

І. І. Губицька, Л. Д. Болібрux, А. О. Милянч, Р. Т. Конечна

Національний університет "Львівська політехніка",  
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології  
roksolana.t.konechna@lpnu.ua

## ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ТРАВИ ПАРИЛА ЗВИЧАЙНОГО

<https://doi.org/10.23939/ctas2022.02.106>

Наведено результати дослідження вмісту біологічно активних речовин у траві парила звичайного. Здійснено дослідження доброякісності та визначення якісного і кількісного вмісту біологічно активних речовин у траві парила звичайного. Досліджено якісний вміст сапонінів, флавоноїдів, дубильних речовин, органічних кислот, вітамінів та встановлено кількісний вміст сапонінів і флавоноїдів. Виконано дослідження з вивчення антиоксидантної активності водно-етанольного екстракту трави парила звичайного.

**Ключові слова:** парило звичайне; екстракт; сапоніни; флавоноїди; антиоксидантна дія.

### Вступ

Парило звичайне, *Agrimonia eupatoria* – багаторічна трав'яниста рослина родини розових *Rosaceae*, що поширена по всій території України, зокрема на рівнинах, гірських схилах, луках, берегах річок, струмків, у чагарниках, на узліссях листяних, горіхових лісів. Цвіте у червні – серпні.

Рослина містять цінні біологічно активні речовини: дубильні речовини конденсованої природи виявлено у всіх частинах рослини; три-терпеноїди – урсолова та гідроксиурсолова кислоти, каротиноїди містяться у листках; альфа-токоферол, фенолкарбонові кислоти (гомопрокатехова, прокатехова, гентизинова, п-гідроксибензойна, п-кумарова, ванілінова, ферулова, саліцилова, кавова, хлорогенова, елагова), проціанідини (В1, В2, В3, В6, В7, С1, С2), азотовмісні сполуки (холін, нікотинова кислота), органічні кислоти: (лимонна, яблучна, щавелева, винна, хінна); вищі аліфатичні спирти та їх ефіри (цериловий спирт, пальмітат і стеарат церилового спирту), жирні кислоти (масляна, пальмітинова, стеаринова, лінолева, ліноленова), вуглеводи (глюкоза, фруктоза, цукроза, галактоза, арабіноза, рамноза, ксилоза, рибоза), сліди алкалоїдів та значна кількість кремнієвої кислоти у надземній частині рослини. Проте зауважимо, що вміст флавоноїдів та сапонінів вивчено ще недо-

статньо, тому доцільно дослідити вміст зазначених сполук [1–4].

Траву парила звичайного (*Herba Agrimoniae*) використовують як лікарську рослину сировину, яку заготовляють під час цвітіння рослини. Зрізують верхівки стебел завдовжки 30–40 см, а з нижніх здерев'янілих частин стебел обривають лише листя. Зібрану сировину сушать на свіжому повітрі в тіні або у добре провітрюваному приміщенні, розкладаючи тонким шаром. Трава парила звичайного має антибактеріальні та антигельмінтні властивості. Підземну частину використовують як в'язучий, тонізуючий та діуретичний засіб. Застосовують у зборах для лікування захворювань печінки і жовчного міхура, нирковокам'яної хвороби. Зовнішньо настій трави парила звичайного вживають при запальних процесах порожнини рота і верхніх дихальних шляхів, для лікування ран, пролежнів і виразок, фурункулів і дерматитів, для припинення паренхіматозних кровотеч, при геморої. Водний екстракт трави застосовують як антивірусний засіб щодо вірусу грипу, герпесу, аденовірусу, вірусу гепатиту В [5–8].

Галенові препарати на основі парила звичайного виявляють в'язучу й сечогінну дію, збуджуючи апетит і рефлекторно посилюючи секрецію травних залоз, сприяють нормалізації обміну речовин, виявляють кровоспинні й жовчогінні

властивості. Рекомендують вживати для лікування захворювань печінки і жовчного міхура – в комплексі з іншими жовчогінними засобами рослинного походження, а також як шлунковий засіб і антидот при алкалоїдних отруєннях та при діареї.

Нині актуальним завданням фармацевтичної науки є розширення асортименту лікарських рослин, що застосовують для лікування жирового гепатозу, зокрема, які гальмують синтез холестерину, тригліцеридів та підвищують їх утилізацію. Доцільно розглянути парило звичайне як потенційну лікарську рослину для використання із зазначеною метою. Завдяки наявним у рослинній сировині стероїдним сапонінам та органічним кислотам рослина виявляє комплексну дію на печінку та є перспективною сировиною для створення на її основі фітопрепаратів.

