $C_{18}H_{34}O_2$	1,04
35	36,584	2-метилгексан $C_{17}H_{36}$	1,72
36	36,770	Олеїнова кислота $C_{18}H_{34}O_2$	0,25
37	36,841	Олеїнова кислота $C_{18}H_{34}O_2$	0,51
38	36,984	Октилдодеканол $C_{20}H_{42}O$	2,21
39	37,670	Ейкозан $C_{20}H_{42}$	2,16
40	37,784	1-докозен $C_{22}H_{44}$	4,10
41	37,984	Хлороїкозан $C_{20}H_{41}Cl$	1,08
42	38,484	Тетракозан $C_{24}H_{50}$	1,85
43	38,713	16-гексадеканолактон	0,99
44	39,499	9-циклогексилгептадекан $C_{23}H_{46}$	1,84
45	40,542	Трикозан $C_{23}H_{48}$	5,13
46	40,800	Октакозил перфторбутират $C_{32}H_{57}F_7O_2$	0,96
47	41,414	Ейкозан $C_{20}H_{42}$	1,09
48	41,600	Метиллінолеат $C_{19}H_{34}O_2$	1,09
49	43,515	2-нонео-1-ол $C_9H_{18}O$	1,18
50	45,172	Ейкозан $C_{20}H_{42}$	6,23

Аналізуючи одержані дані, можна зробити висновок, що компонентний склад всіх досліджуваних об'єктів представлений здебільшого парафіновими вуглеводнями, альдегідами та естерами жирних кислот, незначним вмістом терпенів. Вміст октадекану становить 1,29 %, ейкозану – 13,74 %, трикозану – 8,28 %, гептадекану – 2,17 %, тетракозану – 1,85 %, тетрадекану – 2,16 %, пентадекану – 0,78 %, метилундекану – 1,03 % та ін. Визначені сполуки часто застосовують у фармацевтичній, парфумерній та косметичній галузях, завдяки їхнім антисептичній дії (терпенів), плівкоутворювальним властивостям (парафінових вуглеводнів) тощо.

Вміст жирних кислот: пальмітинової кислоти – 2,73 %, олеїнової кислоти – 1,8 %. У зразку міститься фітол в кількості 2,57 %. Відзначимо наявність у досліджуваному зразку слідів монотерпену: D-лімонену (0,93 %), який володіє

антибактеріальними властивостями і використовується в косметичній промисловості. Фітол є найпоширенішим у природі ізопреноїдом та використовується у виробництві вітамінів E і K₁ (фітонадіону).

ДПФГ та катіон-радикала АБТС катіонний аналіз, спрямований на визначення властивостей поглинання вільних радикалів екстрактів *Ficaria verna*. На діаграмі (рис. 2) подано результати антиоксидантної активності екстракту *Ficaria verna* порівняно з активністю відомих антиоксидантів: кверцетину та вітаміну С.

У результаті досліджень встановлено, що антиоксидантна активність екстракту *Ficaria verna* практично рівноцінна антиоксидантній активності кверцетину та аскорбінової кислоти, що свідчить про перспективу використання екстрактів *Ficaria verna* під час розроблення та створення засобів із антиоксидантною дією.

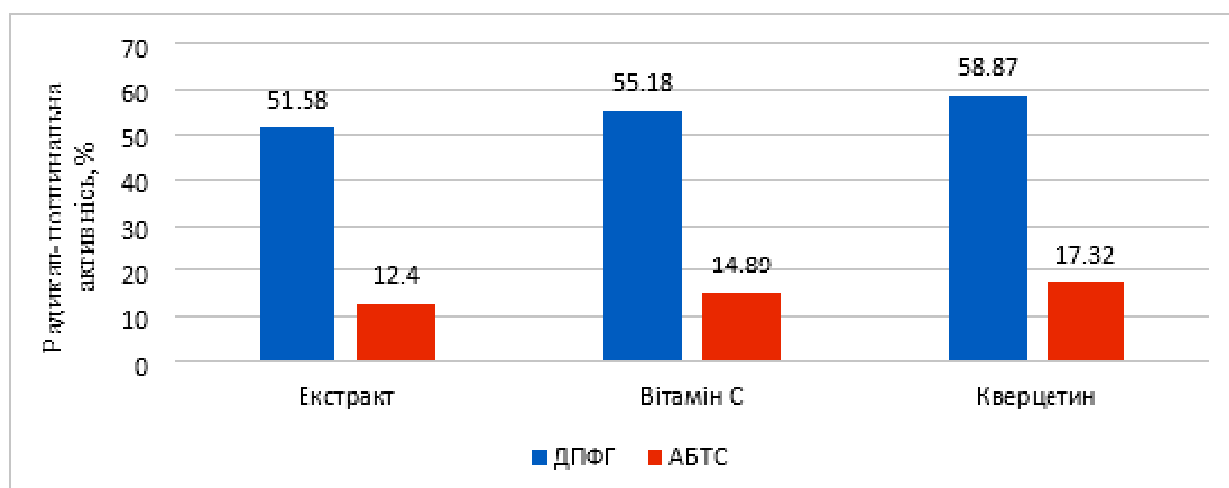


Рис. 2. Активність екстрактів *Ficaria verna* щодо поглинання радикалів ДПФГ та АБТС

Висновки

Дослідження спрямоване на аналіз складу хлороформного екстракту трави *Ficaria verna*. Ліпофільну фракцію *Ficaria verna* отримували методом вичерпної екстракції хлороформом в екстракторі Сокслета. Вихід становив 6,93 %. За допомогою хромато-мас-спектрометрії вперше визначено компонентний склад летких речовин фракції хлороформу *Ficaria verna*. Виявлено та ідентифіковано 38 летких речовин.

