

ФАРМАЦІЯ

В. Р. Карпюк

Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології
viktoriia.r.liakh@lpnu.ua

ДОСЛІДЖЕННЯ З РОЗРОБКИ СКЛАДНОГО ЕКСТРАКТУ
НА ОСНОВІ РОСЛИН РОДИНИ ЖОВТЕЦЕВІ

<https://doi.org/10.23939/ctas2022.02.094>

Наведено результати дослідження із метою розроблення складного екстракту на основі лікарських рослин родини Жовтецеві, а саме: трави *Caltha palustris*, трави *Ficaria verna*, трави *Ranunculus acris*. Встановлено показники доброякісності сировини та визначено вміст екстрактивних речовин у складних екстрактах. Досліджено кількісний вміст фенольних сполук та флавоноїдів і встановлено, що у складних екстрактах, отриманих методом об'єднання екстрактів досліджуваних рослин, кількісний вміст фенолів та флавоноїдів був вищий, ніж у екстрактах, одержаних мацерацією суміші трав. Найвищий вміст фенолів і флавоноїдів у екстрактах, де екстрагентом був 70 % етанол.

Ключові слова: *Caltha palustris*; *Ficaria verna*; *Ranunculus acris*; складний екстракт; екстрактивні речовини; феноли; флавоноїди.

Вступ

Рослинний світ – це природний виробник та зберігач різноманітних біологічно активних сполук, зокрема алкалоїдів, сапонінів, ефірних олій, похідних кумаринів, флавоноїдів, терпеноїдів та багатьох інших. Віддавна рослини були незамінним джерелом отримання лікарських препаратів різної спрямованості дії: жовчогінних, протизапальних, серцево-судинних та інших [1].

В умовах сьогодення на фармацевтичному ринку України стрімко зростає популярність лікарських засобів природного походження. Лікувально-профілактичні рослинні препарати порівняно з синтетичними аналогами є безпечнішими і не менш ефективними. Це пов'язано з тим, що ефект фітозасобів м'якший порівняно з синтетичними препаратами, спектр терапевтичної дії широкий і їх легше переносить людський організм. Фітопрепарати можуть застосовуватись впродовж тривалого часу, практично не спричиняють побічних реакцій. Саме ці фактори є доволі важливими критеріями під час вибору лікарського засобу для окремих груп людей, зокрема вагітних жінок, літніх пацієнтів, пацієнтів із

порушеннями функції печінки і нирок, а також у випадках політерапії [2–5].

Сьогодні спостерігається тенденція до переведення лікарської рослинної сировини у форму екстракційних препаратів, які мають переваги над самою рослинною сировиною, а саме – можливість вилучення максимальної кількості біологічно активних речовин, точність дозування, забезпечення комплексного фармакологічного ефекту зі збереженням властивостей багатокомпонентного засобу.

Разом із цим продовжується пошук нових лікарських рослин, які володіють лікарськими властивостями, мають тривалий досвід застосування в етномедицині, проте вивчені ще не достатньо. Представники родини Жовтецеві (*Ranunculaceae L.*) є одними із перспективних об'єктів для дослідження, оскільки проявляють широкий спектр лікувальних властивостей, містять комплекси цінних біологічно активних сполук: алкалоїди, сапоніни, кардіостероїди, фенольні сполуки тощо, та здавна застосовуються у народній медицині багатьох країн як лікарські засоби із різноманітною фармакологічною дією [6–9].

Серед представників родини Жовтецеві важливе значення мають *Caltha palustris* (Калюжниця болотна), *Ficaria verna* (Пшінка весняна), *Ranunculus acris* (Жовтець їдкий), які є потенційним джерелом біологічно активних сполук та сировинним джерелом для розроблення субстанцій різної спрямованості дії.

