У. В. Карпюк, В. С. Кисличенко, А. Г. Котов, Э. Э. Котова

ПРЕДПОСЫЛКИ РАЗРАБОТКИ МОНОГРАФИИ «КУКУРУЗЫ СТОЛБИКИ С РЫЛЬЦАМИ» ДЛЯ ВВЕДЕНИЯ В ГОСУДАРСТВЕННУЮ ФАРМАКОПЕЮ УКРАИНЫ

Ключевые слова: кукуруза, столбики с рыльцами, Государственная Фармакопея Украины

Проведен сравнительный анализ монографий Государственной Фармакопеи СССР XI издания, Государственной Фармакопеи Республики Беларусь, Французской Фармакопеи, Британской гомеопатической Фармакопеи и определены подходы к разработки проекта монографии «Кукурузы столбики с рыльцами» в Государственную Фармакопею Украины соответственно современным требованиям стандартизации лекарственного растительного сырья.

U. V. Karpiuk, V. S. Kyslychenko, A. H. Kotov, E. E. Kotova

PRECONDITIONS TO DEVELOPMENT OF MONOGRAPH "CORN SILK" FOR INTRODUCTION INTO STATE PHARMACOPOEIA OF UKRAINE

Keywords: corn, silk, the State Pharmacopoeia of Ukraine.

A comparative analysis of the monographs of the State Pharmacopoeia of the USSR XI edition, the State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus, the French Pharmacopeia and British Herbal Pharmacopeia was conducted, and the approach for developing the monograph project "Corn silk" in the State Pharmacopoeia of Ukraine in accordance with modern requirements for standardization of medicinal plant raw materials was determined.

УДК 615.322:582.929.4:547.56

ДОСЛІДЖЕННЯ ФЛАВОНОЇДІВ У ТРАВІ ТА КОРЕНЕВИХ БУЛЬБАХ ЧИСТЕЦЮ ЗІБОЛЬДА (*STACHYS SIEBOLDII MIQ.*)

■ **С. М. Марчишин, д. фарм. н., проф., зав. каф. фармакогн. з мед. бот.**
Л. В. Гусак, здобувач каф. фармакогн. з мед. бот.
Т. С. Бердей, к. фарм. н., асист. каф. фармакогн. з мед. бот.

■ ***ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України»***

Флавоноїди – найпоширеніші рослинні метаболіти, для яких характерною є структурна різноманітність, висока і різностороння фармакологічна активність та низька токсичність [1]. Відомо, що флавоноїди виявляють високу біологічну активність завдяки наявності у молекулі активних фенольних гідроксильних та карбонільних груп, які у ході різних біохімічних модифікацій беруть участь у ряді фізіологічних процесів та виявляють широкий спектр фармакологічної активності [2, 6].

З кожним роком зростає інтерес учених до даних сполук, тому що вони проявляють такі важливі властивості як антиоксидантна, протипухлинна, судинозміцнювальна, протизапальна, гепатопротекторна, нейропротекторна, радіопротекторна тощо [5, 8].

Чистець Зібольда використовують у китайській і тибетській народній медицині при лікуванні туберкульозу, гіпертонії і як заспокійливий засіб. Біологічно активні речовини, що містяться у кореневих бульбах, впливають на вуглеводний і ліпідний обмін, знижують артеріальний тиск, вміст холестерину [4]. Враховуючи те, що у наукових публікаціях відомостей про вміст біологічно активних речовин чистецю Зібольда недостатньо, актуальним є дослідження флавоноїдів у траві і кореневих бульбах досліджуваного об'єкту. Таким чином, **метою нашої роботи** було встановлення наявності та кількісного визначення вмісту суми флавоноїдів у траві та кореневих бульбах **чистецю *Stachys sieboldii MIQ.***

Матеріали і методи дослідження

Об'єктом для досліджень була трава та кореневі бульби *Stachys sieboldii Miq*. Сировина запропонована професором Міщенко Л. Т. – провідним науковим співробітником ННЦ «Інститут біології». Для експериментальних досліджень використовували траву врожаю 2014 року.

За допомогою ціанідинової реакції нами було проведено якісне виявлення флавоноїдів у витяжках із досліджуваної рослинної сировини.

Наступним етапом ідентифікації флавоноїдів у траві та кореневих бульбах чистецю Зібольда була ТШХ у системі розчинників *н*-бутанол – кислота ацетатна – вода очищена Р (4:1:2). Хроматограми висушували та розглядали при денному і УФ-світлі до та після обробки парами аміаку. Як достовірні зразки використовували кемпферол, лютеолін, ізокверцитрин, кверцетин, рутин, апігенін.