Антиоксидантну активність екстракту визначено з використанням радикала ДПФГ та катіон-радикала АБТС. Встановлено, що екстракт проявляє антиоксидантну активність та потенційно може використовуватись для розроблення нових антиоксидантних засобів, проте потребує подальших глибинніших досліджень.

Ficaria verna можна вважати перспективною лікарською рослиною завдяки вмісту біологічно активних сполук, зокрема визначених під час проведеного дослідження. Рослинну сировину можна використовувати для розроблення складу нових фітопрепаратів комплексної дії.

References

1. Sambukova, T. V., Ovchynnykov, B. V., Hanapol's'kyu, V. P. у dr. (2017). Perspektyvy yspol'zovannya fytopreparatov v sovremennoy farmakolohyy. *Farmakolohyya.*, No. 2, 56–63 (in Ukrainian). DOI: 10.17816/RCF15256-63.
2. Kharchenko, T. A. (2012). Narodni ta netradytsiyni metody likuvannya: mif chy real'nist'? *Ukrayins'kyu*

medychnyy chasopys, 1–3. Dostupno za posylannam. Retrieved from: <https://www.umj.com.ua/article/29431/narodni-ta-netradicijni-metodi-likuvannya-mif-chi-realnist> (in Ukrainian).

3. Nykolaeva, Y. H. (2012). Razrabotka y standartyzatsyya sredstv rastytel'noho proyskhozhdennyya, obladayushchykh adaptovannoyu aktyvnost'yu: avto-ref. dys. dok. farm. nauk. Ulan-Ude.

4. Ernst, E. J. (2009). Informing the public responsibly about herbal medicine. *Diet Suppl.*, Vol. 6, No. 1, 9–12.

6. Liakh, V. R., Konechna, R. T. (January 2020). Prykladni aspekty zastosuvannya likars'kykh roslyn rodyny Ranunculaceae v etnomedytsyni ta farmatsiyi. *Challenges and achievements of medical science and education*, 202–217. Publishing House "Baltija Publishing" (in Ukrainian).

7. Solodovnychenko, N. M., Zhuravl'ov, M. S., Koval'ov, V. N. (2001). Likars'ka roslynna syrovyna ta fitopreparaty: Posib. z farmakohnoziyi z osnovamy biokhimiyi likar. roslyn. Kharkiv: Vyd-vo NFAU. Zoloti storinky (in Ukrainian).

8. Yurchenko, N. S., Il'yina, T. V., Koval'ova, A. M. (2012). Doslidzhennya skladu khloroformnoyi fraktsiyi travy marenky zapashnoyi. *Ukrayins'kyu biofarmatsevtichnyy zhurnal*, No. 3(20), 72–76 (in Ukrainian).

9. Quy Diem Do, Artik Elisa Angkawijaya, Phuong Lan Tran-Nguyen, Lien Huong Huynh, Felycia Edi Soetaredjo, Suryadi Ismadji, Yi-Hsu Ju. (2013). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22, 296–302. DOI:10.1016/j.jfda.2013.11.001.

10. Skira, A. R., Yaremkevych, O. S., Zayarnyuk, N. L., Kurka, M. S. (2020). Research of

antioxidant properties of grape marc extracts as perspective pharmaceutical and cosmetic products. *Chemistry, technology and application of substances*; Vol. 3, No. 2, 79–84. DOI: <https://doi.org/10.23939/ctas2020.02.079>.

11. Karpiuk, V., Konechna, R. (2021). Total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity of *Ficaria verna*. *Scientific journal of Polonia university*, 229–234.

12. Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., Jukic, M. (March 2006). Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*, Vol. 94, Is. 4, 550–557.

13. Konechna, R., Khropot, O., Petrina, R., Gubriy, Z., Novikov, V. (2017) Research of antioxidant properties of extracts of the plants and the callus biomass. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 10(7), 182–185. DOI: 10.22159/ajpcr.2017.v10i7.18408.

V. R. Karpiuk¹, N. V. Polish¹, N. Ya. Kachmar-Kos¹, I. V. Pavliuk², R. T. Konechna¹

¹Lviv Polytechnic National University,
Department of Technology of Biologically Active Substances,
Pharmacy and Biotechnology
²JSC “Halychpharm”

THE STUDY OF THE COMPOSITION OF CHLOROFORM FRACTION OF *FICARIA VERNA*

The results of the study of chloroform extract of the herb *Ficaria verna*, in particular the chemical composition and antioxidant activity are presented in the paper. 38 volatile compounds were identified: higher fatty acids, fatty acid esters, monocyclic and bicyclic monoterpenoids, saturated hydrocarbons (alkanes), etc. Research determined that chloroform extract shows antioxidant activity. In addition, the significant content of biologically active substances in the lipophilic volatile fraction of *Ficaria verna* indicates the prospects for further research.

Key words: *Ficaria verna*; chloroform extract; antioxidant action.