**Метою дослідження** було вивчити якісний та кількісний вміст біологічно активних речовин (сапонінів, флавоноїдів, дубильних речовин, органічних кислот, вітамінів) у траві парила звичайного, одержати водно-етанольний екстракт та дослідити його антиоксидантні властивості.

#### **Матеріали та методи досліджень**

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

Щоб встановити якість сировини, визначали основні кількісні показники якості сировини: “Втрата в масі при висушуванні”, “Загальна зола”, відповідно до вимог статей Державної фармакопеї України (ДФУ) [9].

Технологічні параметри рослинної сировини: питома маса, об’ємна маса, насипна маса, пористість, порозність, вільний об’єм шару сировини, коефіцієнт водопоглинання досліджували за загальновідомими методиками [10, 11].

Екстракт рідкий трави парила звичайного одержували методом мацерації із застосуванням ультразвуку, як екстрагент використовували 40 % водно-етанольний розчин, час екстрагування – 30 хв, співвідношення сировина:екстрагент становило 1:10. Джерелом ультразвуку слугувала

ультразвукова ванна Jeken (Codyson) CE-5600A із частотою ультразвукових хвиль 42000 Гц.

Якісний аналіз вмісту біологічно активних речовин виконували із застосуванням відповідних для кожної групи речовин якісних реакцій. Наявність сапонінів виявляли за допомогою: проби на спінювання; реакції осадження із баритовою водою; реакції осадження з 10 % розчином основного свинцю ацетату та кольорових реакцій: Сальковського, Лафона, із солями міді (10 % розчину солі), із сульфатною кислотою. Якісний вміст флавоноїдів визначали за реакціями: ціанідиною; реакцією з лугом (10 % спиртово-водним розчином калію (натрію) гідроксиду); із заліза III хлоридом; зі свинцю ацетатом [6]. Наявність дубильних речовин визначали за допомогою: реакції із розчином свинцю ацетату; реакції із залізоамонієвими галунами; реакції із желатином; реакції з бромною водою [7]. Якісний вміст вітаміну РР визначали за допомогою реакції із розчином ціаноброміду і аніліном, реакції з натрію ацетатом і міді сульфатом, реакції з розчином міді сульфату й амонію тіоціанату [9].

Якісний аналіз вмісту органічних кислот встановлювали за допомогою методу тонкошарової хроматографії. Близько 0,5 г подрібненої сировини поміщали у колбу, додавали 5 мл води очищеної, перемішували, настоювали протягом 15 хв і фільтрували. Для аналізу використовували пластинки “Силуфол” та зразки “свідків” – аскорбінову кислоту, лимонну кислоту, винну кислоту. Пластинку поміщали у камеру із системою розчинників (етилацетат : льодова оцтова кислота – 8 : 2). Після хроматографування пластинку висушували та обприскували 0,04 % розчином натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту у воді. Одержані результати аналізували.

Кількісне визначення вмісту сапонінів у траві парила звичайного виконували спектрофотометричним методом. Аналітичну пробу сировини подрібнювали до розміру частинок, які здатні проходити крізь сито із діаметром отворів 1 мм. 0,5 г (точну наважку) подрібненої сировини насипали у патрон з фільтрувального паперу і розміщували в екстракторі апарата Сокслета, екстрагували хлороформом упродовж 2 год. Хлороформний витяг відділяли, патрон із сировиною висушували. Сировину разом з патроном поміщали в круглодонну колбу місткістю 100 мл, до-

ливали 50 мл 90 % спирту етилового і нагрівали зі зворотним холодильником на киплячій водяній бані впродовж 1 год. Витяг фільтрували в колбу місткістю 200 мл, залишок на фільтрі двічі промивали 90 % етанолом, витяг об'єднували з етанолом і повністю відганяли розчинник в умовах вакууму. Одержаний залишок розчиняли в 20 мл 96 % етанолу, нагріваючи. Охолоджували та переносили в колбу місткістю 50 мл, доводили до мітки 96 % етанолом. 2 мл одержаного розчину поміщали в конічну колбу місткістю 50 мл, обережно краплями додавали 8 мл концентрованої сульфатної кислоти і перемішували.

Через 30 хв вимірювали оптичну густину одержаного розчину на спектрофотометрі Hitachi U-2810 із довжиною хвилі 405 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи для порівняння суміш, яка складається із 2 мл 96 % спирту етилового і 8 мл концентрованої сульфатної кислоти.

