



УДК 615.014.07:443.631.22:615.453:15:481.938.4

**DEVELOPMENT OF METHODS FOR THE IDENTIFICATION OF FLAVONOIDS AND PHENOLCARBONIC ACIDS IN THE MEDICINAL PLANT RAW MATERIALS OF CREEPING THYME****РОЗРОБКА МЕТОДИКИ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ФЛАВОНОЇДІВ І ФЕНОЛКАРБОНОВИХ КИСЛОТ У ЛІКАРСЬКІЙ РОСЛИННІЙ СИРОВИНІ ЧЕБРЕЦЮ ПОВЗУЧОГО****Zarivna N.O. / Зарівна Н.О.***s.pharm.s., as.prof. / к.фарм.н., доц.*

ORCID: 0000-0002-8522-4024

*I. Horbachevsky Ternopil national medical university,**Ternopil, Ruska, 36, 46000**Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського,**Тернопіль, Руська, 36, 46000*

**Анотація.** В роботі представлено розробку методики ідентифікації флавоноїдів і фенолкарбонових кислот у лікарській рослинній сировині чебрецю повзучого. У фармакоterapiї патології верхніх дихальних шляхів значна частка препаратів, виготовлених з рослинної сировини. Віддавна відомою лікарською рослинною сировиною (ЛРС) і такою, що залишається актуальною для виробництва лікарських засобів (ЛЗ), є трава чебрецю повзучого (*Thymus serpyllum*), родини Губоцвіті (*Lamiaceae*). Препарати на основі чебрецю повзучого (ЧП) призначають при бронхітах, запаленні легень, кашлюку як відхаркувальний засіб. Як відомо, з джерел літератури, сировина ЧП є домінуючою серед лікарських рослин з муколітичною активністю, тому доречним на сьогодні, є створення вітчизняних муколітичних лікарських засобів на її основі. Попередніми нашими дослідженнями, було встановлено наявність фенольних сполук у досліджуваній сировині, тому для вибору ідентифікаційних маркерів якості трави ЧП необхідно розробити методику їх ідентифікації для подальшої стандартизації досліджуваної сировини.

**Ключові слова:** чебрець повзучий, флавоноїди, високоефективна рідинна хроматографія, маркери якості.

**Вступ.**

Для лікування пацієнтів із хворобами органів дихання в народній медицині використовують багато рослин, зокрема, чебрець повзучий, плющ звичайний, подорожник великий та інші. Серед рослин з муколітичною активністю особлива увага припадає на чебрець повзучий. У Державній Фармакопеї України (ДФУ) наведена фармакопейна стаття на траву чебрецю, згідно якої ідентифікаційними та кількісними маркерами її доброякості є тимол і карвакрол та вміст ефірної олії відповідно. Разом з тим, аналізуючи ринок препаратів чебрецю, слід зауважити, що у їхньому виробництві застосовуються здебільшого рідкі водні та водно-спиртові екстракти, останні отримані з використанням водно-спиртових сумішей з низьким вмістом спирту. Перехід компонентів ефірної олії, яка є гідрофобною речовиною за природою, у такі екстракти є досить незначним. Тому, готові лікарські засоби (ГЛЗ) на основі ЧП, очевидно, проявляють очікувану фармакологічну активність не лише за рахунок тимолу та карвакролу, але й за рахунок інших біологічно активних речовин (БАР), таких як: флавоноїдів, яким властиві згідно джерел літератури, муколітична, протизапальна, противірусна активності. Тому, при стандартизації ГЛЗ на основі трави чебрецю крім тимолу і карвакролу, необхідно ідентифікувати і визначати



кількісно флавоноїди та фенолкарбонові кислоти.

Джерело: [1- 7]

### Основний текст.

Дослідження якісного складу флавоноїдів і фенолкарбонових кислот у траві чебрецю повзучого проводили фармакопейним методом аналізу - вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) [6, 7], до проведення гідролізу, використовуючи рідинний хроматограф "Agilent 1200" із детектором "діодна матриця". Умови пробопідготовки розробленої нами методики ідентифікації флавоноїдів і фенолкарбонових кислот у ЛРС чебрецю повзучого наведено нижче:

- колонка "XTerraC18" (фірми "Waters", Ірландія), розміром 4,6 x 250 мм, заповнена сорбентом з розміром частинок 5 мкм, або аналогічна, для якої виконуються вимоги тесту "Перевірка придатності хроматографічної системи";
- рухома фаза А: 0,6 г натрію дигідрофосфату моногідрату Р розчиняють у 1000 мл води високоочищеної Р, доводять рН розчину кислотою фосфорною Р до 2,5 (потенціометрично);
- рухома фаза В: ацетонітрил Р;
- швидкість рухомої фази – 1,0 мл/хв;
- детектування за довжини хвилі 330 нм, 370 нм;
- температура колонки 25 °С;
- об'єм проби, що вводиться 50 мкл;
- час хроматографування 55 хв.

