



У. В. Карпюк¹, В. С. Кисличенко², І. С. Чолак¹, О. І. Ємельянова¹

Скринінгові дослідження вмісту дубильних речовин у надземних органах кукурудзи звичайної

¹Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ,

²Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: кукурудза, дубильні речовини, високоефективна рідинна хроматографія.

З метою вивчення якісного складу та кількісного вмісту дубильних речовин листя та стовпчиків із приймочками кукурудзи звичайної встановили наявність цих речовин за допомогою якісних реакцій; кількісний вміст поліфенолів визначали методом перманганатометрії та методом високоефективної рідинної хроматографії. Встановили, що в сировині кукурудзи присутні дубильні речовини переважно конденсованої групи. Методом перманганатометрії визначили накопичення поліфенольних сполук у листі гібридів цукрової та надцукрової кукурудзи. Найбільший вміст поліфенолів в стовпчиках із приймочками знайдено у надцукрової кукурудзі. Визначено наявність 8 сполук у листі та стовпчиках із приймочками кукурудзи звичайної методом високоефективної рідинної хроматографії: галова кислота, елагова кислота, галокатехін, епікатехін, катехін, епігалокатехін, катехін галат, епікатехін галат. Це свідчить про багатий поліфенольний склад сировини кукурудзи та перспективу використання цієї сировини для створення лікарських засобів і спеціальних харчових продуктів.

Скрининговые исследования содержания дубильных веществ в надземных органах кукурузы обыкновенной

У. В. Карпюк, В. С. Кисличенко, И. С. Чолак, О. И. Емельянова

С целью изучения качественного состава и количественного содержания дубильных веществ листьев и столбиков с рыльцами кукурузы обыкновенной установили наличие этих веществ с помощью качественных реакций; количественное содержание полифенолов определяли методом перманганатометрии и методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Установили, что в сырье кукурузы содержатся дубильные вещества преимущественно конденсированной группы. Методом перманганатометрии определили накопление полифенольных соединений в листьях гибридов сахарной или суперсахарной кукурузы. Наибольшее содержание полифенолов в столбиках с рыльцами найдено в суперсахарной кукурузе. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определено наличие 8 соединений в листьях и рыльцах кукурузы: галловая, эллаговая кислота, галокатехин, эпикатехин, катехин, эпигалокатехин, катехин галлат, эпикатехин галлат. Это свидетельствует о богатом полифенольном составе сырья кукурузы и перспективе использования данного сырья для создания лекарственных средств и специальных пищевых продуктов.

Ключевые слова: кукуруза, дубильные вещества, высокоэффективная жидкостная хроматография.

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. – 2015. – № 3 (19). – С. 44–47

Screening tests of tannins in overground organs of *Zea mays* L.

U. V. Karpiuk, V. S. Kislichenko, I. S. Cholak, O. I. Yemelianova

Aim. The introduction of new hemostatic drugs is a modern question. Using of tannins is promising especially for this segment of Pharmacy, as they are able to stop the bleeding. The purpose was to the study qualitative composition and quantitative content of tannins in *Zea mays* leaves and columns with stigmas.

Methods and results. The presence of tannins has been found using conventional qualitative reactions. Polyphenols content has been determined by permanganatometry. The qualitative composition and quantitative content of tannins in herbal drugs has been determined by high performance liquid chromatography. The presence of tannins mostly of condensed group has been determined. Accumulation of polyphenols in leaves of sweet and super sweet corn has been determined by permanganatometry. The highest content of polyphenols in the columns with stigmas has been found in super sweet corn. The presence of 8 compounds has been determined in the leaves and corn stigmas by high performance liquid chromatography: gallic acid, ellagic acid, galocatechin, epicatechin, catechin, epigallocatechin, catechin gallate, epicatechin gallate.

Conclusions. This demonstrates the rich polyphenolic composition of raw material of *Zea mays* and possibility to use it for the creation of drugs and specialty foods.

Key words: *Zea Mays* L., Tannins, High Pressure Liquid Chromatography.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2015; № 3 (19): 44–47

Незважаючи на значні досягнення в області створення синтетичних лікарських засобів, зберігається тенденція до впровадження нових лікарських препаратів на основі рослинної сировини.