Паралельно вимірювали оптичну густину фармакопейного стандартного зразка (ФСЗ) есцину.

Вміст суми сапонінів  $X$  у 1 г сировини в перерахунку на есцин розраховували за формулою:

$$X = \frac{D \times m_0 \times 50 \times 10 \times 6 \times 2 \times 100 \times 100}{D_0 \times m \times 1 \times 2 \times 100 \times 25 \times 6 \times 100 \times (100 - W)} = \frac{D \times m_0 \times 20}{D_0 \times m \times (100 - W)} \times 100 \%,$$

де  $D$  – оптична густина досліджуваного зразка;  $D_0$  – оптична густина ФСЗ есцину;  $m$  – маса сировини, г;  $m_0$  – маса ФСЗ есцину, г;  $W$  – втрата в масі під час висушування, %.

ФСЗ розчину есцину готували так: 0,05 г (точну наважку) есцину, висушеного до постійної маси, розчиняли в мірній колбі місткістю 100 мл у 50–70 мл льодяної оцтової кислоти і доводили об'єм розчину кислотою до мітки. Відбирали 6 мл приготованого розчину в мірну колбу місткістю 25 мл і доводили об'єм розчину льодяною оцтовою кислотою до мітки. В пробірку поміщали 2 мл отриманого розчину, 2 мл 0,2 % розчину хлориду кобальту і 2 мл концентрованої сульфатної кислоти, закривали фольгою і використовували для проведення дослідження [9].

Кількісний вміст флавоноїдів визначали спектрофотометричним модифікованим методом із використанням реакції комплексоутворення з  $AlCl_3$ . На першому етапі дослідження готували розчини – 0,1 М розчин  $NaOH$ , 5 % розчин

$NaNO_2$  та 10 % розчин  $AlCl_3$ . Далі до 0,2 мл одержаного екстракту парила звичайного додавали 0,8 мл етилового спирту та 0,06 мл 5 % розчину  $NaNO_2$  та перемішували. Одержану суміш витримували 5 хв за кімнатної температури. Після цього додавали 0,06 мл 10 % розчину  $AlCl_3$  і витримували 5 хв до завершення реакції. Потім додавали 0,4 мл 0,1 М розчину  $NaOH$  та 0,480 мл етилового спирту. Відтак пробірку витримували 5 хв у темному місці. Одержаний розчин використовували для подальших досліджень.

Вимірювання виконували на спектрофотометрі Hitachi U-2810 за довжини хвилі 510 нм. Вміст флавоноїдів визначали в перерахунку на кверцетин. З метою калібрування побудували стандартну криву з використанням розчину кверцетину як стандарту. Для точності даних вимірювання виконували тричі [12–14].

Антиоксидантну активність визначали із використанням радикала – катіон-радикала АБТС (2,2'-азино-біс-(3-етилбензтіазолін-6-сульфофосфори) та ДФПГ (2,2-дифеніл-1-пікрилгідразил).

Ефект поглинання вільних радикалів екстракту парила звичайного визначали за допомогою аналізу знебарвлення катіон-радикала АБТС. Базовий 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. У результаті одержали катіон-радикал АБТС (АБТС\*). Після цього готували розведений розчин АБТС\* (Аcontrol) – 1 мл розчину розводили до 100 мл водою. Досліджуваний екстракт парила звичайного змішували із розведеним розчином АБТС\* (Аsample) та вимірювали коефіцієнт поглинання.

Дослідження виконували на спектрофотометрі Hitachi U-2810 за довжини хвилі 734 нм. Усі вимірювання здійснювали тричі. Відсоток інгібування поглинання розраховували, використовуючи наведене вище рівняння [13–16]. Радикалпоглинальний ефект обчислювали у відсотках для досліджуваного екстракту порівняно з еталоном – розчином аскорбінової кислоти та розчином кверцетину в етанолі концентрацією 1 мг/мл.

Дослідження антиоксидантної дії здійснено за допомогою модифікованого методу. На першому етапі дослідження одержували свіжоприго-

товлений 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:

$$\% \text{ інгібування} = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{control}}} \times 100 \%,$$

де  $A_{\text{control}}$  – оптична густина вихідного розчину ДФПГ,  $A_{\text{sample}}$  – оптична густина зразка з розчином ДФПГ. Виконано трикратне вимірювання [13–16].

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

#### Результати досліджень та їх обговорення

На першому етапі досліджень встановлено основні кількісні показники якості та технологіч-

гічні параметри рослинної сировини парила звичайного. Одержані результати наведено в табл. 1 та табл. 2.