Кількісний вміст суми флавоноїдів визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на рутин, тому що попередні дослідження показали наявність у траві і кореневих бульбах чистецю Зібольда флавоноїдних сполук, переважно похідних кверцетину [3].

1 г подрібненої сировини (точна наважка), просіяної крізь сито з діаметром 2 мм, поміщали у колбу зі шліфом

© С. М. Марчишин, Л. В. Гусак, Т. С. Бердей

місткістю 150 мл, заливали 30 мл 70 % етанолом Р, колбу зважували. Колбу із зворотним холодильником нагрівали на водяній бані протягом 2 год, періодично струшували для змивання часток сировини зі стінок. Після охолодження до кімнатної температури колбу зважували, при необхідності додавали 70 % етанол Р до первинної маси. Витяжку фільтрували через фільтр у колбу місткістю 100 мл, відділяли перші 20 мл витяжки.

1 мл витяжки вміщували у мірну колбу місткістю 25 мл, до 1 мл 2 % розчину алюмінію хлориду в 95 % етанолі Р, об'єм розчину доводили 95 % етанолом Р до мітки і перемішували (випробуваний розчин). Через 40 хв вимірювали оптичну густину розчину на спектрофотометрі Lambda 25 Perkin Elmer при довжині хвилі 415 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовували розчин, який містив 1 мл витяжки, 2 краплі розведеної ацетатної кислоти і доведений 95 % етанолом Р до мітки в мірній колбі місткістю 25 мл. Паралельно в цих умовах вимірювали оптичну густину розчину стандартного зразка рутину, приготовленого аналогічно досліджуваному розчину.

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин та абсолютно суху сировину у відсотках (X) розраховували за формулою:

$$X = \frac{D \times m_0 \times 100 \times 100}{D_0 \times m \times (100 - W)};$$ де

D – оптична густина випробуваного розчину;
D_0 – оптична густина стандартного зразка рутину;
m – маса наважки сировини, г;
m_0 – маса наважки ФСЗ ДФУ рутину, г;
W – втрата в масі при висушуванні, % [3].

Для розділення суми флавоноїдів на окремі компоненти використовували метод ВЕРХ. Дослідження