Згідно з АТС-класифікацією, антигеморагічні засоби представлені В02А інгібіторами фібринолізу й В02В вітаміном К та іншими гемостатичними засобами. В02А А

Амінокислоти та В02А В Інгібітори протеїнази належать до В02А інгібіторів фібринолізу. До В02В вітаміну К та інших гемостатичних засобів належать: В02В А вітаміну К; В02В С Гемостатичні засоби для місцевого застосування; В02В D Фактори згортання крові; В02В Х Інші гемостатичні засоби для системного застосування, до яких входять В02В Х06** Гемостатичні засоби рослинного походження [10].

Асортимент В02В Х06** Гемостатичних засобів рослинного походження в Україні включає в себе: водяного перцю екстракт рідкий, кропиви листя, перцю водяного екстракт, деревію трава. Ці засоби мають гемостатичну дію та використовуються для системного призначення [10].

Аналіз фармацевтичного ринку кровоспинних засобів, котрий існує, свідчить, що розробка та створення гемостатичних препаратів на основі лікарської рослинної сировини є актуальним напрямом фармації.

Серед речовин, що відповідають за гемостатичну дію лікарських рослин, можна виділити вітамін К, біофлавоноїди та дубильні речовини [1,7–9]. До лікарської рослинної сировини, що містить такі біологічно активні речовини та має гемостатичну дію, належать стовпчики з приймочками кукурудзи звичайної. Найменш вивченими сполуками цієї сировини є дубильні речовини [4].

Крім того, дослідження хімічного складу листя кукурудзи звичайної дає можливість розширити сировинну базу лікарських рослин такої дії.

Мета роботи

Вивчення якісного складу та кількісного вмісту дубильних речовин листя та стовпчиків із приймочками кукурудзи звичайної.

Матеріали і методи дослідження

Для дослідження обрали 26 гібридів і сортів надцукрової, цукрової, високоамілозної, зубовидної, високолізинової та восковидної кукурудзи. Листя та стовпчики з приймочками збирали у фазу молочно-воскової стиглості плодів на дослідних полях в Харківській області у 2014 році.

Виявлення дубильних речовин у стовпчиках з приймочками та листі кукурудзи звичайної здійснювали

у водних розчинах сировини, що досліджували, за допомогою загальновідомих якісних реакцій [5,6]. Визначення кількісного вмісту суми окислювальних поліфенолів виконували перманганатометричним методом за Левенталем [2].

На основі досліджень визначили найбільш перспективний сорт Світлана. На наступному етапі дослідження встановили якісний склад і кількісний вміст дубильних речовин у лікарській рослинній сировині надцукрової кукурудзи звичайної сорту Світлана. Дослідження здійснювали методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) на хроматографі Agilent Technologies 1200 з фотометричним діодно-матричним детектором UV-Vis G1315C. Хроматограф обладнаний проточним дегазатором G1322A, автосамплером G1329A, термостатом колонок G1316A в комплексі з персональним комп'ютером з програмним забезпеченням Agilent ChemStation й зі спеціальним програмним забезпеченням для автоматичного інтегрування та ідентифікації речовин за допомогою бібліотеки спектрів.

Колонка аналітична «Discovery C18» з розміром часток 5 мкм, завдовжки 250 мм, внутрішнім діаметром 4,6 мм з передколункою завдовжки 20 мм. Режим подачі елюентів градієнтний. Мобільна фаза: А – трифлуороцтова кислота (0,1%) в ацетонітрилі (5%). Мобільна фаза: Б – трифлуороцтова кислота (0,1%) в ацетонітрилі. Тривалість аналізу – 40 хв. Температура термостатування колонки – 25°C. Об'ємна витрата елюента – 0,5 мл/хв. Об'єм введення – 5–10 μ л. Детектор: УФ-DAD: А – 280 нм.

Таблиця 1

Вміст дубильних речовин у листі та стовпчиках із приймочками кукурудзи звичайної за результатами перманганатометричного методу, % (n=5, Харківська область, 2014 р.)