Caltha palustris найчастіше використовують зовнішньо як протизапальний і знеболювальний засіб при ранах, опіках, ревматизмі, забиттях, екземі, нейродерматитах тощо. *Ficaria verna* використовують внутрішньо для лікування бронхіту, трахеїту, запору, а також зовнішньо у разі шкірних висипань, геморою, діатезу, вугрів, стоматиту, подряпин та ран. *Ranunculus acris* використовують переважно як зовнішній засіб для лікування інфікованих дерматозів, ран та туберкульозу шкіри. Внутрішньо рослину використовують при захворюваннях печінки у невеликих дозах [10–12].

Мета дослідження – розробити склад та дослідити умови одержання складного екстракту на основі лікарських рослин родини Жовтецеві (*Ficaria verna*, *Caltha palustris* та *Ranunculus acris*).

Матеріали та методи досліджень

Рослинну сировину (траву *Ficaria verna*, *Caltha palustris* та *Ranunculus acris*) для досліджень заготовляли в місцях природного зростання (екологічно чистий регіон Волинської області, Україна) у 2021 р. у період вегетації з урахуванням особливостей її заготівлі. Сушили повітряно-тіньовим способом, встановлювали доброякісність за основними вимогами ДФУ, подрібнювали до розміру частинок 3 мм [13].

Для досліджуваної сировини визначили вміст вологості, загальної золи та золи, нерозчинної у 10,0 % розчині кислоти хлористоводневої.

Вміст золи загальної визначали на п'яти серіях сировини за методикою ДФУ I видання, розділ 2.4.16. Визначення золи, нерозчинної у 10,0 % розчині кислоти хлористоводневої, виконували на п'ятьох серіях сировини за методикою Доповнення 2 ДФУ I видання, розділ 2.8.1 [13].

На наступному етапі отримували екстракти: екстракт *Caltha palustris*, екстракт *Ficaria verna*, екстракт *Ranunculus acris*, екстракт суміші

трав ЕС 1 (співвідношення трав *Caltha palustris*, *Ficaria verna* та *Ranunculus acris* 1:1:1 відповідно), екстракт суміші трав ЕС2 (співвідношення трав *Caltha palustris*, *Ficaria verna* та *Ranunculus acris* 2:1:1 відповідно) та екстракт суміші трав ЕС3 (співвідношення трав *Caltha palustris*, *Ficaria verna* та *Ranunculus acris* 2:2:1 відповідно). Екстракти отримували за допомогою мацератії. Як екстрагент для отримання вищезазначених екстрактів використовували 40 % та 70 % водно-етанольний розчин. Співвідношення сировини та екстрагента становило 1:10.

Для одержаних екстрактів визначено вміст екстрактивних речовин згідно з вимогами ДФУ [14].

Розробляючи складний екстракт, здійснювали підбір співвідношення екстрактів кожної окремої рослини: співвідношення екстрактів *Caltha palustris*, *Ficaria verna* та *Ranunculus acris* у складному екстракті 1:1:1 відповідно – EP1, співвідношення екстрактів *Caltha palustris*, *Ficaria verna* та *Ranunculus acris* у складному екстракті 2:1:1 відповідно – EP2 та співвідношення екстрактів *Caltha palustris*, *Ficaria verna* та *Ranunculus acris* у складному екстракті 2:2:1 відповідно – EP3.

Кількісний вміст фенолів та флавоноїдів дослідили для усіх складних екстрактів (ЕС 1, ЕС 2, ЕС 3, EP 1, EP 2, EP 3).

Визначення фенолів здійснювали за допомогою спектрофотометричного аналізу за модифікованим методом Фоліна – Чокальтеу. До 0,1 мл досліджуваного розчину додавали 0,1 мл реактиву Фоліна, 1,5 мл дистильованої води та 0,3 мл 20 % розчину Na_2CO_3 , розведеного у співвідношенні 1:10. Витримували 150 хв у темному місці.

Оптичну густину отриманого розчину вимірювали за 760 нм. Перерахунок виконували на галову кислоту відповідно до калібрувальної кривої, побудованої в подібних умовах, замінюючи розчином галової кислоти, що використовується як стандарт. Для вірогідності даних вимірювання виконали тричі [15].