Наступним етапом було дослідження із визначення якісного вмісту біологічно активних речовин. Позитивні результати проведених реакцій свідчать про наявність сапонінів, флавоноїдів, дубильних речовин, органічних кислот, вітамінів у досліджуваній рослинній сировині.

Результат кількісного визначення сапонінів та флавоноїдів у досліджуваній сировині наведено в табл. 3.

Результати дослідження якісного та кількісного вмісту біологічно активних речовин свідчать про наявність у досліджуваній сировині біологічно активних сполук та їх значний вміст, що дає змогу застосовувати рослину як сировину під час розроблення фітозасобів.

На наступному етапі дослідження визначали властивості поглинання вільних радикалів екстракту парила звичайного за допомогою катіон-радикала АБТС та ДПФГ катіонного аналізу. Результати антиоксидантної активності екстракту парила звичайного відображено на діаграмі (див. рисунок) порівняно з активністю антиоксидантів: вітаміну С та кверцетину.

Таблиця 1

#### Результати дослідження кількісних показників якості 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 % HCl, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , $n=3$	Втрата в масі під час висушування
трава парила звичайного	8,43 $\pm$ 0.12	6,52 $\pm$ 0.17	0,22 $\pm$ 0.33	9.34 $\pm$ 0.22

Таблиця 2

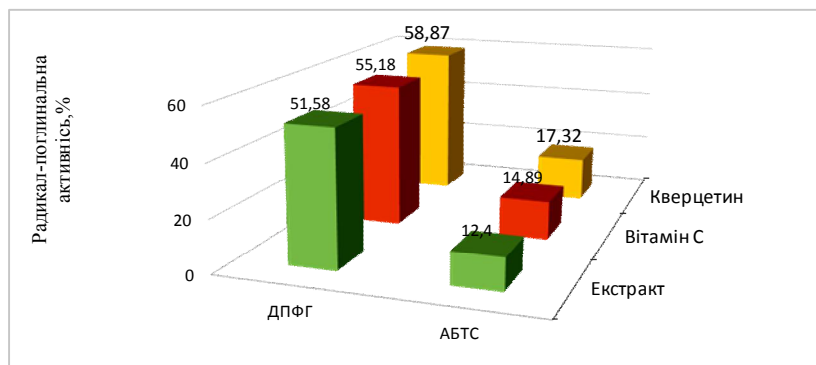
#### Технологічні параметри вихідної ЛРС та рослинного збору ( $n = 5$ )

Об'єкт дослідження	Питома маса, г/см <sup>3</sup>	Об'ємна маса, г/см <sup>3</sup>	Насипна маса, г/см <sup>3</sup>	Пористість, г/см <sup>3</sup>	Пороз- ність	Вільний об'єм шару сировини, г/см <sup>3</sup>	Коефіцієнт водо- поглинання, мл/г
трава парила звичайного	1,271 $\pm$ 0,01	0,506 $\pm$ 0,13	0,128 $\pm$ 0,02	0,58	0,68	0,88	2,11 $\pm$ 0,24

Таблиця 3

#### Результати дослідження кількісних показників вмісту сапонінів і флавоноїдів

Об'єкт дослідження	Сапоніни, % $n=3$	Флавоноїди (мг кверцетину/г) $n=3$
екстракт трави парила звичайного	5,7	8,622 $\pm$ 0,04



Активність екстракту парила звичайного щодо поглинання радикалів АБТС та ДПФГ

У результаті досліджень встановлено, що антиоксидантна активність екстракту парила звичайного фактично рівноцінна антиоксидантній активності відомих антиоксидантів: кверцетину та вітаміну С, що свідчить про можливість використання екстрактів парила звичайного під час розроблення складу нових засобів із антиоксидантною дією.

### Висновки

Дослідження біологічно активних речовин трави парила звичайного спрямоване на вивчення якісного та кількісного вмісту сапонінів, флавоноїдів, дубильних речовин, органічних кислот та вітамінів. Для рослинної сировини парила звичайного, а саме трави, встановлено показники якості та технологічні параметри. З'ясовано кількісний вміст сапонінів (5,7 %) та флавоноїдів (8,622 мг/г) спектрофотометричним методом.

Здійснено визначення антиоксидантної активності екстракту із використанням радикала – катіон-радикала АБТС та ДПФГ. Встановлено, що екстракт виявляє антиоксидантну активність та є потенційно перспективним для розроблення нових антиоксидантних засобів, проте доцільно вести подальші дослідження. Наступним етапом наших досліджень є вивчення компонентного складу екстракту парила звичайного та дослідження антимікробної дії його екстрактів.