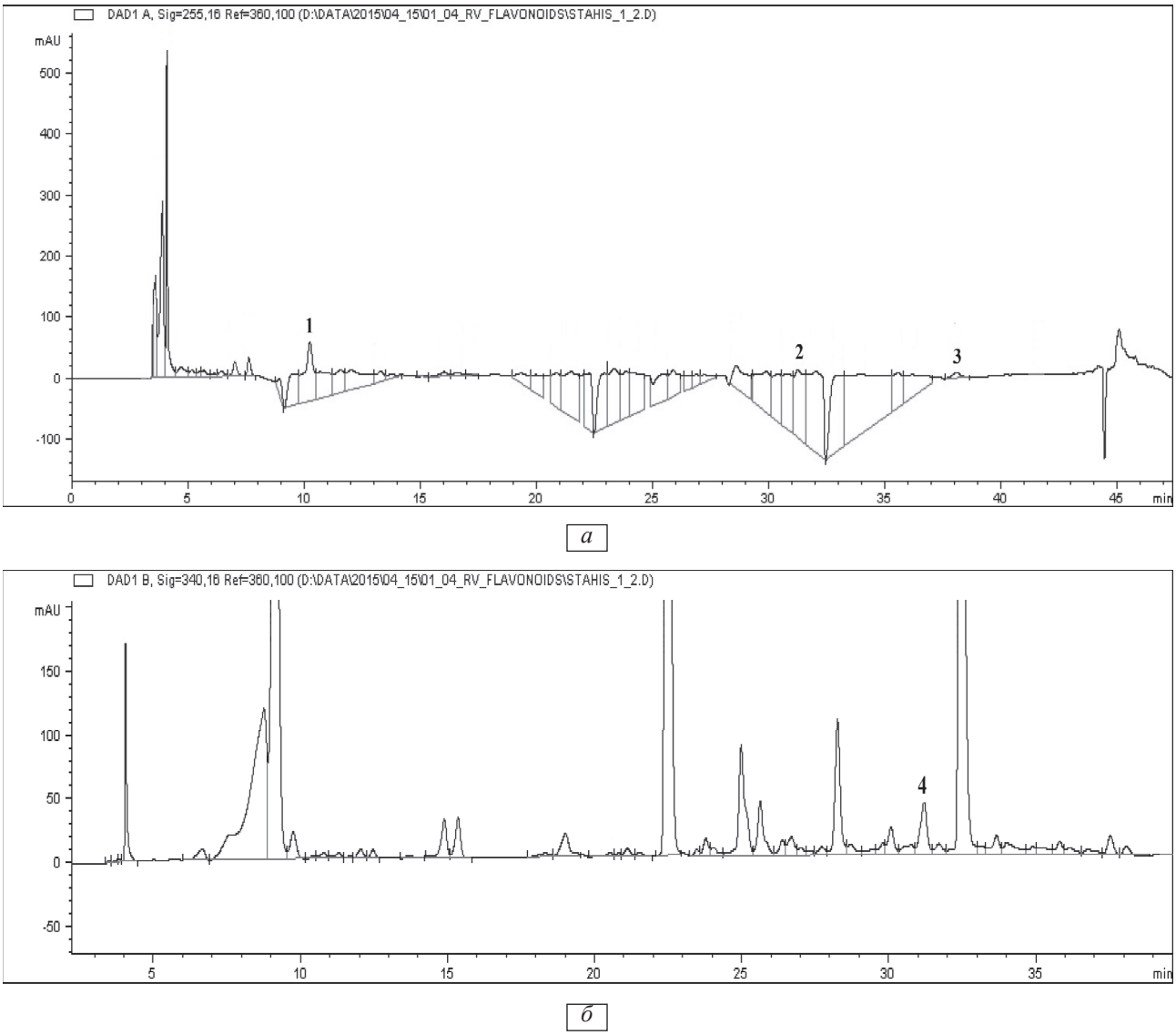

Рис. 1. ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів трави чистецю Зібольда при а) λ = 255 нм та б) λ = 340 нм: 1 – ізокверцитрин, 2 – лютеолін, 3 – кверцетин, 4 – апігенін.

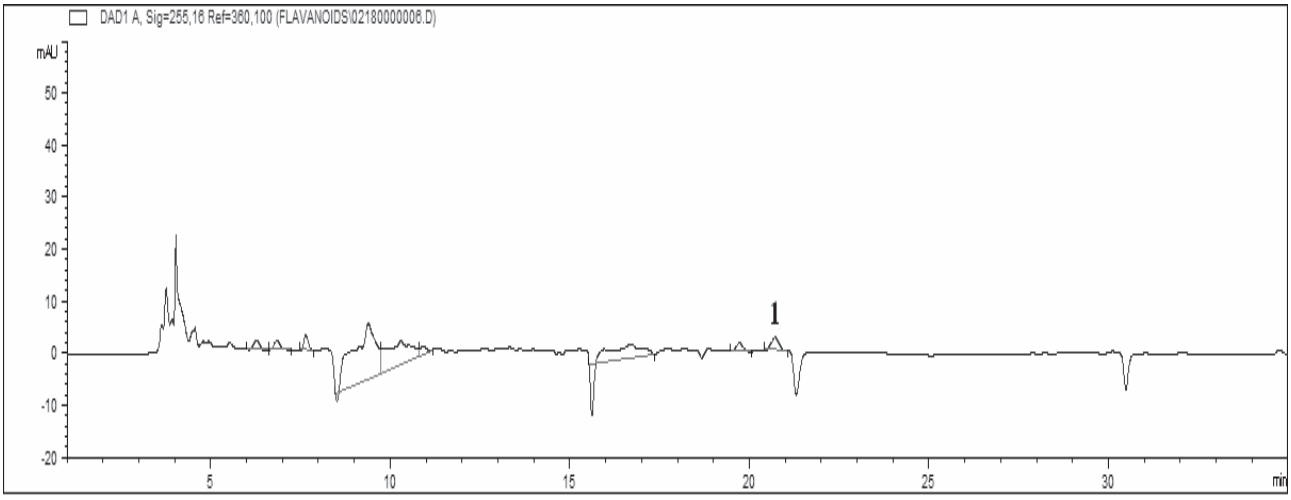

Рис. 2. ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів кореневих бульб чистецю Зібольда при λ = 255 нм: 1 – кверцетин.