Для розробленої ВЕРХ-методики ідентифікації досліджуваних БАР використовували наступну програму градієнта:

Стадія	Час, хв	Рухома фаза А (% об/об )	Рухома фаза В (% об/об )
1	0-5	90	10
2	5-27	90 → 80	10 → 20
3	27-28	80 → 50	20 → 50
4	28-30	50	50
5	30-40	50 → 90	50 → 10
6	40-55	90	10

Враховуючи підібрані умови хроматографування представлено розроблену методику якісного визначення флавоноїдів і гідроксикоричних кислот у досліджуваній сировині ЧП:

*Випробовуваний розчин.* 1,0 г (точна наважка) подрібненої сировини ЧП поміщають в конічну колбу місткістю 100 мл зі шліфом, додають 20 мл спирту (60 % (об/об)) і нагрівають зі зворотним холодильником впродовж 45 хв на водяній бані. Після охолодження спиртового вилучення його фільтрують в мірну колбу місткістю 25 мл, промивають колбу з сировиною тим же спиртом, долучаючи отриманий розчин до фільтрату та доводячи об'єм вилучення до 25 мл.

5 мл одержаного розчину доводять до 100 мл рухомою фазою А, фільтрують.



**Розчин порівняння.** 2,5 мг СЗ кверцетину (Fluka), 5,0 мг СЗ рутину (Sigma), 2,5 мг СЗ апігеніну (Fluka), 5,0 мг СЗ апігенін-7-глюкозиду (Fluka), 2,5 мг СЗ лютеолін -7-О-глюкозиду (Fluka), 5,0 мг СЗ лютеоліну (Sigma), 5,0 мг ФСЗ гіперозиду, 5 мг СЗ кемпферолу (Sigma), 2,5 мг СЗ кофейної кислоти (Fluka), 2,5 мг СЗ хлорогенової кислоти (Fluka), 2,5 г СЗ розмаринової кислоти (Fluka) розчиняють у розчиннику і доводять об'єм розчину до 25 мл тим самим розчинником. 5,0 мл одержаного розчину доводять до 100 мл рухомою фазою А.

**Розчинник.** Суміш 96 % спирт етиловий Р - вода Р (70:30).

Порядок виходу піків на хроматограмі розчину порівняння наступний: хлорогенова кислота, кофейна кислота, рутин, гіперозид, лютеолін-7-О-глюкозид, апігенін-7-глюкозид, розмаринова кислота, лютеолін, кверцетин, апігенін, кемпферол (фенолкарбонові кислоти переглядають при 330 нм, а флавоноїди – при 370 нм).

Хроматографічна система вважається придатною, якщо:

- коефіцієнт розділення для піків хлорогенової кислоти та кофейної кислоти становить не менше 2,0.

Для проведення аналізу використовували сировину чебрецю повзучого як фармацевтичних фабрик, так і дикорослу сировину, зібрану в західних областях України в різні роки заготівлі. Це дозволить дослідити маркери якості аналізованої сировини [6].

Результати ВЕРХ-аналізу досліджуваних БАР (до гідролізу) трави чебрецю повзучого наведені у таблиці 1.

**Таблиця 1 - Результати аналізу спиртових вилучень із трави чебрецю повзучого, отриманих при хроматографічних дослідженнях методом ВЕРХ (до гідролізу)**

№ серії сировини	Рутин	Хлорогенова кислота	Гіперозид	Лютеолін - 7-глюкозид	Апігенін-7-глюкозид	Розмаринова кислота +	Кофейна кислота	Лютеолін	Апігенін
1		+		+		+	+	+	
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+		+	+	+	
4		+	+	+		+	+	+	
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7		+		+		+	+	+	
8		+		+		+	+	+	
9	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+		+	+	+



Примітки: №1 – сировина Київської ФФ;  
№2 – сировина Житомирської ФФ «Ліктрави», с. 40810;  
№3 – дикоросла сировина Гусятинського р-ну, Тернопільської обл. 2009 рік заготівлі;  
№4 – дикоросла сировина Гусятинського р-ну, Тернопільської обл. 2010 рік заготівлі;  
№5 – сировина Житомирської ФФ «Ліктрави», с.61010;  
№6 – сировина Житомирської ФФ «Ліктрави», с. 20111;  
№7 – дикоросла сировина Бережанського р-ну, Тернопільської обл.;  
№8 – дикоросла сировина Лановецького р-ну, Тернопільської обл.;  
№9 – дикоросла сировина Сколівського р-ну, Львівської обл.;  
№10 – дикоросла сировина Самбірського р-ну, Львівської обл.

Як видно з таблиці 1, спостерігається дещо відмінність по складу фенольних сполук для різних зразків сировини ЧП, що пояснюється, насамперед, різними умовами зростання, заготівлі, сушіння сировини. [3, 4, 6].

