

Рекомендована д. фармац. наук, проф. В. М. Ковальовим

УДК 582.736.3-035.27-07:547.814.5

## ДОСЛІДЖЕННЯ ЗІ СТАНДАРТИЗАЦІЇ СТУЛОК ПЛОДІВ КВАСОЛІ ЗА ВМІСТОМ ФЛАВОНОЇДІВ

©Л. В. Вронська

Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського

**Резюме:** досліджено якісний склад флавоноїдів стулок плодів квасолі, запропоновано ТШХ методику ідентифікації та спектрофотометричну методику їх кількісного визначення.

**Ключові слова:** стулки плодів, квасоля звичайна, флавоноїди, стандартизація.

**Вступ.** В Україні вирощуються різні сорти квасолі звичайної для отримання овочевої продукції, а стулки бобів застосовують у лікарських цілях [1-3]. У медицині стулки плодів квасолі відомі під назвою *Phaseoli pericarpium*, мають цукрознижуючу дію завдяки чому їх називають "рослинним інсуліном" і вважається, що стулки плодів всіх сортів квасолі звичайної придатні для застосування. Так, відомо, що одна склянка настою стулок квасолі відповідає 3 одиницям інсуліну [1]. Для підсилення цукрознижувального ефекту їх застосовують в сумішах з іншою лікарською рослинною сировиною (ЛРС), наприклад, з листям чорниці звичайної. Як лікарські засоби зареєстровано квасолі стулки плодів (ЗАТ "Ліктрави", Україна) і збір "Арфазетин" (ЗАТ "Ліктрави", Україна), у складі якого є чорниці звичайної пагони, квасолі звичайної стулки плодів, елеутерококу колючого кореневища і корені, шипшини плоди, хвоща польового трава, звіробою трава, ромашки квітки.

Для забезпечення доведеного і відтворюваного фармакологічного ефекту лікарського засобу необхідним є становлення чітких його якісних і кількісних характеристик. Рівень стандартизації ЛРС стулок плодів квасолі на сьогодні є недостатнім – відсутня об'єктивна ідентифікація і кількісне визначення цієї сировини. У відповідній аналітико-нормативній документації наведено опис ЛРС, а саме: вимоги мікроскопічного дослідження, втрати у масі при висушуванні, показників золи не розчинної в кислоті хлористоводневій, сторонніх домішок різного походження, ситового аналізу, органічних і мінеральних домішок; кількісним показником якості обрано вміст екстрактивних речовин, які вилучаються 40 % спиртом. Така методологія стандартизації ЛРС не відповідає сучасним підходам до встановлення критеріїв якості ЛЗ. Тому актуальним є вивчення БАР стулок плодів квасолі звичайної з метою вибору з них активних або

аналітичних маркерів для встановлення об'єктивних ідентифікаційних і кількісних показників якості даної ЛРС.

Мета дослідження – вивчення складу і вмісту флавоноїдів стулок плодів квасолі звичайної, розробка методик ідентифікації і кількісного визначення.

**Методи дослідження.** Дослідження проводили на семи зразках стулок плодів, які належали до кущового типу квасолі звичайної.

Дослідження якісного складу флавоноїдів проводили методом ТШХ, для кількісного визначення застосовували спектрофотометрію.

Для ідентифікації флавоноїдів використовували стандартні зразки рутину, лютеолін-7-О-глюкозиду, апігенін-7-О-глюкозиду, кверцитрину, ізокверцитрину, гіперозиду, кверцетину, лютеоліну, апігеніну, кемпферолу, нарингеніну, мірицетину, ізорамнетину (Sigma, Aldrich, Fluka). У методі тонкошарової хроматографії застосували хроматографічні пластинки Silica gel 60 F254 ("Merck", Німеччина), а також хроматографічні камери, прилад для нанесення проб Linomat 5 і лампу для перегляду хроматограм в ультрафіолетовому світлі ("CAMAG", Швейцарія).

Використовували етилацетат, кислоту оцтову льодяну, кислоту мурашину безводну, аміноетиловий ефір дифенілборної кислоти та макрогол 400 кваліфікації, яка відповідає вимогам ДФУ, а також готували за тими ж вимогами їхні розчини чи рухомі фази з ними [4].

