

Р.М. ГРЕЧАНИК

Український державний лісотехнічний університет,
вул. Ген. Чупринки, 103, 79057, м. Львів

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ФЛАВОНОЇДІВ ЕКЗОМЕТАБОЛІТІВ БУКА ЛІСОВГО ТА ЯЛИЦІ БІЛОЇ

ключові слова: флавоноїди, хроматографічний аналіз

key words: flavonoides, chromatographic analysis

R.M. HRECHANYK

IDENTIFICATION OF FLAVONOIDES OF EXAMETNABOLITS BY BEECH EUROPEAN AND SILVER FIR

Ukrainian State University of Wood Technology

103 Chuprynyky str., Lviv, 79057, Ukraine

During the definition of chemical nature of exometabolites, we applied modificational method of thin-layer chromatography.

Природні флавоноїди є пігментами рослин жовтого кольору й мають властивості вітаміну Р, більшість з них належать до похідних флавону (фенілхромону) – флавоноїдів. Представниками флавоноїдів, що мають найбільшу Р-вітамінну активність, є гідроксильний флавіон кверцетин, глікозид кверцетину, рутин і флавоглікозид гесперидин. Основний ефект флавоноїдів для людського організму – сприяння зменшенню проникності та ламкості капілярів. Поряд з аскорбіновою кислотою вони беруть участь в окислювально-відновлювальних процесах [4, 5].

У наших роботах за допомогою спектрофотометричного методу зроблено кількісне визначення флавоноїдів із джерел екзоетаболітів досліджуваних рослин і виявлено, що найбільше флавоноїдів міститься в опаді бука лісового (0,57%) та опаді ялиці білої (0,12%) [1, 2, 3].

Тому, для найоб'єктивнішої ідентифікації флавоноїдів ми провели хроматографічний аналіз спиртової витяжки опадів ялиці білої та опадів бука лісового, де вміст флавоноїдів є найвищим. Було випробувано декілька систем з різними розчинниками та їх співвідношеннями, а саме: спирт Н-бутиловий – кислота оцтова льодяна – вода (30:5:10); етилацетат – кислота оцтова льодяна – вода (5:1:1); хлороформ – метанол – вода (80:20:3); бензол – кислота оцтова льодяна (5:2), а також хроматографічні плівки типу “Kieselgel 60 F₂₅₄, Merck” та “Silufol”. На підставі проведених досліджень, як оптимальну, було обрано систему розчинників: етилацетат – кислота оцтова льодяна – вода (5:1:1) і хроматографічну плівку типу “Kieselgel 60 F₂₅₄, Merck”. Процедура поля-

гала у хроматографуванні досліджуваних розчинів з наступним проявленням хроматограм 5% спиртовим розчином хлориду алюмінію та прогляданням в УФ-світлі за довжини хвилі 366 нм. Хроматографування в наведеній системі спиртових витяжок з опадку ялиці білої та бука лісового дозволило досягти чіткого розділення плям. У наведеній системі спиртової витяжки з опадку ялиці білої було виявлено дві основні плями, одна з яких ідентифікована як рутин, інша – неідентифікована з R_f 0,97, та наявність 4 плям з меншою інтенсивністю поглинання, R_f яких, відповідно: 0,25; 0,47; 0,54; 0,72. На хроматограмі спиртової витяжки з опадку бука лісового було виявлено 4 основні неідентифіковані плями з R_f близько 0,47; 0,54; 0,71; 0,97 та 2 плями з меншою інтенсивністю поглинання, одна з яких ідентифікована як ізосаліпурпозид, інша – неідентифікована з R_f 0,3.

На лінію старту хроматографічної пластинки типу “Kieselgel 60 F₂₅₄, Merck”, розміром 20x20 см, наносили смугами, розміром 15 мм, 35 мкл (8,5 мкг) спиртової витяжки з опадку ялиці білої; 30 мкл (17 мкг) розчину спиртової витяжки з опадку бука лісового, розведеної 1:1; по 10 мкл (5 мкг) розчину стандартного зразка речовини-свідка (СЗРС) рутину, приготованого для кількісного визначення, СЗРС кверцетину та СЗРС ізосаліпурпозиду. На одну смугу наносили по 10 мкл (5 мкг) розчину С3 рутину, розчину С3 кверцетину й розчину С3 ізосаліпурпозиду (суміш для перевірки придатності хроматографічної системи). Пластинку сушили на повітрі протягом 10 хв., поміщали в камеру з сумішшю розчинників: етилацетат – кислота оцтова льодяна – вода (5:1:1) і хроматографували висхідним способом. Коли фронт розчинників пройшов 12 см від лінії старту, пластинку виймали з камери, сушили на повітрі до зникнення запаху розчинників, обприскували 5% спиртовим розчином алюмінію хлориду, сушили 5 хв. у сушильній шафі за температури 100°C і проглядали в УФ світлі за довжини хвилі 366 нм.

