

УДК 615.32:615.454.1:582.688.3

І. О. Количев, Т. О. Краснікова, А. Л. Загайко, О. М. Кошовий

Національний фармацевтичний університет

## ДОСЛІДЖЕННЯ ОРГАНІЧНИХ КИСЛОТ СПИРТОВОГО ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ ЧОРНИЦІ ЗВИЧАЙНОЇ

*Продовжуючи дослідження БАР листя чорниці звичайної та продуктів їх переробки, ми звернули увагу на те, що склад органічних кислот майже не вивчений. Тому метою роботи було дослідити органічні кислоти спиртового екстракту з листя чорниці звичайної. Дослідження складу органічних кислот проводили методом хромато-мас-спектрометрії після їх етерифікації. Аналіз метилових естерів кислот проводили з використанням хромато-мас-спектрометра 5973N/6890N MSD/DS Agilent Technologies (США). У спиртовому екстракті листя чорниці звичайної було виявлено 31 органічну кислоту та встановлено їх кількісний вміст. Домінуючими сполуками є олеїнова (23,28 %), пальмітинова (14,54 %), лінолева (18,87 %), ліноленова (24,01 %), стеаринова (5,53 %), лимонна (3,99 %) та леулінова кислоти (3,46 %). Листя чорниці звичайної є перспективною сировиною для подальшого фармакогностичного вивчення.*

Ключові слова: чорниця звичайна; листя; екстракт; органічні кислоти

### ВСТУП

Цукровий діабет – глобальна медико-соціальна проблема. У розвинутих країнах світу на цукровий діабет (ЦД) хворіє від 5 до 12 % населення, а за прогнозами рівень цього захворювання може збільшитися до 30-35 % [2].

Діабет II типу – захворювання, яке з часом прогресує, але раціональне та систематичне застосування цукрознижуючих синтетичних та фітопрепаратів дозволяє відстрочити використання інсуліну на строк до 10 років. Відомо, що при захворюванні на ЦД значну роль відіграє дієтотерапія, а лікарські рослини займають проміжну позицію між призначеннями дієтичної терапії та лікарськими засобами [1, 5].

У народній та науковій медицині у терапії ЦД використовують пагони та листя чорниці, які входять до складу цукрознижуючих зборів Арфазетин та Мірфазин, але на ринку України немає жодного галенового або новогаленового засобу на основі цієї сировини. Раніше ми повідомляли про якісне та кількісне хімічне визначення у листі та екстрактах з листя чорниці деяких класів БАР: простих фенолів, похідних гідроксикоричної кислоти, флавоноїдів, поліфенольних сполук [3, 4]. Продовжуючи дослідження БАР листя чорниці звичайної та продуктів їх переробки, ми звернули увагу на те, що склад органічних кислот майже не вивчений. Тому **метою** нашої роботи було дослідити якісний та кількісний склад органічних кислот чорниці звичайної.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводили наступним чином: до 0,50 мг сухого спиртового екстракту у віалі на 2 мл додавали внутрішній стандарт (50 мкг тридекану в гексані) і 1,0 мл метилуючого агента – 14 % хлористий метилен у метанолі Supelco № 3-3033. Суміш витримували у герметично закритій віалі впродовж 8 годин при 65 °С. За цей час з екстракту повністю екстрагується жирна олія і проходить переетерифікація жирних кислот. Реакційну суміш зливали з осаду і розбавляли 1 мл дистильованої води. Для отримання метилових естерів жирних кислот додавали 0,2 мл хлористого метилену, струшували протягом 1 години та піддавали хроматографуванню.

Введення проби 2 мкл до хроматографічної колонки проводили у режимі splitless (без розподілу потоку), що дозволяє ввести пробу без втрат на розділення і суттєво до 20 разів збільшити чутливість методу хроматографування. Швидкість введення проби – 1 мл/хв, термін – 0,2 хв.