Кількісний вміст флавоноїдів визначали модифікованим спектрофотометричним методом за допомогою реакції комплексоутворення флавоноїдів із AlCl_3 . Для цього приготували 5 % розчин NaNO_2 , 0,1 М розчин гідроксиду натрію NaOH та 10 % розчин AlCl_3 . 0,2 мл дослід-

жуваного екстракту поміщали в пробірку і розчиняли в 0,8 мл етилового спирту. Додавали 0,06 мл 5 % розчину нітриту натрію та перемішували. Після цього пробірку витримували 5 хв. Додавали 0,06 мл 10 % розчину хлориду алюмінію і витримували 5 хв до завершення реакції. Потім додавали 0,4 мл 0,1 М розчину гідроксиду натрію та 0,480 мл етилового спирту. Після цього пробірку витримували 5 хв у темному місці.

Вимірювання проводили на довжині хвилі 510 нм. Для калібрування було побудовано стандартну криву із використанням розчину кверцетину як стандарту, а вміст флавоноїдів визначали в перерахунку на кверцетин. Для точності даних вимірювання виконали тричі [16].

Результати та їх обговорення

Вивчення умов одержання складного екстракту на основі лікарських рослин *Ficaria verna*, *Caltha palustris* та *Ranunculus acris* родини Жовтецеві та розроблення його складу передбачало кілька етапів. На першому етапі здійснили заготовлю сировини.

Caltha palustris – багаторічна рослина, яка росте у вологих болотистих місцях. У медичних цілях використовують всю надземну частину рослини, яку збирають весною під час цвітіння.

Ficaria verna – поширена рослина в Україні та у світі. Росте в сирих і вогуватих місцях, не-

рідко уздовж водотоків, у заростях чагарників. Для виготовлення ліків використовують надземну частину (траву) або всю рослину (траву разом із корінням).

Ranunculus acris – багаторічна трав'яниста рослина, яка поширена в більшій частині Європи, Азії та Північної Америки. Як лікарську рослину сировину використовують надземну частину (траву). Заготовляють сировину в період цвітіння рослини.

Встановлено показники доброякісності трави *Caltha palustris*, трави *Ficaria verna* та трави *Ranunculus acris*. Результати досліджень наведено в табл. 1.

Досліджувані показники доброякісності сировини відповідали вимогам ДФУ та були в межах чинних норм. Вологість зазначеної сировини не перевищувала 10,0 %. Вміст загальної золи для досліджуваної сировини не перевищував 10,0 %. Вміст золи, нерозчинної у 10,0 % розчині кислоти хлористоводневої, не перевищував 2,0 %. Результати свідчать, що досліджувана рослинна сировина є доброякісною та відповідає вимогам ДФУ, що уможливило її використання для подальших досліджень.

Для складних екстрактів (ЕС 1, ЕС 2, ЕС 3, ЕР1, ЕР2, ЕР3) досліджено вміст екстрактивних речовин. Одержані результати подано у табл. 2.

Таблиця 1

Показники доброякісності сировини

Об'єкт дослідження	Вологість, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n=3	Загальна зола $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n=3	Зола, нерозчинна у 10,0 % НСІ, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n=3
<i>Caltha palustris</i>	8,96±0,1	6,36±0,2	0,21±0,2
<i>Ficaria verna</i>	7,85±0,2	7,21±0,2	0,29±0,2
<i>Ranunculus acris</i>	8,26±0,1	6,88±0,2	0,31±0,1

Таблиця 2

Показники кількості екстрактивних речовин у досліджуваних екстрактах

Складний екстракт	Екстрагент, %	Вміст екстрактивних речовин, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n=3
ЕС1	40	9,58±0,01
	70	8,96±0,01
ЕС2	40	8,74±0,01
	70	8,01±0,01
ЕС3	40	9,32±0,01
	70	8,82±0,01
ЕР1	40	10,32±0,01
	70	9,86±0,01
ЕР2	40	10,56±0,01
	70	9,98±0,01
ЕР3	40	10,85±0,01
	70	10,07±0,01

Кількісні показники вмісту екстрактивних речовин для 40 % екстрактів вищі порівняно з результатами для 70 % екстрактів. Зазначимо, що результати визначення вмісту екстрактивних речовин у екстрактах, отриманих методом зливання окремих екстрактів кожної рослини, кращі, ніж результати екстракту, одержаного з суміші рослинної сировини. Дослідження вмісту екстрактивних речовин є важливим показником під час визначення оптимальних параметрів екстракції біологічно активних речовин.