### References

1. AL-Snafi, Ali Esmail (2015). The pharmacological and therapeutic importance of Agrimonia eupatoria-A review. *Asian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 5.2: 112–117.

2. Correia, Helena, et al. (2006). Polyphenolic profile characterization of Agrimonia eupatoria L. by HPLC with different detection devices. *Biomedical Chromatography*, 20.1: 88–94.
3. Huz'o, N. M.; Koval's'ka, N. P.; Hrytsyk, A. R. (2019). Doslidzhennya dubyl'nykh rehovyn paryla zvychaynoho. *Medychna ta klinichna khimiya*, 21, No. 3: 97–103.
4. Huz'o, N. M.; Hrytsyk, A. R. (2013). Khromato-mas-spektrometrychne doslidzhennya letkykh spolkuk paryla zvychaynoho (Agrimonia eupatoria L.). *Farmatsevychnyy zhurnal*, 6: 78–83.
5. Ad'hiah, Ali H.; Al-Bederi, Orooba NH; Al-Sammarræ, Khulood W. (2013). Cytotoxic effects of Agrimonia eupatoria L. against cancer cell lines in vitro. *Journal of the association of Arab Universities for basic and applied sciences*, 14.1: 87–92.
6. Huz'o, N. M.; Hrytsyk, A. R.; Uhryn, O. M. (2011). Doslidzhennya hepatoprotektoynoyi diyi ekstraktiv travy paryla zvychaynoho pry hostromu urazhenni tetrakhlormetanom. *Ukrayins'kyy zhurnal klinichnoyi ta laboratornoyi medytsyny*, 6, No. 4: 166–168.
7. Paluch, Zoltan, et al. (2020). The therapeutic effects of Agrimonia eupatoria L. *Physiological Research*, 69.Suppl 4: S555.
8. Kwon, Dur Han, et al. (2005). Inhibition of hepatitis B virus by an aqueous extract of Agrimonia eupatoria L. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 19.4: 355–358.
9. Derzhavna Farmakopeya Ukrayiny: v 3 t. / DP "Ukrayins'kyy naukovyy farmakopeyny tsentr yakosti likars'kykh zasobiv". 2-e vyd. Kharkiv: Derzhavne pidpryyemstvo "Ukrayins'kyy naukovyy farmakopeyny tsentr yakosti likars'kykh zasobiv", 2014. T. 3. 732 s.
10. Harna, S. V., Vyetrov, P. P., Heorhiyants, V. A. (2012). Vzayemozvyazok osnovnykh tekhnolohichnykh parametriv roslynnoyi syrovyny. *Aktual'ni pytannya farmatsevychnoyi nauky ta praktyky*, No. 1 (8), S. 54–57.

11. Nasiruddin, A. F., Akalanka, D., Singh, G. N. (2014). Analytical techniques in quality evaluation of herbal drugs. *Asian Journal of Pharmaceutical research*, Vol. 4, No. 3, 112–117.
12. Quy Diem Do, Artik Elisa Angkawijaya, Phuong Lan Tran-Nguyen, Lien Huong Huynh, Felicia 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.
13. Karpiuk, V., Konechna, R. (2021). Total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity of *Ficaria verna*. *Scientific journal of Polonia university*, 229–234. doi.org/10.23856/4630
14. V. Katalinic, M. Milos, T. Kulisic, M. Jukic (March 2006). Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*. Vol. 94, Issue 4, 550–557. doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.004.
15. A. R. Skira, O. S. Yaremkevych, N. L. Zayarnyuk, M. S. Kurka (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>.
16. 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.

**I. I. Hubytska, L. D. Bolibrukh, A. O. Mylyanych, R. T. Konechna**

Lviv Polytechnic National University,

Department of Technology of Biologically Active Substances, Pharmacy and Biotechnology

#### **RESEARCH OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES HERB AGRIMONIA EUPATORIA**

The results of the study of the content of biologically active substances in the grass of the common steamer are presented. A study of the quality and determination of qualitative and quantitative content of biologically active substances in the grass of steamed common grass. The qualitative content of saponins, flavonoids, tannins, organic acids, vitamins was studied and the quantitative content of saponins and flavonoids was established. A study was conducted to study the antioxidant activity of water-ethanol extract of steamed grass.

**Key words:** steam; extract; saponins; flavonoids; antioxidant action.