Аналіз метилових естерів жирних кислот проводили з використанням хромато-мас-спектрометра 5973N/6890N MSD/DS Agilent Technologies (США).

Детектор мас-спектрометра – квадруполь, спосіб іонізації – електронний удар (EI), енергія іонізації – 70 еВ, для аналізу використовували режим реєстрації повного іонного струму. Для розподілу використовували капілярну колонку HP-INNOWAX (30 м × 250 мкм). Нерухома фаза – INNOWAX. Рухома фаза – гелій, швидкість потоку газу – 1 мл/хв. Температура нагрівача введення проби – 250 °С. Температура термостату програмується від 50 до 250 °С. Ідентифікацію метилових

Таблиця

**ВМІСТ ОРГАНІЧНИХ КИСЛОТ У СПИРТОВОМУ ЕКСТРАКТІ ЛИСТЯ ЧОРНИЦІ ЗВИЧАЙНОЇ**

№ п/п	Ідентифікована речовина	Вміст у %
1	Капронова кислота	0,03
2	Щавлева кислота	0,98
3	Малонова кислота	0,19
4	Фумарова кислота	0,02
5	Левулінова кислота	3,46
6	α-Фуранова кислота	0,04
7	Бурштинова кислота	0,12
8	Бензойна кислота	0,68
9	Фенілоцтова кислота	0,008
10	Саліцилова кислота	0,06
11	Лауринова кислота	0,08
12	3-Гідрокси-2-метилглутарова кислота	0,47
13	Міристинова кислота	0,12
14	Яблучна кислота	0,36
15	Азелаїнова кислота	0,27
16	Пальмітинова кислота	14,54
17	Пальмітолеїнова кислота	0,48
18	Лимонна кислота	3,99
19	Стеаринова кислота	5,53
20	Олеїнова кислота	23,28
21	Ліолева кислота	18,87
22	Ліноленова кислота	24,01
23	Ванілінова кислота	0,05
24	Арахінова кислота	1,15
25	Бегенова кислота	0,39
26	Трикозанова кислота	0,04
27	m-Оксибензойна кислота	0,04
28	p-Кумарова кислота	0,32
29	Гентизинова кислота	0,04
30	Тетракозанова кислота	0,2
31	Ферулова кислота	0,18

естерів кислот проводили на основі розрахунку еквівалентної довжини аліфатичного ланцюга (ECL); з використанням даних бібліотеки мас-спектрів NIST 05 і Willey 2007 з загальною кількістю спектрів більше 470000 у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS і NIST; також порівнювали час утримання з часом утримання стандартних сполук (Sigma).

**РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**

Вихід органічних кислот з листя чорниці звичайної становить 27339,5 мг/кг. Відносний вміст кислот розраховували у відсотках від їх загального вмісту (таблиця).

У спиртовому екстракті листя чорниці звичайної хромато-мас-спектрометричним методом було виявлено 31 органічну кислоту та встановлено їх кількісний вміст. Домінуючими сполуками є олеїнова (23,28 %), пальмітинова (14,54 %), ліолева (18,87 %), ліноленова (24,01 %), стеаринова (5,53 %), лимонна (3,99 %) та леулінова кислоти (3,46 %).