Визначали загальний вміст фенольних сполук у досліджуваних екстрактах. Фенольні сполуки – група біологічно активних сполук, об'єднаних наявністю у молекулі ароматичного кільця з гідроксильною або фенольною групою, спектр фармакологічної активності яких широкий. Результат дослідження виражали в мг галової кислоти на г рослинної сировини.

Визначали загальний вміст флавоноїдів, які є похідними фенольних сполук. Результат виражали в мг кверцетину на г рослинної сировини. Результати подано в табл. 3 та табл. 4.

Як видно з отриманих результатів, вміст фенолів та флавоноїдів вищий у екстрактах, отриманих мацерацією 70 % водно-етанольної суміші для всіх співвідношень лікарської рослин-

ної сировини. Найвищий показник фенолів 36,714 мг галової к-ти/г та флавоноїдів 22,021 мг кверцетину/г у 70 % екстракті ЕС3 зі співвідношенням сировини 2:2:1.

Кількість фенолів у досліджуваних екстрактах виражали в мг галової кислоти на г рослинної сировини, а кількість флавоноїдів – в мг кверцетину на г рослинної сировини. Визначення виконували тричі.

Згідно з отриманими результатами, вміст фенолів та флавоноїдів вищий у складних екстрактах, отриманих з об'єднаних 70 % простих екстрактів у відповідних пропорціях. Найвищий показник фенолів 61,689 мг галової к-ти/г та флавоноїдів 29,985 мг кверцетину/г у 70 % екстракті ЕР 3 зі співвідношенням екстрактів 2:2:1.

Високий вміст фенольних сполук у рослинах дає змогу використовувати їх для виготовлення субстанцій із потенційною антиоксидантною дією, оскільки багато фенольних сполук можуть бути донорами атома гідрогену, зупиняючи ланцюг окисних реакцій.

Спектр дії флавоноїдів на організм людини також широкий. Вони мають спазмолітичну, діуретичну, радіопротекторну дію, а також можуть впливати на серцеві ритми.

Таблиця 3

Загальний вміст фенольних сполук та флавоноїдів у екстрактах ЕС1,ЕС2,ЕС3

Співвідношення ЛРС	Екстрагент, %	Феноли (мг галової к-ти/г) n = 3	Флавоноїди (мг кверцетину/г) n = 3
ЕС1	40	18,026±0,01	9,326±0,01
	70	34,905±0,01	19,235±0,01
ЕС2	40	19,395±0,01	11,032±0,01
	70	36,101±0,01	21,014±0,01
ЕС3	40	20,127±0,01	12,365±0,01
	70	36,714±0,01	22,021±0,01

Таблиця 4

Загальний вміст фенольних сполук та флавоноїдів в екстрактах ЕР1,ЕР2,ЕР3

Складний екстракт	Екстрагент, %	Феноли (мг галової к-ти/г) n = 3	Флавоноїди (мг кверцетину/г) n = 3
ЕР 1	40	31,452±0,01	13,269±0,01
	70	60,012±0,01	28,698±0,01
ЕР 2	40	33,215±0,01	14,259±0,01
	70	61,325±0,01	28,421±0,01
ЕР 3	40	32,159±0,01	13,958±0,01
	70	61,689±0,01	29,985±0,01

У результаті досліджень встановлено, що кількісний вміст фенолів та флавоноїдів вищий у екстрактах, отриманих зливанням окремих екстрактів кожної рослини, ніж у одержаних екстрагуванням суміші трав. Отже, відповідно до одержаних результатів визначено окремі аспекти (вміст екстрактивних речовин, фенольних сполук та флавоноїдів), врахувавши які, можна отримати складний екстракт зі значним вмістом біологічно активних речовин. Це дасть змогу продовжити дослідження у цьому напрямі, зокрема щодо вивчення фармакологічних властивостей одержаного складного екстракту та розроблення на його основі лікарських субстанцій.