№ п/п	Назва гібрида, сорту	Листя	Стовпчики
1	Лінія надцукрової кукурудзи СЕ-397	3,43±0,03	4,71±0,01
2	Лінія надцукрової кукурудзи СЕ-386	3,08±0,01	4,66±0,04
3	Лінія цукрової кукурудзи МС-11	3,43±0,05	4,12±0,05
4	Лінія цукрової кукурудзи МС-101	3,34±0,01	4,15±0,03
5	Лінія цукрової кукурудзи МС-719	3,28±0,01	4,4±0,05
6	Лінія надцукрової кукурудзи SS-147	3,90±0,04	4,3±0,16
7	Лінія надцукрової кукурудзи SS-387	3,87±0,05	3,2±0,03
8	Лінія надцукрової кукурудзи SS-65	3,87±0,15	4,3±0,05
9	Сорт Світлана – надцукрова кукурудза	4,50±0,11	9,23±0,19
10	Лінія 1 цукрової кукурудзи – гібрида Рапід	3,50±0,05	4,15±0,05
11	Лінія 2 цукрової кукурудзи – гібрида Рапід	3,02±0,09	5,62±0,01
12	Лінія надцукрової кукурудзи СЕ-414,	3,46±0,05	3,63±0,04
13	Лінія високолізинової кукурудзи БЛ-52 –	1,24±0,01	7,65±0,05
14	Лінія високолізинової кукурудзи БЛ-43	1,86±0,09	5,15±0,01
15	Лінія цукрової кукурудзи АС-43	3,66±0,01	3,01±0,03
16	Лінія цукрової кукурудзи АС-70	3,04±0,10	3,95±0,01
17	Лінія зубовидної кукурудзи Т-22	1,21±0,12	2,25±0,05
18	Лінія високоамілозної кукурудзи АЕ-392	1,32±0,02	2,94±0,04
19	Лінія восковидної кукурудзи ВК-69-7	2,33±0,18	3,17±0,11
20	Лінія восковидної кукурудзи ВК-69-8	2,31±0,02	2,66±0,01
21	Лінія восковидної кукурудзи ВК-06	3,18±0,05	4,78±0,05
22	Лінія восковидної кукурудзи ВК-07	2,31±0,14	5,61±0,01
23	Лінія восковидної кукурудзи ВК-08	2,62±0,08	4,2±0,05
24	Сорт Білявка надцукрова кукурудза	3,94±0,05	3,61±0,09

Вміст дубильних речовин у листі та стовпчиках із приймочками кукурудзи звичайної за результатами ВЕРХ (n=5, Харківська область, 2014 р.)

Назва сполуки	Час утримання, хв	Вміст, г/кг	
		Листя	Стовпчики з приймочками
Елагова кислота	7,660	0,1±0,04	0,17±0,04
Галова кислота	8,362	0,5±0,04	0,39±0,03
Галокатехін	11,477	3,34±0,02	5,09±0,02
Епігалокатехін	12,414	3,34±0,12	5,8±0,04
Катехін	17,281	3,9±0,02	2,8±0,04
Епікатехін	17,712	0,3±0,05	0,5±0,05
Катехін галат	18,935	0,36±0,01	0,6±0,04
Епікатехін галат	21,041	0,69±0,02	0,22±0,02
Загальний вміст визначених дубильних речовин		12,53	15,66

Пробопідготовка. Наважку зразка масою (0,5–1,00±0,01) г переносять у плоскодонну колбу об'ємом 100 см³ і заливають 30 см³ гарячої бідистильованої води. Колбу ставлять на магнітну мішалку з підігрівом і витримують 30 хв при температурі 80° С. Охолоджують у термостаті до температури не вище 25° С та переносять вміст у мірну колбу об'ємом 50 см³. Доводять об'єм до мітки бідистильованою водою. Ретельно перемішують, дають відстоятися 5 хв і надосадову рідину обережно відфільтровують крізь шприцовий мембранний фільтр (на основі заміщеної целюлози діаметром пор 0,45 мкм) у приготовлену ємкість. Відбирають з фільтрату 1 см³ в ємкість для хроматографування [3].

Результати та їх обговорення

В результаті здійснення якісних реакцій в об'єктах, що досліджувалися, встановили наявність дубильних речовин переважно конденсованої групи.

Після статистичної обробки визначення кількісного вмісту дубильних речовин встановили, що найбільше накопичення поліфенольних сполук спостерігається у листі гібридів цукрової та надцукрової кукурудзи (3,0±0,09%–4,5±0,11%), дещо нижчий вміст поліфенолів виявлено у листі гібридів восковидної кукурудзи (2,3±0,14%–3,0±0,1%), а найменший вміст дубильних речовин – у листі гібридів високолізинової, восковидної та високоамілозної кукурудзи (1,21±0,12%–1,8±0,09%) (табл. 1).