проводили на хроматографі Agilent 1200 3D LC System Technologies (США), який укомплектований проточним вакуумним дегазатором G1322A, чотириканальним насосом градієнта низького тиску G13111A, автосамплером G1329A, термостатом колонки G 1316A, детекторами діодноматричним G1315C та рефрактометричним G1362A. Умови хроматографування для визначення флавоноїдів: колонка SupelcoDiscovery C18 розміром 250×4,6 мм із сорбентом – силікагель із діаметром зерен 5 мкм, елюенти: (А) 0,005 Н кислота фосфорна (Sigma-Aldrich), (В) ацетонітрил (Sigma-Aldrich). Режим хроматографування: максимальна швидкість подачі рухомої фази 0,8 мл/хв, робочий тиск елюента 156 bar; температура термостата колонки 25 °С. Режим елюювання – градієнтний: 0 хв 12 % «В», 30 хв 25 % «В», 33 хв 25 % «В», 38 хв 30 % «В», 40 хв 40 % «В», 41 хв 80 % «В», 49-60 хв 12 %. Час сканування 0,6 с, діапазон детектування – 190-400 нм, довжина хвилі 255 нм і 340 нм [7].

Пробопідготовка. Подрібнену ЛРС масою 1,00 г (точна наважка) поміщали в круглодонну колбу на 50 мл, додавали 25 мл 60 % розчину метанолу, 2 мл розчину кислоти фосфорної Р і бідистильованої води (1:10), pH = 2,8, екстрагували на киплячій водяній бані зі зворотним холодильником при перемішуванні протягом 30 хв.

Перед хроматографуванням одержані витяги фільтрували через фільтр одноразового використання з діаметром пор 0,45 мкм. Об'єм введеної проби 5-20 мкл.

Результати дослідження та їх обговорення

Позитивна ціанідинова реакція показала наявність речовин флавоноїдної природи у чистецю Зібольда.

Методом ТШХ було встановлено, що трава чистецю Зібольда містить ізокверцитрин, кверцетин, сліди апігеніну і лютеоліну; кореневі бульби – сліди кверцетину.

Спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст суми флавоноїдів у траві і кореневих бульбах чистецю Зібольда, який становив у перерахунку на рутин у траві досліджуваної рослини (2,42 ± 0,001) %, у кореневих бульбах – (0,39 ± 0,01) %.

Результати визначення флавоноїдів у траві та кореневих бульбах чистецю Зібольда методом ВЕРХ наведено на рисунках 1 і 2 та у таблиці.

Таблиця

Кількісний вміст індивідуальних флавоноїдів у траві та кореневих бульбах *STACHYS SIEBOLDII MIQ.*

БАР	УФ-спектр λ_{max}, нм	Трава, %	Кореневі бульби, %
Ізокверцитрин	255	$11 \cdot 10^{-2}$	–
Лютеолін	255	$2 \cdot 10^{-2}$	–
Кверцетин	255	$4 \cdot 10^{-2}$	$4 \cdot 10^{-2}$
Апігенін	340	$2 \cdot 10^{-2}$	–

Результати ВЕРХ-аналізу показали, що у траві досліджуваного об'єкту ідентифіковано ізокверцитрин (0,11 %), лютеолін (0,02 %), кверцетин (0,04 %) та апігенін (0,02 %) (рис. 1). У кореневих бульбах чистецю Зібольда ідентифіковано лише кверцетин (0,04 %) (рис. 2).

Висновки

1. Методом ТХШ визначено, що трава чистецю Зібольда містить ізокверцитрин, кверцетин, сліди апігеніну і лютеоліну; кореневі бульби – сліди кверцетину.

2. Вперше спектрофотометричним методом встановлено кількісний вміст суми флавоноїдів у чистецю Зібольда. У траві досліджуваного об'єкту він становив (2,42 ± 0,001) %, у кореневих бульбах – (0,39 ± 0,01) %.

3. Методом ВЕРХ-аналізу у чистецю Зібольда виявлено, ідентифіковано та встановлено кількісний вміст ізокверцитрину, лютеоліну, апігеніну, кверцетину. У найбільших кількостях у траві чистецю Зібольда міститься ізокверцитрину (0,11 %). У кореневих бульбах

досліджуваного об'єкту ідентифіковано і встановлено вміст лише кверцетину (0,04 %).

4. Отримані дані свідчать, що трава та кореневі бульби чистецю Зібольда є перспективною лікарською сировиною, яка потребує подальшого дослідження.

Література

1. Блажей А. Фенольные соединения растительного происхождения / А. Блажей, Л. Шутый – М.: Мир, 1977. – 240 с.

2. Доркина Е. Г. Изучение гепатозащитного действия природных флавоноидных соединений / Е. Г. Доркина // Эксперим. клин. фармакол. – 2004. – Т. 67, № 6. – С. 41-44.

3. Куркина А. В. Методика количественного определения суммы флавоноидов в траве репешка аптечного / А. В. Куркина // Хим.-фармац. журн. – 2011. – Т. 45, No 1. – С. 31-34.