Висновки

Дослідження спрямоване на розроблення складу та визначення умов отримання складного екстракту із рослинної сировини представників родини Жовтецеві (*Ranunculaceae* L.), а саме *Caltha palustris*, *Ficaria verna* та *Ranunculus acris*. Для рослинної сировини *Caltha palustris*, *Ficaria verna* та *Ranunculus acris* встановлено показники доброякісності: вологість, вміст загальної золи та золи, нерозчинної в НСІ.

Досліджено вміст екстрактивних речовин у складних екстрактах. Визначено кількісний вміст фенолів та флавоноїдів у складних екстрактах. Найбільше фенолів та флавоноїдів виявлено у 70 % етанольних складних екстрактах.

Встановлено, що у складних екстрактах, отриманих методом об'єднання окремих екстрактів трав *Caltha palustris*, *Ficaria verna* та *Ranunculus acris*, кількісний вміст фенолів та флавоноїдів вищий, ніж у екстрактах, одержаних методом мацерації суміші трав. Найвищий вміст фенолів і флавоноїдів був у складному екстракті, отриманому об'єднанням екстрактів трав *Caltha palustris*, *Ficaria verna* та *Ranunculus acris* у співвідношенні 2:2:1. Результати досліджень можна використовувати для розроблення фармакопейних статей про лікарську рослинну сировину *Caltha palustris*, *Ficaria verna* та *Ranunculus acris*.

References

1. Kharchenko, T. A. (2012). Narodni ta netradytsiyni metody likuvannya: mif chy real'nist'? *Ukrayins'kyy medychnyy zhurnal*, 1–3. Otrymano z: <https://www.umj.com.ua/article/29431/narodni-ta-netradicijni-metodi-likuvannya-mif-chi-realnist> (in Ukrainian).

2. Kryvosheeva, Ye. M., Fefelova, Ye. V., Kokhan, S. T. (2011). Spektr farmakolohichnoyi aktyvnosti roslynykh adaptoheniv. *Fundamental'nye yssledovanyya*, 6, 85–89 (in Ukrainian).

3. Sambukova, T. V., Ovchynnykov, B. V., Hana-pol's'kyy, V. P. i dr. (2017). Perspektyvy vykorystannya fitopreparativ v suchasniy farmakolohiyi. *Farmakolohiya*, 2, 56–63 (in Ukrainian).

4. Nykolaeva, Y. H. (2012). Rozrobka i standartyzatsiya zasobiv roslynnoho pokhodzhennya, shcho volodiyut' adaptovannoyu aktyvnisty: avtoref. dys. dok. farm. nauk: 14.04.02. Ulan-Ude, 48 s. (in Ukrainian).

5. Ernst, E. J. (2009). *Informing the public responsibly about herbal medicine*. *Diet Suppl.*, 6(1), 9–12.

6. Lukyanchuk, A. V., Khropot, O. S., Konechna, R. T., Kurka, M. S., Novikov, V. P., Yasitska-Misyak, I., Vechorek, P. P. (2017). Doslidzhennya vmistu fenol'nykh spolk Anemona nemorosa. *Suchasni dosyahnennya farmatsevychnoyi tekhnolohiyi ta biotekhnolohiyi. zb. nauk. pr. Vyp. 3*. Ksarkiv: Vyd-vo NFaU (in Ukrainian).

7. Lyakh, V. R., Konechna, R. T. (2020). Prykladni aspekty zastosuvannya likars'kykh roslyn rodyny Ranunculaceae v etnomedytsyni ta farmatsiyi. *Challenges and achievements of medical science and education*, s. 203–217. Publishing House “Baltija Publishing” (in Ukrainian).