Подібної тенденції накопичення поліфенольних сполук у стовпчиках з приймочками залежно від виду кукурудзи не спостерігали. Але відзначимо, що найбільший вміст сполук, що досліджували, виявили в стовпчиках із приймочками надцукрової кукурудзи сорту Світлана – 9,23±0,19% (табл. 1).

Саме тому для наступного дослідження обрали листя та приймочки надцукрової кукурудзи сорту Світлана. Методом ВЕРХ визначено якісний склад і кількісний вміст окремих представників дубильних речовин у листі та стовпчиках із приймочками кукурудзи звичайної. У таблиці 2 наведені результати аналізу для вищевизначених зразків сировини.

Дослідження свідчать про значне накопичення дубильних речовин у стовпчиках з приймочками кукурудзи звичайної – 15,66 г/кг та листі – 12,53 г/кг.

Визначили наявність 8 сполук у листі та стовпчиках із приймочками кукурудзи звичайної: галова кислота, елагова кислота, галокатехін, епікатехін, катехін, епігалокатехін, катехін галат, епікатехін галат. Спостерігається тенденція накопичення представників конденсованої групи дубильних речовин: галокатехіну, епігалокатехіну, катехіну, епікатехіну, катехін галату, епікатехін галату. Ці дані підтверджують попередні дослідження, котрі проведені за допомогою якісних реакцій та вказують на перевагу дубильних речовин конденсованої групи.

Отже, встановили, що галокатехін, епігалокатехін та катехін у листі та в приймочках кукурудзи звичайної накопичуються у найбільшій кількості.

Висновки

1. У листі та стовпчиках з приймочками кукурудзи звичайної встановили наявність дубильних речовин переважно конденсованої групи.

2. Методом перманганатометрії визначили вміст поліфенолів у листі та стовпчиках із приймочками кукурудзи звичайної 26 гібридів та сортів. Спостерігається тенденція накопичення поліфенольних сполук у листі цукрової та надцукрової кукурудзи на відміну від інших видів кукурудзи. Найбільший вміст поліфенолів у стовпчиках з приймочками виявили у надцукровій кукурудзі.

3. Визначили наявність 8 сполук у листі та стовпчиках з приймочками кукурудзи звичайної: галова кислота, елагова кислота, галокатехін, епікатехін, катехін, епігалокатехін, катехін галат, епікатехін галат.

4. Встановили, що галокатехін, епігалокатехін та катехін в листі та в приймочках кукурудзи звичайної накопичуються у найбільшій кількості.

Перспективи подальших досліджень. Результати досліджень використовуватимуть при розробці методів контролю якості цього виду сировини кукурудзи та створенні лікарських засобів і спеціальних харчових продуктів.

Список літератури

1. Барабой В.А. Биоантиоксиданты / В.А. Барабой. – К. : Книга плюс, 2006. – 513 с.
2. Государственная фармакопея СССР. Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. – 11 изд., доп. – М. : Медицина, 1987. – 336 с.
3. Карпюк У.В. Дубильні речовини шкірки та ендосперму насіння гіркокаштану кінського / У.В. Карпюк, В.С. Кисличенко // Збірник наукових праць співробітників НМА-ПО імені П.Л. Шупика. – К., 2015. – Вип. 24. – Кн. 5. – С. 113–118.

