

*circumcincta* in goats / V. Paolini, A. Frayssines, F. F. De La [et al.] // *Vet. Res.* – 2003. – Vol. 34. – P. 331-339.

7. Paolini V. Lack of effects of quebracho and sainfoin hay on incoming third stage larvae of *Haemonchus contortus* in goats / V. Paolini, F. Prevot, Ph. Dorchies, H. Hoste // *Vet. J.* – 2005. – Vol. 170. – P. 260-263.

8. Tree Nuts. (Walnut polyphenols: structures and functions). / Ed. by Toshiyuki Fukuda. / *Tree Nuts: Composition, Phytochemicals, and Health effects.* / Ed. by Cesarettin Alasalvar and Fereidoon Shahidi. // *Nutraceutical Science and Technology.* / Ed. by Fereidoon Shahidi. – Boca Raton/ London / New York: CRC Press Taylor & Francis Grup, 2009. – 307 p.

9. Залигіна Є. В. Експериментальне дослідження впливу густого екстракту з незрілих плодів горіха волоського на функціональні показники роботи шлунково-кишкового тракту / Є. В. Залигіна, О. А. Подплетня // *Зб. матеріалів VIII Національного з'їзду фармацевтів України 13-16 вересня 2016 р. Харків.* – С. 45.

10. Zalygina E. V. Antimicrobial activity of thick aqueous-alcoholic extract of unripe walnut fruits / E. V. Zalygina, I. P. Koshova, E. A. Podpletynaya. // *East Europ. Sci.* – 2017. – № 1. – P. 127-134.

11. Залигіна Є. В. Дослідження гострої токсичності та проти- запальної дії екстракту густого водно-спиртового з незрілих плодів

горіха волоського / Є. В. Залигіна, О. А. Подплетня, В. Ю. Слесарчук // *Укр. біофармац. журн.* – 2017. – № 2(49). – С. 44-48.

12. Залигіна Є. В. Скринінгове дослідження противиразкової активності густих екстрактів незрілих плодів горіха волоського / Є. В. Залигіна, О. А. Подплетня // *Фармакол. та лік. токсикол.* – 2016. – № 6 (51). – С. 47-52.

13. Залигіна Є. В. Порівняльне вивчення токсичності густого водно-спиртового екстракту з незрілих плодів горіха волоського та препарату Альтан за повторного ведення шурм / Є. В. Залигіна // *Фармакол. та лік. токсикол.* – 2017. – № 6(56). – С. 72-82.

14. Залигіна Є. В. Перспективи створення нових противиразкових лікарських засобів на основі біологічно активних речовин горіха волоського / Залигіна Є. В., Слесарчук В. Ю., Подплетня О. А., Бабаніна Н. Ю. // *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції (28-29 березня 2018 року) / у 2-х т. – Х. 1.* – 268 с. – (Серія «Наука»), 2018. ISSN 2412 – 0456.

Надійшла до редакції 13.05.2018

УДК 615.451.1:634.51-027.13:547.567

Є. В. Залигіна, О. А. Подплетня, К. В. Соколова

## ВИЗНАЧЕННЯ ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПОЛІФЕНОЛІВ У СКЛАДІ ГУСТИХ ЕКСТРАКТІВ З НЕЗРІЛИХ ПЛОДІВ ГОРІХА ВОЛОСЬКОГО

**Ключові слова:** екстракти густі водно-спиртові з незрілих плодів горіха волоського, окиснювальні поліфеноли, метод перманганометрії, біологічно активні речовини.

Методом перманганометрії було визначено вміст окиснювальних поліфенолів у складі всіх досліджуваних густих екстрактів з незрілих плодів горіха волоського. Найбільшу кількість окиснювальних поліфенолів вміщує водний екстракт (5,44 %), найменшу – водно-спиртовий 96 % (3,12 %). Кількість поліфенольних сполук у водно-спиртових 30 %, 70 %, 96 % екстрактах не має достовірних відзнак та відповідно становить 3,28 %, 3,50 %, 3,12 %.

Е. В. Залигіна, Е. А. Подплетня, К. В. Соколова

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПОЛИФЕНОЛОВ В СОСТАВЕ ГУСТЫХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ НЕЗРЕЛЫХ ПЛОДОВ ОРЕХА ГРЕЦКОГО

**Ключевые слова:** экстракты густые водно-спиртовые из незрелых плодов ореха грецкого, окислительные полифенолы, метод перманганометрии, биологически активные вещества.