Результати аналізу вважаються достовірними, якщо виконується вимога тесту “Перевірка придатності хроматографічної системи”.

У результаті експериментальних досліджень ми виявили, що серед спектру флавоноїдів, які входять до складу екзометаболітів опадку бука лісового та ялиці білої, присутні рутин, кверцетин, ізосаліпурпозид і невідомі речовини з R_f близько 0,25; 0,3; 0,47; 0,54; 0,71; 0,72; 0,97.

Примітки:

- Приготування СЗРС кверцетину. 0,05 г стандартного зразка кверцетину, атестованого Фармакопейним комітетом України, попередньо висушеного за температури 130°C-135°C протягом 3 год., вносили у мірну колбу, ємністю 100 мл, розчиняли в 70 мл 70% етилового

- спирту за нагрівання на водяній бані, охолоджували до кімнатної температури, доводили об'єм спиртом до мітки і перемішували.

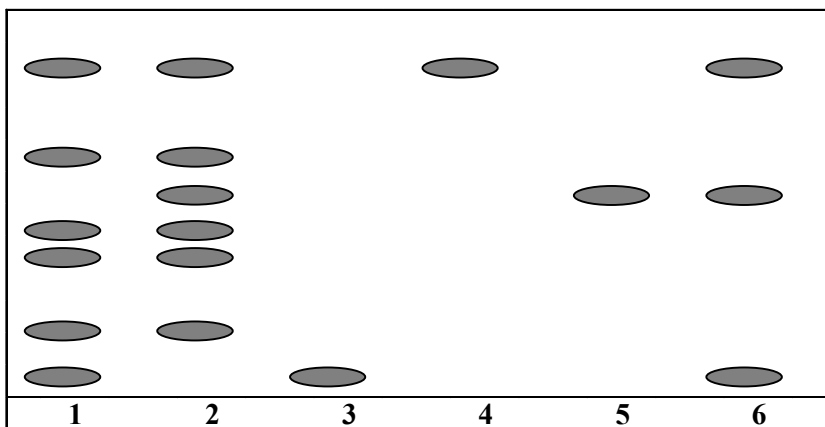


Рис. 1. Хроматограми спиртових витяжок опадку ялиці білої та опадку бука лісового.

- 1) спиртова витяжка опадку ялиці білої (8,5 мкг);
- 2) розчин спиртової витяжки опадку бука лісового (17 мкг);
- 3) розчин СЗ речовини-свідка рутину (5 мкг);
- 4) розчин СЗ речовини-свідка кверцетину (5 мкг);
- 5) розчин СЗ речовини-свідка ізосаліпурпозиду (5 мкг);
- 6) розчин СЗ речовини-свідка рутину (5 мкг), розчин СЗ речовини-свідка ізосаліпурпозиду (5 мкг) і розчин СЗ речовини-свідка кверцетину (5 мкг).

- Приготування розчину стандартного зразка речовини-свідка ізосаліпурпозиду. 0,05 г стандартного зразка ізосаліпурпозиду, атестованого Фармакопейним комітетом України, попередньо висушеного за температури 130°C-135°C протягом 3 год., вносили в мірну колбу ємністю 100 мл, розчиняли в 70 мл 70% етилового спирту в умовах нагрівання на водяній бані, охолоджували до кімнатної температури, доводили об'єм спиртом до мітки й перемішували.

- Перевірка придатності хроматографічної системи. Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконується вимога: на хроматограмі суміші для перевірки придатності хроматографічної системи чітко діляться смуги рутину, ізосаліпурпозиду та кверцетину.

ЛІТЕРАТУРА

- 1. Баранецький Г.Г., Гречаник Р.М.** Хімічний склад екзометаболітів бука лісового та ялиці білої // Науковий вісник УкрДЛТУ. – 1999. – вип. 9. – С 9-11.
- 2. Гречаник Р.М., Баранецький Г.Г., Вронська Л.В.** Флавоноїди в джерелах екзометаболітів деревних рослин // Науковий вісник УкрДЛТУ. – 2001. – вип. 11. – С 23-25.
- 3. Гречаник Р.М., Вронська Л.В.** Визначення флавоноїдів з джерел екзометаболітів бука лісового та ялиці білої // V-ий Між нар. Мед. конгрес студентів та молодих учених: (Тернопіль, 10-13 травня 2001 р.): Матер. Конгресу. – Тернопіль, 2001. – С. 199.
- 4. Ненищеску К.Д.** Органическая химия. Т. 2. – М.: Изд-во иностр. лит., 1963. – 1047 с.
- 5. Харкевич Д.А.** Фармакология. – Москва: Медицина, 1987. – 560 с.