**Результати й обговорення.** Щодо якісного складу флавоноїдів стулок плодів квасолі звичайної відомо про присутність глікозидів (глюкуронозидів і глюкозидів) кверцетину й кемпферолу [1-3]. Для ідентифікації глікозидних форм флавоноїдів застосовували три системи розчинників: 1 – мурашина кислота – вода – етилацетат (6:9:90), 2 – етилацетат – оцтова кислота – вода (5:1:1) і 3 – мурашина кислота – оцтова кислота – вода – етилацетат (7,5:7,5:17:

7,5). Вилучення флавоноїдів проводили шляхом кип'ятіння 2 г подрібненої сировини з 25 мл метанолу протягом 1 год. Проявку хроматограм проводили в ультрафіолетовому (УФ) світлі з довжиною хвилі 365 нм після попередньої їх обробки метанольними розчинами аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти та макроголу 400. Флавоноїди, які мають агліконом квер-

цетин, при перегляді у вказаному УФ-світлі, виявляються як зони з оранжевою флуоресценцією. Результати дослідження 7 зразків ЛРС kwasoli стулки плодів наведено в таблиці 1.

Результати ТШХ-досліджень, отримані в трьох системах розчинників, дозволяють ідентифікувати в усіх зразках рутин, в двох системах – ізокверцитрин, а також в окремих зразках дослі-