Методом перманганометрии было определено содержание окислительных полифенолов в составе всех исследуемых густых экстрактов из незрелых плодов ореха грецкого. Наибольшее количество окислительных полифенолов содержит водный экстракт (5,44 %), наименьшее – водно-спиртовой 96 % (3,12 %). Количество полифенольных соединений в водно-спиртовых 30 %, 70 %, 96 % экстрактах не имеет достоверных отличий и составляет 3,28 %, 3,50 %, 3,12 %.

I. V. Zalygina, H. A. Podpletnya, K. V. Sokolova

## DETERMINATION OF OXIDATIVE POLYPHENOLS IN THE COMPOSITION OF THICK EXTRACTS FROM IMMATURE WALNUT FRUIT

**Keywords:** dense extract hydro-alcoholic from unripe fruits of walnut, oxidative polyphenols permanganometry method of biologically active substances.

By the method of permanganometry, the content of oxidizing polyphenols in the composition of all the studied thick extracts from immature walnut fruit was determined. The greatest number of oxidative polyphenols contains water extract (5.44 %), the lowest – water-alcohol 96 % (3.12 %). The number of polyphenol compounds in water-alcoholic 30 %, 70 %, 96 % extracts has no significant differences and is 3.28 %, 3.50 %, 3.12 %.



УДК 615.014.07:582.921-035.22:547.972.2/3

## ВИЗНАЧЕННЯ ФЛАВОНОЇДІВ ТИРЛИЧУ ХРЕЩАТОГО ТРАВИ (*GENTIANA CRUCIATA* L.)

- С. М. Марчишин, д. фарм. н., проф., зав. каф. фармакогн. з мед. ботан.  
Л. І. Стойко, асист. каф. управ. та екон. фармац. з техн. лік.  
Л. М. Мосула, к. фарм. н., доц. каф. фарм. хімії

- ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»

**Флавоноїди** – біологічно активні сполуки, активність яких обумовлена наявністю в молекулі вільних гідроксильних та карбонільної груп. Ці сполуки зазнають різноманітних біохімічних змін та беруть участь у багатьох фізіологічних процесах. Вони виявляють антиоксидантну дію, внаслідок чого затримують процеси старіння та канцерогенезу; мають виражені гепатопротекторні властивості, проявляють капіляррозміцнювальну (Р-вітамінну), протизапальну, репаративну, діуретичну, гіпотензивну, кардіотонічну, спазмолітичну, протирадіаційну, жовчогінну, антиалергічну, гіпоглікемічну та гіполіпідемічну активність. Ряд флавоноїдів мають здатність інгібувати вивільнення гістаміну та  $\text{Ca}^{2+}$  – АТФазу, яка регулює надходження іонів  $\text{Ca}^{2+}$  в опасисті клітини після дії на них антигену [3, 10].

Попереднє вивчення хімічного складу тирличу хрещатого трави показало, що сировина містить кислоти гідроксикоричні, органічні, аскорбінову, амінокислоти, ксантони, дубильні речовини, леткі сполуки, хлорофіли, каротиноїди, макро- та мікроелементи [1, 2, 5, 6, 9]. Недостатньо вивченими біологічно активними речовинами (БАР) тирличу хрещатого трави є флавоноїди.