Проте, слід відмітити про ідентичність складу БАР трави ЧП у різних серіях Житомирської ФФ «Ліктрави», що пояснюється, ймовірно, заготівлею досліджуваної сировини в одному й тому самому районі.

В результаті розробленої методики ідентифікації флавоноїдів і гідроксикоричних кислот сировини ЧП, встановлено наявність у ній флавоноїдів, зокрема, рутину, гіперозиду, лютеолін-7-О-глюкозиду, апігенін-7-О-глюкозиду й одного глікозиду лютеоліну невідомого складу. З фенолкарбонових кислот виявлено: кофейну, хлорогенову та розмаринову (виявлена у траві чебрецю повзучого вперше) [6].

### **Висновки.**

Підібрано оптимальні умови хроматографування, розроблено ВЕРХ-методику ідентифікації флавоноїдів і фенолкарбонових кислот у траві чебрецю повзучого. В результаті, запропоновано ідентифікаційні маркери якості сировини ЧП із групи фенольних сполук, які будуть досліджуватись для проведення стандартизації у ланцюзі: ЛРС – екстракт – готовий лікарський засіб.

### **Література:**

1. Завязкин О. В. Энциклопедия народной медицины / О. В. Завязкин, З. В. Нечволода. – Донецк, 2005. – 282 с.
2. F. Zani, G. Massimo, S. Benvenuti [et al.] // *Planta Med.* – 1991. – Vol. 57, № 3. – P. 237–241
3. *Thyme: The genus Thymus.* London, New York: Taylor, Fransis. – 2002. – 330 p.
4. *Thyme oil.* Monograph N: 1374. Concerned also monograph N 865 (*Thymi herba*) and N 1891 (*Serpylli herba*). – PA/PH/ Exp. 13A/T (09) 35 1 R. – Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, April 2009.
5. Зарівна Н.О. Аналіз ринку лікарських засобів на основі чебрецю звичайного / Н. О. Зарівна, Л. В. Вронська, М. М. Михалків // – *Фармацевтичний часопис.* – 2010. – № 4. – С. 59-63



6. Зарівна Н. О. До питання стандартизації трави чебрецю повзучого за вмістом флавоноїдів / Н. О. Зарівна, Л. В. Вронська // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2012. – № 5(25). – С. 21-27.

7. Державна фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство „Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів”. – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство „Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів”, 2015. Т.1 – 1128 с.

#### References.

1. (2005) Zaviazkyn O. V. Энциклопедия народной медицины [Encyclopedia of folk medicine]. Donetsk. “ [in Ukrainian].
2. (1991) F. Zani, G. Massimo, S. Benvenuti [Planta Med], 57 (3).
3. (2002) Thyme: The genus Thymus. London, New York: Taylor, Fransis.
4. (2009) Thyme oil. Monograph N: 1374. Concerned also monograph N 865 (Thymi herba) and N 1891 (Serpylli herba). Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines.
5. (2010) Zarivna N.O. Analiz rynku likarskykh zasobiv na osnovi chebretsiu zvychainoho [Market analysis of medicinal products based on common thyme]. Farmatsevychnyi chasopys, 4, 59-63. [in Ukrainian].
6. (2012) Zarivna N. O. Do pytannia standartyzatsii travy chebretsiu povzuchoho za vmistom flavonoidiv [To the issue of standardization of creeping thyme herb by flavonoid content] Upravlinnia, ekonomika ta zabezpechennia yakosti v farmatsii, 5(25), 21-27. [in Ukrainian].
7. (2015) Derzhavna Farmakopeia Ukrainy: v 3 t. [State Pharmacopoeia of Ukraine: in 3 vol.]. State Enterprise “Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center for the Quality Medicines « [in Ukrainian].

**Abstract.** *The work presents the development of a methodology for the identification of flavonoids and phenolic acids in medicinal plant raw materials of creeping thyme. In the pharmacotherapy of the pathology of the upper respiratory tract, a significant proportion of drugs are made from plant raw materials. Thymus serpyllum, a member of the Lamiaceae family, is a long-known medicinal plant material that remains relevant for the production of medicinal products.*

*Preparations based on creeping thyme (CT) are prescribed for bronchitis, inflammation of the lungs, whooping cough as an expectorant. As is known from the sources of literature, the raw material of CT is dominant among medicinal plants with mucolytic activity, therefore it is relevant today to create domestic mucolytic medicines based on it.*

*Our previous studies established the presence of phenolic compounds in the studied raw materials, therefore, for the selection of identification markers of the quality of the CT grass, it is necessary to develop a methodology for their identification for further standardization of the studied raw materials.*

**Key words:** *creeping thyme, flavonoids, high performance liquid chromatography, quality markers.*

Стаття відправлена: 24.01.23

© Зарівна Н.О.