**Таблиця 1.** Результати дослідження якісного складу флавоноїдів глікозидів kwasoli стулок плодів

Значення R <sub>F</sub> зони на хроматограмах витягів із 1–7 зразків kwasoli стулки плодів						
1	2	3	4	5	6	7
Система 1						
0,06 (рутин)	0,06 (рутин)	0,06 (рутин)	0,06 (рутин)	0,06 (рутин)	0,06 (рутин)	0,06 (рутин)
0,16 (інтенсивна оранжева зона)	0,16 (інтенсивна оранжева зона)	0,16 (інтенсивна оранжева зона)	0,16 (інтенсивна оранжева зона)	0,16 (інтенсивна оранжева зона)	0,16 (інтенсивна оранжева зона)	0,16 (інтенсивна оранжева зона)
0,25 (ізокверцитрин)	0,23 (ізокверцитрин)	0,24 (ізокверцитрин)	0,23 (ізокверцитрин)	0,24 (ізокверцитрин)	0,25 (ізокверцитрин)	0,24 (ізокверцитрин)
0,28 (фіол.)	-	-	0,28 (фіол.)	-	0,28 (фіол.)	0,28 (фіол.)
0,71 (блід.-фіол.)	0,71 (блід.-фіол.)	-	0,71 (блід.-фіол.)	0,71 (блід.-фіол.)	0,71 (блід.-фіол.)	0,71 (блід.-фіол.)
0,78 (блід.-фіол.)	0,78 (блід.-фіол.)	-	0,78 (блід.-фіол.)	-	0,78 (блід.-фіол.)	0,78 (блід.-фіол.)
0,82 (блід.-фіол.)	-	-	0,82 (блід.-фіол.)	0,82 (блід.-фіол.)	0,82 (блід.-фіол.)	0,82 (блід.-фіол.)
0,90 (блід.-фіол.)	0,90 (блід.-фіол.)	0,90 (блід.-фіол.)	0,90 (блід.-фіол.)	0,90 (блід.-фіол.)	0,90 (блід.-фіол.)	0,90 (блід.-фіол.)
0,94 (блід. рожев.-фіол.)	0,94 (блід. рожев.-фіол.)	0,94 (блід. рожев.-фіол.)	0,94 (блід. рожев.-фіол.)	0,94 (блід. рожев.-фіол.)	0,94 (блід. рожев.-фіол.)	0,94 (блід. рожев.-фіол.)
Система 2						
0,11 (фіол.)		0,11 (фіол.)	0,11 (фіол.)	0,11 (фіол.)	0,11 (фіол.)	0,11 (фіол.)
0,16 (рутин)	0,17 (рутин)	0,16 (рутин)	0,16 (рутин)	0,17 (рутин)	0,16 (рутин)	0,16 (рутин)
-	0,22 (оранж.)	0,25 (оранж.)	0,22 (оранж.)	0,24 (оранж.)	0,22 (оранж.)	0,22 (оранж.)
0,40 (фіол.)	-	-	0,40 (фіол.)	0,40 (фіол.)	0,40 (фіол.)	0,40 (фіол.)
0,46 (фіол.)	-	-	0,45 (фіол.)	0,45 (фіол.)	0,46 (фіол.)	0,46 (фіол.)
0,88 (оранж., кверцетин)	0,89 (оранж., кверцетин)	-	-	-	0,88 (оранж., кверцетин)	0,88 (оранж., кверцетин)
0,96 (яскр.-блак.)	0,95 (яскр.-блак.)	-	0,95 (яскр.-блак.)	0,95 (яскр.-блак.)	0,95 (яскр.-блак.)	0,96 (яскр.-блак.)
0,98 (яскр.-блак.)	0,98 (яскр.-блак.)	-	0,98 (яскр.-блак.)	0,98 (яскр.-блак.)	0,98 (яскр.-блак.)	0,98 (яскр.-блак.)
Система 3						
0,18 (синя)			0,18 (синя)	0,18 (синя)	0,18 (синя)	0,18 (синя)
0,29 (рутин)	0,27 (рутин)	0,29 (рутин)	0,29 (рутин)	0,29 (рутин)	0,29 (рутин)	0,29 (рутин)
0,43 (оранж.)	0,43 (оранж.)	0,42 (оранж.)	0,41 (оранж.)	0,42 (оранж.)	0,43 (оранж.)	0,43 (оранж.)
0,52 (ізокверцитрин)	0,52 (ізокверцитрин)		0,53 (ізокверцитрин)		0,52 (ізокверцитрин)	0,52 (ізокверцитрин)
0,58 (фіол.)	-	-	0,58 (фіол.)	0,58 (фіол.)	0,58 (фіол.)	0,58 (фіол.)
0,94 (оранж., кверцетин)	0,92 (оранж., кверцетин)	-	0,93 (оранж., кверцетин)	0,93 (оранж., кверцетин)	0,94 (оранж., кверцетин)	0,94 (оранж., кверцетин)
0,97 (інтенс. блід.-фіол.)	0,97 (інтенс. блід.-фіол.)	0,97 (інтенс. блід.-фіол.)	0,97 (інтенс. блід.-фіол.)	0,97 (інтенс. блід.-фіол.)	0,97 (інтенс. блід.-фіол.)	0,97 (інтенс. блід.-фіол.)
0,99 (інтенс. блід.-фіол.)	0,99 (інтенс. блід.-фіол.)	0,99 (інтенс. блід.-фіол.)	0,99 (інтенс. блід.-фіол.)	0,99 (інтенс. блід.-фіол.)	0,99 (інтенс. блід.-фіол.)	0,99 (інтенс. блід.-фіол.)

джуваної ЛРС кверцетин. Кращою системою розчинників для ідентифікації флавоноїдів kwasолі стулок плодів, за роздільною здатністю, запропоновано вибрати першу або третю, оскільки у другій системі розчинників зони речовин дещо розмиваються, на хроматограмі як випробовуваного, так і розчину порівняння.

Для з'ясування агліконової природи флавоноїдів ми обрали такі системи розчинників для ТШХ: 1 – хлороформ – оцтова кислота (5 : 2), 2 – бензол – метанол (8 : 2). Обробку хроматограм проводили аналогічно як при випробуванні і їх глікозидних форм. Аглікони проявлялись зонами на хроматограмах з наступним ко-

льором флуоресценції: апігенін – жовто-салатової, лютеолін – жовто-оранжевої, кверцетин і мірицитин – оранжевої, кемпферол – блакитно-салатової ("морська хвиля"), ізорамнетин – світло-зеленої, нарингенін – яскраво-салатової.