8. Shanayda, M. I. (2019). Vmist karbonovykh kyslot u nasinni *Nigella sativa* ta *N. damascena*. *Ukrayins'kyy biofarmatsevychnyy zhurnal*, No. 3 (60), 71–76. DOI: 10.24959/ubphj.19.229 (in Ukrainian).

9. Khan, F. A., Zahoor, M., Khan, E. (March, 2016). Chemical and biological evaluation of *Ranunculus muricatus*. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 29(2), 503–510.

10. Lyakh, V., Konechna, R., Mylyanych, A., Zhurakhivs'ka, L., Hubyts'ka, I., Novikov, V. (2020). *Caltha palustris*. Analytical overview. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 2 (24), 51–56. DOI: 10.15587/2519-4852.2020.201616.

11. Lyakh, V. R., Yuz'kiv, S. L., Zhurakhivs'ka, L. R., Konechna, R. T., Konechnyy, Yu. T. (2020). *Ficaria verna*. Analychnyy ohlyad. *Fitoterapiya. Chasopys*, 4, 40–46 (in Ukrainian).

12. Karpyuk, V. R., Yuz'kiv, S. L., Zhurakhivs'ka, L. R., Konechna, R. T., Konechnyy, Yu. T. (2021). Zhovtets' yidkyy *Ranunculus acris* L. analychnyy ohlyad poshyrennya, khimichnoho skladu, biolohichnoyi aktyvnosti ta medychnoho zastosuvannya. *Farmatsevychnyy zhurnal*, 3 (59), 74–82. DOI: 10.11603/2312-0967.2021.3.12476 (in Ukrainian).

13. Derzhavna Farmakopeya Ukrayiny / Derzhavne pidpryyemstvo “Naukovo-ekspertnyy farmakopeynyy tsentr”. 1-e vyd. Kharkiv: RIREH, 2001. 556 s. (in Ukrainian).

14. Derzhavna Farmakopeya Ukrayiny. Dopovnennya 1 / Derzhavne pidpriumstvo "Ukrayins'kyi naukovyy tsentr yakosti likars'kykh zasobiv". 1-e vyd. Kharkiv: Derzhavne pidpriumstvo "Ukrayins'kyi naukovyy tsentr yakosti likars'kykh zasobiv", 2009. 620 s. (in Ukrainian).

15. Efstathia Skotti, Eirini Anastasaki, Kanellou Georgia, Moschos Polissiou, Petros A. Tarantilis (2014). Total phenolic content, antioxidant activity and toxicity of aqueous extracts from selected Greek medicinal and

aromatic plants. *Industrial Crops and Products*, 53, 46–54. DOI: 10.1016/j.indcrop.2013.12.013.

16. Quy Diem Do, Artik Elisa Angkawijaya, Phuong Lan Tran-Nguyen, Lien Huong Huynh, Felycia Edi Soetaredjo, Suryadi Ismadji, Yi-Hsu Ju. (2014). 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.

V. R. Karpiuk

Lviv Polytechnic National University,
Department of Technology of Biologically Active Substances, Pharmacy and Biotechnology

RESEARCH ON THE DEVELOPMENT OF A COMPLEX EXTRACT BASED ON PLANTS OF THE RANUNCULACEAE FAMILY

The results of research on the development of a complex extract based on medicinal plants of the *Ranunculaceae* L family, namely: herbs *Caltha palustris*, *Ficaria verna*, *Ranunculus acris*. The qualitative indicators of raw materials are established and the content of extractive substances in complex extracts is determined. According to the results of the study, the quantitative content of phenolic compounds and flavonoids obtained in complex extracts by combining monoextracts of test plants obtained by maceration, the content of phenols and flavonoids in bones was higher than in extracts obtained by maceration of herbal mixtures. The extractant (70 % ethanol) used to obtain extracts with the highest content of phenols and flavonoids was determined.

Key words: *Caltha palustris*; *Ficaria verna*; *Ranunculus acris*; complex extract; extractives; phenols; flavonoids.