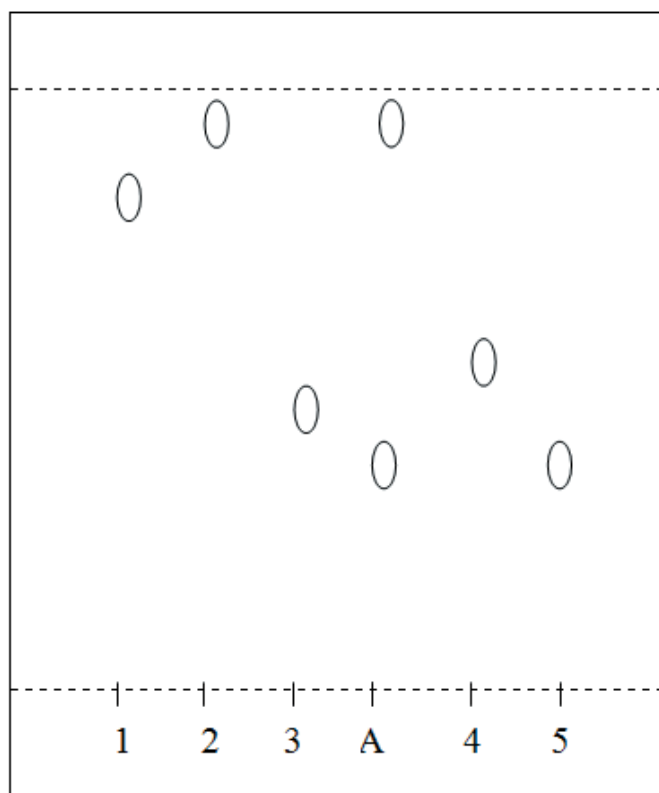


Рис. 1. ТЛХ-хроматограма спиртово-водної витяжки тирличу хрещатого трави: А – екстракт трави, 1 – кемпферол, 2 – апігенін, 3 – кверцетин, 4 – лутеолін, 5 – рутин.

Хроматографічна пластинка марки «Сорбфіл» (Sorbfil plates 10x15, Росія). Система розчинників: н-бутанол Р – кислота ацетатна льодяна Р – вода Р (4:1:2).

Враховуючи значну фармакологічну активність флавоноїдів, метою нашої роботи було встановлення якісного складу та визначення кількісного вмісту цих БАР у тирличу хрещатого трави.

## Матеріали та методи дослідження

Об'єктом досліджень була тирличу хрещатого (*Gentiana cruciata* L.) трава. Досліджувану сировину заготовляли у період цвітіння рослини на території урочища Волове Тернопільської області в 2014 році.

Для встановлення наявності флавоноїдів досліджували спиртово-водну витяжку тирличу хрещатого трави. Ідентифікацію флавоноїдів проводили за допомогою ціанідинової реакції.

Флавоноїди також ідентифікували методом тонкошарової хроматографії (ТЛХ) у системі розчинників н-бутанол Р – кислота ацетатна льодяна Р – вода Р (4:1:2). Хроматограми висушували та розглядали при денному і УФ-світлі до та після обробки парами амоніаку (реактив А) [8].

Ідентифікацію проводили, порівнюючи значення  $R_f$  флавоноїдів, які є в досліджуваній сировині, зі значеннями  $R_f$  стандартних зразків (рутин, апігенін, кверцетин, гіперозид, лутеолін), за забарвленням плям у денному та УФ-світлі до і після обробки хроматограм реактивом А.

Кількісний вміст суми флавоноїдів визначали спектрофотометричним методом на спектрофотометрі Lambda 25 Perkin Elmer (США).

Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на рутин і абсолютно суху сировину, у відсотках, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \times m_0 \times 30 \times 25 \times 100 \times 100}{A_0 \times m \times 1 \times 100 \times 25 \times (100 - W)}, \text{ де:}$$

А – оптична густина випробуваного розчину;

$A_0$  – оптична густина ФСЗ рутину;

m – маса наважки сировини, г;

$m_0$  – маса наважки ФСЗ рутину, г;

W – втрати в масі при висушуванні сировини, % [7].

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту флавоноїдів у траві *Gentiana cruciata* L. проводили також методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Хроматографічне розділення проводили на рідинному хроматографі Agilent 1200 (Agilent Technologies, США) з діодноматричним детектором G1315C, на колонці Supelco Discovery C18 розміром 250×4,6 мм із сорбентом – силікагель із діаметром зерен 5 мкм, при температурі термостата колонки 25 °С. Введення 10 мкл проби здійснювали автосамплером, швидкість потоку – 0,7 мл/хв.

Для приготування рухомої фази використовували ацетонітрил марки Chromasolv gradient grade, for HPLC, > 99,9 % (Sigma-Aldrich), кислоту ортофосфатну – Chromasolv gradient grade, for HPLC, > 99,9 % (Sigma-Aldrich), бідистильовану воду отримували на Simplicity SIMSV00 Water Purification System Millipore – (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). Для екстракції флавоноїдів застосовували метанол марки Chromasolv gradient grade,

for HPLC, > 99,9 % (Sigma-Aldrich). Стандартні речовини – рутин (Sigma-Aldrich), лютеолін (Sigma-Aldrich), гіперозид (Sigma-Aldrich), апігенін (Sigma-Aldrich), кверцетин (Sigma-Aldrich), кемпферол (Sigma-Aldrich), ізокемпферол (Sigma-Aldrich).