Зразки для цього дослідження готували шляхом нагрівання наважки сировини з ацетоном в присутності кислоти хлористоводневої з наступним екстрагуванням агліконів етилацетатом. Для отримання випробовуваного розчину отримані етилацетатні розчини агліконів випаровували до вологого залишку і розчиняли у метанолі. Результати ідентифікації агліконів флавоноїдів kwasолі стулок плодів наведено в таблиці 2.

**Таблиця 2.** Результати дослідження якісного складу агліконів флавоноїдів kwasолі стулок плодів

Значення R <sub>f</sub> зони на хроматограмах витягів із 1–7 зразків kwasолі стулки плодів						
1	2	3	4	5	6	7
Система 1						
0,13 (кверцетин)	0,16 (кверцетин)	0,14 (кверцетин)	0,15 (кверцетин)	0,14 (кверцетин)	0,15 (кверцетин)	0,15 (кверцетин)
0,32 (кемпферол)	0,32 (кемпферол)	0,32 (кемпферол)	0,31 (кемпферол)	0,32 (кемпферол)	-	0,31 (кемпферол)
0,36 (синя)	0,36 (синя)	0,36 (синя)	0,36 (синя)	0,36 (синя)	0,36 (синя)	0,36 (синя)
0,47 (синя)	0,46 (синя)	0,47 (синя)	0,47 (синя)	0,47 (синя)	0,47 (синя)	0,47 (синя)
0,55 (синя)	0,56 (синя)	0,55 (синя)	0,57 (синя)	0,55 (синя)	0,52 (синя)	0,55 (синя)
0,76 (синя)	0,76 (синя)	0,75 (синя)	0,76 (синя)	0,75 (синя)	0,75 (синя)	0,75 (синя)
0,83 (синя)	0,82 (синя)	0,82 (синя)	0,83 (синя)	0,83 (синя)	0,82 (синя)	0,83 (синя)
0,96 (блакитна)	-	0,94 (блакитна)	-	-	0,96 (блакитна)	-
система 2						
0,04 (фіол.)	0,04 (фіол.)	0,03 (фіол.)	0,04 (фіол.)	0,04 (фіол.)	0,05 (фіол.)	0,05 (фіол.)
0,26 (кверцетин)	0,24 (кверцетин)	0,24 (кверцетин)	0,26 (кверцетин)	0,26 (кверцетин)	0,26 (кверцетин)	0,24 (кверцетин)
0,37 (кемпферол)	0,37 (кемпферол)	0,37 (кемпферол)	0,37 (кемпферол)	0,36 (кемпферол)	0,36 (кемпферол)	0,37 (кемпферол)
0,46 (синьо-фіол.)	0,46 (синьо-фіол.)	0,46 (синьо-фіол.)	0,46 (синьо-фіол.)	0,46 (синьо-фіол.)	0,45 (синьо-фіол.)	0,45 (синьо-фіол.)
0,82 (блакитна)	-	0,82 (блакитна)	-	-	0,82 (блакитна)	-

Як впливає з результатів таблиці 2, агліконовий склад флавоноїдів kwasолі стулок плодів представлений головним чином кверцетином, кількість кемпферолу значно менша. За роздільною здатністю, стосовно БАР kwasолі стулок плодів, кращою є система 1 – хлороформ – оцтова кислота (5 : 2), у якій спостерігаються чіткі зони речовин.

Узагальнюючи отримані результати хроматографічних досліджень, можна показником якості ЛРС kwasолі стулок плодів запропонувати хроматографічне виявлення флавоноїдів, а критерієм якості – наявність на хроматограмах випробовуваного розчину трьох зон флавоноїдів: зони рутину і ще двох зон оранжевої флуоресценції, одна з яких розміщується нижче зони

кислоти хлорогенової на хроматограмі розчину порівняння, а друга – вище зони гіперозиду на хроматограмі розчину порівняння.

#### Методика ідентифікації флавоноїдів.

Випробовуваний розчин. 2 г здрібненої на порошок сировини поміщають у конічну колбу місткістю 50 мл, додають 25 мл метанолу Р і кип'ятять на водяній бані зі зворотним холодильником 1 год. Колбу з вмістом охолоджують, отриманий витяг фільтрують через паперовий фільтр "червона стрічка" у конічну колбу місткістю 25 мл, декантуючи рідину. Колбу і фільтр промивають метанолом Р, доводячи об'єм фільтрату до позначки, перемішують.