**ВИСНОВКИ**

Вивчено якісний склад та кількісний вміст органічних кислот спиртового екстракту листя чорниці звичайної. Всього було виявлено 31 речовину, серед яких домінуючими є олеїнова, пальмітинова, ліолева, ліноленова, стеаринова, лимонна та леулінова кислоти. Отримані дані вказують на перспективність подальшого вивчення даної групи біологічно активних речовин в об'єкті дослідження.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Єфімов А. С. Клінічна діабетологія / А. С. Єфімов, Н. А. Скробонська. – 1-е вид. – К.: Здоров'я, 1998. – С. 219-221, 320.
2. Клиническая эндокринология: [руководство] / Н. Т. Старкова. – Изд. 3-е, перераб. и доп. – С.Пб.: Питер, 2002. – С. 213-576 с.
3. Количев І. О. Дослідження фенольного складу рідкого спиртового екстракту листя чорниці звичайної / І. О. Количев, Т. О. Краснікова, О. М. Кошовий // 36. наук. праць співроб. НМАПО ім. П. Л. Шупика, 2015.
4. Колычев И. А. Исследование фенольного состава сухого экстракта из листьев черники обыкновенной / И. А. Колычев, Т. А. Красникова, О. Н. Кошевой // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: Сб. матер. IX Междунар. симпозиума. – М., 20-25 апреля 2015 г. / Отв. ред. Н. В. Загоскина. – М.: ИФР РАН, 2015. – С. 569-571.
5. Уоткінс Пітер Дж. Цукровий діабет = ABC of Diabetes / М. І. Балаболкін. – Ч. 2. – М.: Біном, 2006. – С. 15-134.

**УДК 615.32:615.454.1:582.688.3****И. А. Колычев, Т. А. Красникова, А. Л. Загайко, О. Н. Кошевой****ИССЛЕДОВАНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ СПИРТОВОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ЛИСТЬЕВ ЧЕРНИКИ ОБЫКНОВЕННОЙ**

Продолжая исследования БАР листьев черники обыкновенной и продуктов их переработки, мы обратили внимание на то, что состав органических кислот почти не изучен. Поэтому целью наших исследований было изучить органические кислоты спиртового экстракта из листьев черники обыкновенной. Исследование состава органических кислот проводили методом хромато-масс-спектрометрии после их этерификации. Анализ метиловых эфиров жирных кислот проводили с использованием хромато-масс-спектрометра 5973N/6890N MSD/DS Agilent Technologies (США). В спиртовом экстракте листьев черники обыкновенной хромато-масс-спектрометрическим методом было обнаружено 31 органическую кислоту и установлено их количественное содержание. Доминирующими соединениями являются олеиновая (23,28 %), пальмитиновая (14,54 %), линолевая (18,87 %), линоленовая (24,01 %), стеариновая (5,53 %), лимонная (3,99 %) и левулиновая кислоты (3,46 %). Листья черники обыкновенной являются перспективным сырьем для дальнейшего фармакогностического изучения.

**Ключевые слова:** черника обыкновенная; листья; экстракт; органические кислоты

**UDC 615.32:615.454.1:582.688.3****I. O. Kolychev, T. O. Krasnikova, A. L. Zagayko, O. M. Koshovyi****STUDY OF ORGANIC ACIDS IN THE ALCOHOLIC EXTRACT FROM BILBERRY LEAVES**

Continuing research of biological active substances in bilberry leaves and their products, we paid attention to the fact that the composition of organic acids hasn't virtually been studied. So, the purpose of our research was studies of organic acids in the alcoholic extract from bilberry leaves. Investigation of the organic acids composition were determined by gas chromatography-mass spectrometry after esterification. Analysis of fatty acid methyl esters was performed by using gas chromatography-mass spectrometer 5973N / 6890N MSD / DS Agilent Technologies (USA). 31 organic acid were found in the alcoholic extract of bilberry leaves by chromatography-mass spectrometry and were assayed their quantitative content. Dominant compounds are oleic acid (23.28 %), palmitic acid (14.54 %), linoleic acid (18.87 %), linolenic acid (24.01 %), stearic acid (5.53 %), citric acid (3.99 %), and levulinic acid (3.46 %). The leaves of bilberry is a promising raw material for further study.

**Key words:** blueberry; leaves; extract; organic acids

*Адреса для листування:*

61070, м. Харків, вул. Тимурівців, 31, кв. 69.

E-mail: koli4ev@mail.ru. Тел. 066-26-88-727.

Количев І. О.

Надійшла до редакції 04.11.2015 р.