Підготовка проб для аналізу: 1,00 г (точна наважка) подрібненої сировини екстрагували 50 мл метанолу 60 % Р протягом 15 хв на водяній бані зі зворотним холодильником при перемішуванні. Фільтрували, кількісно перенесли у мірну колбу місткістю 100 мл та доводили об'єм розчину метанолом 60 % Р до позначки. Одержаний розчин фільтрували через мембранный фільтр з розміром пор 0,45 мкм.

Для поділу фенольних сполук застосовувались такі умови: градієнтне елюювання сумішшю бідистильованої води підкисленої кислотою ортофосфатною до рН = 2,85 (А) і ацетонітрилу (В): 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 % при довжині детектування 255 і 340 нм [4].

Індивідуальні флавоноїди ідентифікували за результатами часів утримання та порівнянням одержаних спектрів з УФ-спектрами стандартних зразків. Вміст розраховували за градуальною характеристикою (залежність площі хроматографічного піка від масової концентрації стандартного зразка).

## Результати дослідження та їх обговорення

При проведенні ціанідинової реакції спостерігали появу малинового забарвлення, яке свідчило про наявність флавоноїдів у досліджуваній сировині – похідних флавонолу.

Методом ТШХ було встановлено наявність рутину і апігеніну у тирличу хрещатого траві. Плями на хроматограмах були жовтого та жовто-коричневого кольору, їх значення  $R_f$  співпадали зі значеннями  $R_f$  стандартних зразків флавоноїдів (рис. 1).

У тирличу хрещатого траві методом ВЕРХ виявлено індивідуальні флавоноїди та встановлено їх кількісний вміст. Результати дослідження наведено на рисунку 2 і в таблиці.