Розчин порівняння. 0,5 мг СЗ кислоти хлорогенової (Fluka), 0,5 мг СЗ рутину (Fluka), 0,5 мг

СЗ гіперозиду (ДФУ), 0,5 мг СЗ кверцетину (Fluka) розчиняють у 10,0 мл метанолу Р.

Пластинка: ТШХ силікагелева пластинка Р (5-40 мкм).

Рухома фаза: кислота мурашина безводна Р – вода Р – еталацетат Р (6:9:90) (об/об).

Нанесення перед хроматографуванням: 30 мкл випробовуваного розчину і 10 мкл розчину порівняння смугами завдовжки 0,5 см.

Висушування після хроматографування: на повітрі.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 12 см.

Висушування перед проявкою: у сушильній шафі при температурі 100 – 105 °С протягом 10 хв.

Виявлення: теплу пластинку обприскують розчином 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти Р у метанолі Р, сушать на повітрі. Потім пластинку обприскують розчином 50 г/л макрогону 400 Р у метанолі Р, сушать на повітрі протягом 30 хв і переглядають в УФ-світлі з довжиною хвилі 365 нм.

Результати: на хроматограмі розчину порівняння повинні виявлятися (у порядку зростання  $R_f$ ): жовто-оранжева флуоресцююча зона,

відповідна рутину; блакитна флуоресцююча зона, відповідна кислоті хлорогеновій; жовто-оранжева флуоресцююча зона, відповідна гіперозиду; жовто-оранжева флуоресцююча зона, відповідна кверцетину.

На хроматограмі випробовуваного розчину мають виявлятися: інтенсивна жовто-оранжева флуоресцююча зона на рівні зони рутину на хроматограмі розчину порівняння; дуже інтенсивна жовто-оранжева флуоресцююча зона незначно нижче зони кислоти хлорогенової на хроматограмі розчину порівняння; інтенсивна жовто-оранжева флуоресцююча зона вище зони гіперозиду на хроматограмі розчину порівняння; 3 фіолетово-сині інтенсивні зони нижче, на рівні і вище зони кверцетину на хроматограмі розчину порівняння. Можуть виявлятися інші зони жовто-оранжевої і синьої, фіолетової та фіолетово-блакитної флуоресценції (інші біологічно активні речовини).

Аналіз і узагальнення результатів дослідження дозволяють запропонувати наступні вимоги до вигляду хроматограми випробовуваного розчину при ідентифікації флавоноїдів ЛРС kwasoli стулки плодів (рис. 1).

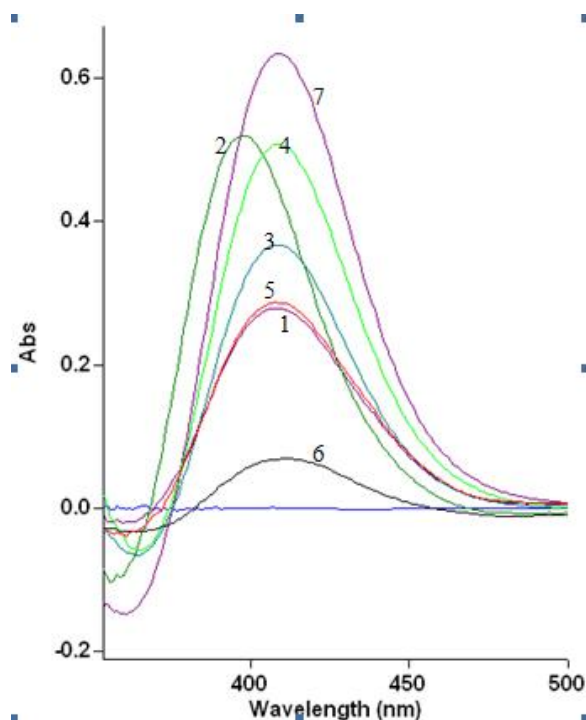
**Рис. 1.** Схема хроматограми в умовах ідентифікації флавоноїдів ЛРС kwasoli стулки плодів після обробки розчином аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти і макрогону при перегляді в УФ-світлі з довжиною хвилі 365 нм.