4. Марчишин С. М. Дослідження кислот гідроксикоричних трави чистецю Зібольда / С. М. Марчишин, Л. В. Гусак, Т. С. Бердей // Мед. та клін. хімія. – 2016. – № 3. – С. 13-16.

5. Определение флавоноидов в плодах облепихи крушиновидной / О. В. Тринеева, И. И. Сафонова, Е. Ф. Сафонова, А. И. Сливкин // Фармация. – 2012. – № 7. – С. 18-23.

6. Чернов Ю. Н. Полифенольные соединения: структура, свойства и прикладные аспекты применения / Ю. Н. Чернов, А. В. Бузлама, Ю. М. Дронова // Фарматека. – 2004. – № 8. – С. 43-48.

7. Gudej J. Determination of flavonoids, tannins and ellagic acid in leaves from Rubus L. species /J. Gudej, M. Tomczyk // Arch Portet Bŭnŭdicte Analysis of minor flavonoids in Piper hostmannianum var. berbicense using liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry / Bŭnŭdicte Portet, Nicolas Fabre, Raoul Rozenberg [et al.] // J. of Chromatogr. A. – 2008. – Vol. 1210. – P. 45-54.

8. Wong E. The flavonoids / E. wong. – London: Chapman and Hall, 1975. – 743 p.

Надійшла до редакції 17.02.2017

УДК 615.322:582.929.4:547.56

С. М. Марчишин, Л. В. Гусак, Т. С. Бердей

ДОСЛІДЖЕННЯ ФЛАВОНОЇДІВ У ТРАВІ ТА КОРЕНЕВИХ БУЛЬБАХ ЧИСТЕЦЮ ЗІБОЛЬДА (*STACHYS SIEBOLDII MIQ.*)

Ключові слова: чистець Зібольда, флавоноїди, тонкошарова хроматографія, високоефективна рідинна хроматографія, спектрофотометрія.

Вперше вивчено якісний склад та визначено кількісний вміст флавоноїдів чистецю Зібольда (Stachys sieboldii Miq.). Спектрофотометричним методом встановлено, що трава і кореневі бульби чистецю Зібольда містять (2,42 ± 0,001) % і (0,39 ± 0,01) % флавоноїдів відповідно. Методом ВЕРХ у досліджуваних об'єктах виявлено, ідентифіковано та встановлено кількісний вміст лютеоліну, апігеніну, кверцетину та ізокверцитрину. У найбільших кількостях у траві чистецю Зібольда міститься ізокверцитрин (0,11 %). У кореневих бульбах досліджуваного об'єкту ідентифіковано і встановлено вміст лише кверцетину (0,04 %).

С. М. Марчишин, Л. В. Гусак, Т. С. Бердей

ИССЛЕДОВАНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В ТРАВЕ И КОРНЕВЫХ КЛУБНЯХ ЧИСТЕЦА ЗИБОЛЬДА (*STACHYS SIEBOLDII MIQ.*)

Ключевые слова: чистец Зибольда, флавоноиды, тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, спектрофотометрия.

Впервые изучен качественный состав и определено количественное содержание флавоноидов чистеца Зибольда (Stachys sieboldii Miq.). Спектрофотометрическим методом установлено, что трава и корневые клубни чистеца Зибольда содержат (2,42 ± 0,001) % и (0,39 ± 0,01) % флавоноидов соответственно. Методом ВЭЖХ в исследуемых объектах выявлено, идентифицировано и установлено количественное содержание лютеолина, апигенина, кверцетина и изокверцитрина. В наибольших количествах в траве чистеца Зибольда содержится изокверцитрин (0,11 %). В корневых клубнях исследуемого объекта идентифицировано и установлено содержание только кверцетина (0,04 %).

S. M. Marchyshyn, L. V. Husak, T. S. Berdey

THE RESEARCH OF FLAVONOIDS IN HERBS AND ROOT TUBERS OF STACHYS SIEBOLDII MIQ

Keywords: Stachys sieboldii MIQ., flavonoids, TLC, HPLC, spectrophotometry.

Qualitative and quantitative amount of flavonoids in Stachys sieboldii Miq was investigated for the first time. Quantitative content of flavonoids in the grass and root tubers Stachys sieboldii was (2.42 ± 0.001) % and (0.39 ± 0.01) % appropriately established by spectrophotometric method. Luteolin, apigenin, quercetin and isoquercitrin were identified in the studied objects by HPLC method. The largest quantity of isoquercitrin (0.11 %) was found in the herb of Stachys sieboldii. Only quercetin content (0.04 %) was identified and established in the root tubers of investigated object.