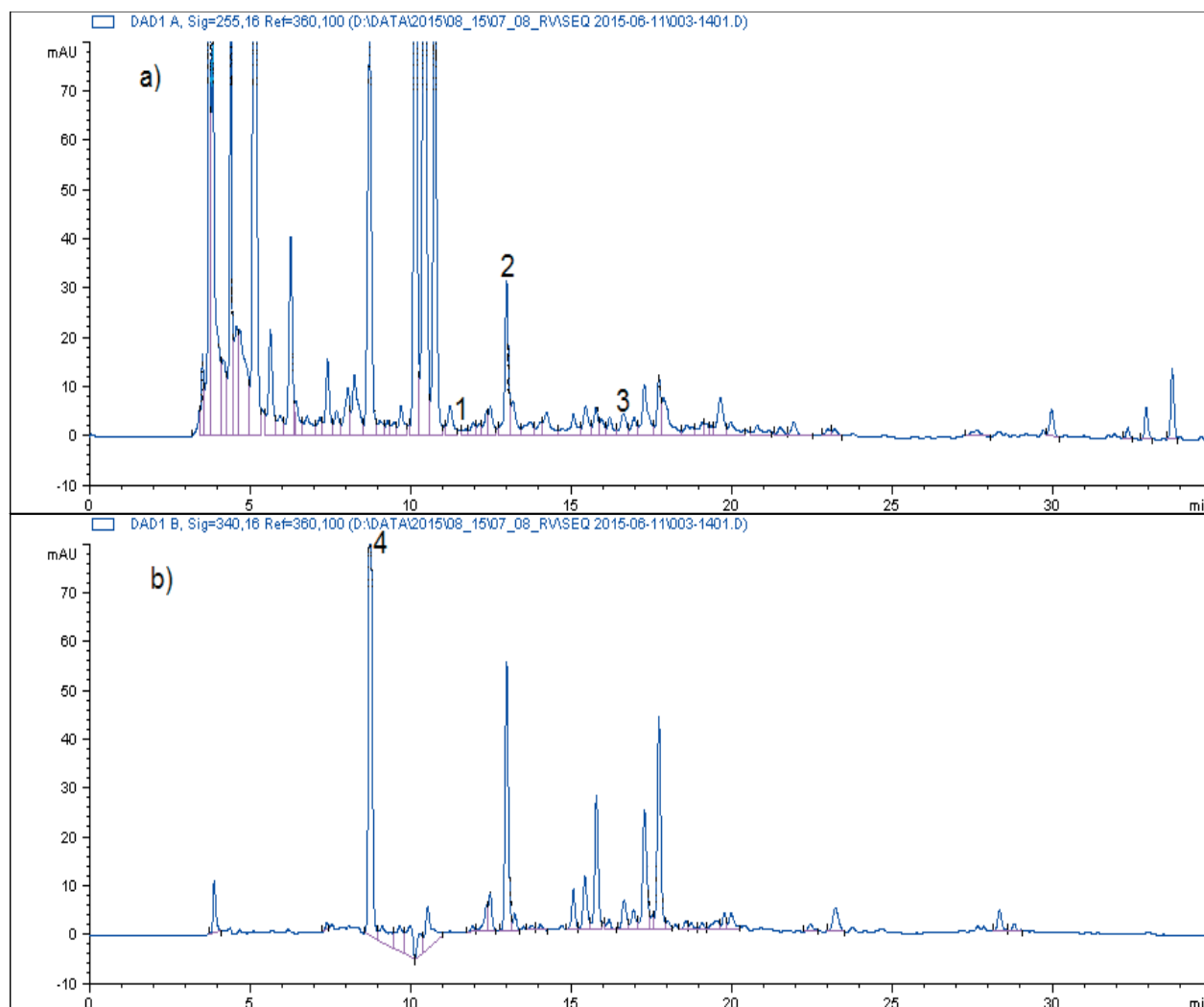


Рис. 2. ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів тирличу хрещатого траві при а)  $\lambda = 255$  нм, б)  $\lambda = 340$  нм:  
1 – гіперозид, 2 – рутин, 3 – лютеолін, 4 – апігенін.

Таблиця

Якісний склад та кількісний вміст індивідуальних флавоноїдів тирличу хрещатого трави

Назва сполуки	УФ-спектр $\lambda$ тах, нм	Кількісний вміст, %
Апігенін	340	0,03
Лютеолін	255	0,01
Гіперозид	255	0,002
Рутин	255	0,11

Кількісний вміст суми флавоноїдів, визначених спектрофотометричним методом, у перерахунку на рутин та абсолютно сухої сировини, становив  $(2,88 \pm 0,04) \%$ .

## Література

1. Визначення якісного складу та кількісного вмісту кислот гідроксикоричних у тирличу хрещатого трави (*Gentiana cruciata* L.) / С. М. Марчишин, Л. І. Стойко, І. С. Дахм // Фармац. журн. – 2016. – № 3-4. – С. 76-81.
2. Дослідження хімічного складу деяких рослин родини *Gentianaceae* / С. М. Марчишин, Л. І. Стойко, О. О. Покошило // Мед. та клін. хімія. – 2017. – № 3. – С. 23-28.
3. Лікарські рослини і фітотерапія (фітотерапевтична рецептура) / Л. В. Бензель, Р. Є. Дармограй, П. В. Олійник, І. Л. Бензель – К.: Медицина, 2010. – 400 с.
4. Марчишин С. М. Визначення фенольних сполук у траві *Centaureum erythraea* Rafn. методом ВЕРХ / С. М. Марчишин, Л. І. Стойко // Фармац. час. – 2014. – № 1(29). – С. 15-17.
5. Марчишин С. М. Дослідження макро- та мікроелементного складу трави тирличу хрещатого (*Gentiana cruciata* L.) / С. М. Марчишин, Л. І. Стойко // Матеріали II Міжнародної науково-практичної internet-конференції. – Харків, 21-23 березня 2016. – С. 163-165.
6. Марчишин С. М. Леткі сполуки золототисячника звичайного (*Centaureum erythraea* Rafn.) і тирличу хрещатого (*Gentiana cruciata* L.)

## Висновки

1. У результаті проведення реакцій ідентифікації встановлено наявність флавоноїдів у траві тирличу хрещатого. Методом ТНХ у досліджуваній сировині виявлено рутин та апігенін.

2. Методом ВЕРХ встановлено якісний склад та визначено кількісний вміст індивідуальних сполук флавоноїдної природи. Встановлено наявність рутину, апігеніну, лутеоліну та гіперозиду, вміст яких становив 0,11 %, 0,03 %, 0,01 % та 0,002 % відповідно.

3. Спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст суми флавоноїдів у траві тирличу хрещатого, який становив  $(2,88 \pm 0,04) \%$ .

трави / С. М. Марчишин, Л. І. Стойко // Фітотер.Час. – 2016. – № 3. – С. 45-48.

7. Марчишин С. М., Гусак Л. В., Бердей Т. С. Дослідження флавоноїдів у траві та кореневих бульбах чистецю Зібольда (*Stachys sieboldii* MIQ.). // Фітотер. Час. 2017. – № 1. – С. 27-30.

8. Солодовниченко Н. М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати: посіб. з фармакогнозії з основами біохімії лікар. рослин / Н. М. Солодовниченко, М. С. Журавльов, В. Н. Ковальов. – Харків: Вид-во НФаУ. Золоті сторінки, 2001. – 408 с.

9. Стойко Л. І. Амінокислотний склад трави тирличу хрещатого / Л. І. Стойко, О. Б. Калуща // Хімія природ. спол.: IV Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 21-22 квіт. 2016 р. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2016. – С. 54-55.

10. Фармакогнозія: базовий підруч. для студ. вищ. фармац. навч. закл. (фармац. ф-тів) IV рівня акредитації / [В. С. Кисличенко, І. О. Журавель, С. М. Марчишин та ін.]. – Харків: НФаУ: Золоті сторінки, 2015. – 736 с.

Надійшла до редакції 05.06.2018

УДК 615.014.07:582.921-035.22:547.972.2/3

### С. М. Марчишин, Л. І. Стойко, Л. М. Мосула ВИЗНАЧЕННЯ ФЛАВОНОЇДІВ ТИРЛИЧУ ХРЕЩАТОГО ТРАВИ (*GENTIANA CRUCIATA* L.)

**Ключові слова:** тирлич хрещатий, флавоноїди, тонкошарова хроматографія, високоефективна рідинна хроматографія, спектрофотометрія, рутин.

Вперше вивчено якісний склад та визначено кількісний вміст флавоноїдів тирличу хрещатого трави, заготовленої на території України. Методом тонкошарової хроматографії встановлено наявність рутину і апігеніну у тирличу хрещатого трави. Спектрофотометричним методом у досліджуваному об'єкті визначено вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин, який становив  $(2,88 \pm 0,04) \%$ . Методом ВЕРХ визначено індивідуальні сполуки флавоноїдної природи, вміст яких становив: рутин – 0,11 %, апігенін – 0,03 %, лутеолін – 0,01 %, гіперозид – 0,002 %.

### С. М. Марчишин, Л. І. Стойко, Л. М. Мосула ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ ГОРЕЧАВКИ КРЕСТОВИДНОЙ ТРАВЫ (*GENTIANA CRUCIATA* L.)

**Ключевые слова:** горечавка крестовидная, флавоноиды, тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, спектрофотометрия, рутин.

Впервые изучен качественный состав и определено количественное содержание флавоноидов горечавки крестовидной травы, заготовленной

на территории Украины. Методом тонкослойной хроматографии установлено наличие рутина и апигенина в горечавки крестовидной траве. Спектрофотометрическим методом в исследуемом объекте установлено содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, который составлял  $(2,88 \pm 0,04) \%$ . Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определены индивидуальные соединения флавоноидной природы, содержание которых составляло: рутин – 0,11%, апигенин – 0,03 %, лутеолина – 0,01 %, гиперозида – 0,002 %.

### S. M. Marchyshyn, L. I. Stoiko, L. M. Mosula DETERMINATION OF FLAVONOIDS OF *GENTIANA CRUCIATA* L. HERB

**Keywords:** *Gentiana cruciata* L., flavonoids, thin layer chromatography, high performance liquid chromatography, spectrophotometry, rutin.

For the first time, the qualitative composition and the quantitative content of flavonoids of *Gentiana cruciata* L. herb, harvested on the territory of Ukraine, was determined. The method of thin-layer chromatography confirmed the presence of rutin and apigenin in *Gentiana cruciata* L. herb. Using spectrophotometric method the content of total flavonoids in terms of rutin  $(2,88 \pm 0,04) \%$  was determined in the investigated object. The high performance liquid chromatography method identified individual compounds of flavonoid nature: rutin – 0.11%, apigenin – 0.03%, luteolin – 0.01%, hyperoside – 0.002%.