Верхня частина пластинки	
<i>Кверцетин:</i> жовто-оранжева флуоресцююча зона	яскраво-блакитна флуоресцююча зона фіолетово-блакитна флуоресцююча зона фіолетово-синя флуоресцююча зона
<i>Гіперозид:</i> жовто-оранжева флуоресцююча зона	жовто-оранжева флуоресцююча зона
<i>Кислота хлорогенова:</i> блакитна флуоресцююча зона	<i>дуже інтенсивна</i> жовто-оранжева флуоресцююча зона
<i>Рутин:</i> жовто-оранжева флуоресцююча зона	жовто-оранжева флуоресцююча зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

При ідентифікації глікозидного складу флавоноїдів встановлено наявність ізокверцитрину, але через високу вартість стандартного зразка і невисоку його доступність – нефармакопейний стандарт, вважаємо недоцільним його введення в розчин порівняння та наступну його ідентифікацію на хроматограмі розчину порівняння – дещо вище зони гіперозиду. Натомість запропоновані стандартні зразки рутину, кислоти хлорогенової, гіперозиду і кверцетину є відносно доступні і типові при встановленні тотожності багатьох видів ЛРС.

При вивченні спектрів поглинання спиртових (70 % (об/об)) витягів з ЛРС kwasoli стулок плодів (зразки 1-7, рис. 2) в умовах комплексоутворення з алюмінієм хлоридом було встановлено, що максимум поглинання знаходиться при довжині хвилі (408 ± 2) нм, як і максимум погли-

нання при довжині хвилі (408 ± 2) нм, як і максимум погли-



**Рис. 2.** Диференціальні електронні спектри поглинання випробовуваних розчинів в умовах кількісного визначення флавоноїдів в ЛРС kwasолі стулки плодів для зразків сировини 1-7.

нання комплексу рутину з алюміній хлоридом в аналогічних умовах. Тому при розрахунках вмісту суми флавоноїдів ми запропонували застосовувати стандартний зразок рутину.

При розробці методики кількісного визначення флавоноїдів досліджено вплив концентрації спирту етилового, часу прободіготовки, маси наважки сировини на ступінь вилучення флавоноїдів. Оскільки флавоноїдний склад представлений глікозидними формами, то, починаючи з 40 % концентрації спирту етилового і до 90 %, статистично значущого впливу на повноту вилучення флавоноїдів з ЛРС при нагріванні на киплячій водяній бані не спостерігалось. Проте нижчі концентрації спиртів (40-50 % (об/об)) при нагріванні суттєво вилучають речовини білкової природи, які утруднювали фільтрування отримуваних витягів і навіть 15-хвилинне центрифугування проб витягів при 7000 об/хв не дозволяло отримувати прозорі розчини. Тому було вирішено проводити вилучення флавоноїдів за допомогою 70 % спирту етилового – проби витягів мають зависі речовин білкової природи, які легко відцентрифугуються. При виборі співвідношення наважки сировини і екстрагенту для прободіготовки досліджувались співвідношення від 1:100 до 1:25. Останнє було обрано як оптимальне, виходячи з вмісту флавоноїдів у сировині та враховуючи необхідність відбору

репрезентативної аліквоти для подальшої фотометричної реакції. Випробування щодо тривалості прободіготовки, а саме часу кип'ятіння сировини з екстрагентом, то оптимальним визначено трикратне вилучення протягом 30, 15 і 15 хв відповідно.