4. Лекарственные растения. Самая полная энциклопедия / А.Ф. Лебеда, Н.И. Джуренко, А.П. Исайкина, В.Г. Собко. – М. : АСТ-ПРЕСС КНИГА, 2010. – 496 с.
5. Сировинні джерела продуктів біотехнології та їх аналіз : навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл. / В.С. Кисличенко, І.О. Журавель, О.В. Бухаріна та ін. ; за ред. В.С. Кисличенко. – Х. : НФаУ : Золоті сторінки, 2009. – 304 с.
6. Практикум з ідентифікації лікарської рослинної сировини : навч. посіб. / В.М. Ковальов, С.М. Марчишин, О.П. Хворост та ін. ; за ред. В.М. Ковальова, С.М. Марчишин. – Тернопіль : ТДМУ, 2014. – 264 с.
7. Gross M. Flavonoids and cardiovascular disease / M. Gross // *Pharmaceutical biology*. – 2004. – Vol. 42. – P. 21–35.
8. McKenna D.J. Botanical medicines: the desk reference for major herbal supplements / D.J. McKenna, K. Jones, K. Hughes. – 2-nd ed. – Haworth Herbal Press, 2002. – 1138 p.
9. Effects of catechins on human blood platelet aggregation and lipid peroxidation / T.J. Neiva, L. Morais, M. Polack, C.M. Simoes, E.A. D'Amico // *Phytotherapy Research*. – 1999. – Vol. 13. – №7. – P. 596–600.
10. Компендиум. Лекарственные препараты [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://compendium.com.ua>.
3. Karpiuk, U. V., & Kyslychenko, V. S. (2015). Dubylni rehovyny shkirky ta endospermu nasinnia hircokashtanu kinskogo [Tannins of skin and endosperm of Horse chestnut]. *Zbirnyk naukovykh prats spivrobitykiv NMAPO imeni P.L. Shupyka*, 24(5), 113–118. [in Ukrainian].
4. Lebeda, A. F., Dzhurenko, N. I., Isajkina, A. P., & Sobko, V. G. (2010). *Lekarstvennye rasteniya. Samaya polnaya e'nciklopediya [Medicinal plants. The most complete encyclopedia]*. Moscow: AST-PRESS KNIGA. [in Russian].
5. Kyslychenko, V. S., Zhuravel, I. O., Bukharina, O. V., et al. (2009). *Syrovynni dzhherela produktiv biotekhnolohii ta yikh analiz*. [Raw material sources of biotechnology products and it's analysis]. Kharkiv: NFAU : Zoloti storinky. [in Ukrainian].
6. Kovalov, V. M., Marchyshyn, S. M., Khvorost, O. P., et al. (2014). *Praktykum z identyfikatsii likarskoi roslynnoi syrovyny [Workshop on identification of medicinal plants]*. Ternopil : TDMU. [in Ukrainian].
7. Gross, M. (2004). Flavonoids and cardiovascular disease. *Pharmaceutical biology*, 42, 21–35. doi: 10.1080/13880200490893483.
8. McKenna, D. J., Jones, K., & Hughes, K. (2002). *Botanical medicines: the desk reference for major herbal supplements..* Haworth Herbal Press.
9. Neiva, T. J. Morais, L., Polack, M., Simoes, C. M., & D'Amico, E. A. (1999). Effects of catechins on human blood platelet aggregation and lipid peroxidation. *Phytotherapy Research*, 13(7), 596–600.
10. Compendium. Lekarstvennye preparaty [Compendium. Medications]. Retrieved from <http://compendium.com.ua>. [in Ukrainian].

Відомості про авторів:

Карпюк У. В., к. фарм. н., доцент каф. фармакогнозії та ботаніки, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця.
Кисличенко В. С., д. фарм. н., професор, зав. каф. хімії природних сполук, Національний фармацевтичний університет.
Чолак І. С., к. фарм. н., асистент каф. фармакогнозії та ботаніки, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця.
Смельянова О. І., к. мед. н., доцент каф. фармакогнозії та ботаніки, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця,
E-mail: niirabota@bigmir.net.

Сведения об авторах:

Карпюк У. В., к. фарм. н., доцент каф. фармакогнозии и ботаники, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца.
Кисличенко В. С., д. фарм. н., профессор, зав. каф. химии природных соединений, Национальный фармацевтический университет.
Чолак И. С., к. фарм. н., ассистент каф. фармакогнозии и ботаники, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца.
Смельянова О. И., к. мед. н., доцент каф. фармакогнозии и ботаники, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца,
E-mail: niirabota@bigmir.net.

Information about authors:

Karpiuk U. V., MD, PhD., Associate Professor, Department of Pharmacognosy and Botany, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.
Kislichenko V. S., MD, PHD, Dr.hab., Professor, Head of Department of Chemistry of Natural Compounds, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.
Cholak I. S., MD, PhD, Assistant, Department of Pharmacognosy and botany, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.
Yemelianova O. I., MD, PhD., Associate Professor, Department of Pharmacognosy and Botany, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine, E-mail: niirabota@bigmir.net.

Надійшла в редакцію 09.09.2015 р.