*Методика кількісного визначення флавоноїдів.*

Вихідний розчин. 4 г (точна наважка) здрібненої на порошок сировини поміщують в плоскодонну колбу місткістю 100 мл, додають 50 мл спирту (70 % (об/об)) і кип'ятять на водяній бані зі зворотним холодильником протягом 30 хв. Колбу з вмістом охолоджують, отриманий витяг фільтрують через вату у мірну колбу місткістю 100 мл, декантуючи рідину. До шроту у колбі додають 25 мл спирту (70 % (об/об)) і продовжують кип'ятити на водяній бані зі зворотним холодильником протягом 15 хв. Колбу з вмістом охолоджують, витяг фільтрують у ту ж мірну колбу, об'єднуючи фільтрати. До шроту у колбі додають 15 мл спирту (70 % (об/об)) і продовжують кип'ятити на водяній бані зі зворотним холодильником протягом 15 хв. Колбу з вмістом охолоджують, витяг фільтрують у ту ж мірну колбу, об'єднуючи фільтрати. Шрот у колбі і фільтр промивають спиртом (70 % (об/об)), доводячи об'єм фільтрату у мірній колбі до позначки, перемішують. Отриманий витяг переносять у дві центрифужні пробірки місткістю 50 мл та центрифугують 15 хв при швидкості обертання 5000 об/хв. Надосадову рідину фільтрують у мірну колбу місткістю 100 мл (вихідний розчин).

Випробовуваний розчин. 10,0 мл вихідного розчину поміщують у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 10 мл спирту (70 % (об/об)), 3,0 мл 2 % спиртового (70 % (об/об)) розчину хлориду алюмінію і доводять об'єм отриманого розчину спиртом (70 % (об/об)) до позначки та перемішують.

Компенсаційний розчин. 10,0 мл вихідного розчину поміщують у мірну колбу місткістю 25 мл і доводять об'єм отриманого розчину спиртом (70 % (об/об)) до позначки та перемішують.

Розчин стандартного зразка рутину. 0,05 г (точна наважка) стандартного зразка рутину (Fluka) поміщують у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 70 мл спирту (70 % (об/об)), розчиняють та доводять об'єм розчину тим же розчином до позначки і перемішують.

Розчин порівняння. 1,0 мл розчину стандартного зразка рутину поміщують в мірну колбу місткістю 25 мл, додають 3,0 мл 2 % спиртового (70 % (об/об)) розчину алюміній хлориду і доводять об'єм розчину спиртом (70 % (об/об)) до позначки, перемішують.

Компенсаційний розчин. 1,0 мл розчину стандартного зразка рутину поміщують в мірну колбу



місткістю 25 мл та доводять об'єм розчину спиртом (70% (об/об)) до позначки, перемішують.

Оптичну густину випробовуваного розчину і розчину порівняння вимірюють через 45 хв після приготування при довжині хвилі (408 ± 2) нм відносно компенсаційних розчинів для кожного відповідно.

Вміст суми флавоноїдів у сировині (X) у відсотках та в перерахунку на рутин і суху сировину, розраховують за формулою:

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 100}{10 \cdot A_0 \cdot m \cdot (100 - W)},$$

**Таблиця 3.** Результати кількісного визначення флавоноїдів у квасолі стулках плодів

Зразок сировини	Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин, %
Тернопільська область, зразок 1	0,092 ± 0,002
Волинська область, зразок 2	0,171 ± 0,001
Волинська область, зразок 3	0,122 ± 0,001
Волинська область, зразок 4	0,166 ± 0,001
Тернопільська область, зразок 5	0,094 ± 0,002
Тернопільська область, зразок 6	0,023 ± 0,002
Волинська область, зразок 7	0,214 ± 0,001

Отримані значення вмісту флавоноїдів відрізняються для різних зразків сировини, що пов'язано як з умовами їх зростання, заготівлі, так, ймовірно, і залежать від сорту рослини, з якого отримали ЛРС квасолі стулки плодів. Згідно з діючою аналітико-нормативною документацією кількісним показником якості даної ЛРС є вміст екстрактивних речовин, які вилучаються 40 % спиртом. Для зразків 6 і 7 ми визначили їх вміст – 26,63 і 34,56 % відповідно (при критерії не менше 15 %). Обидва зразки відповідають даному критерію, проте сьомий зразок містить практично у 10 разів більше флавоноїдів при практично одному і тому ж якісному складі. Тому важливим є дослідження більшої кількості зразків квасолі стулок плодів з врахуванням сортової приналежності та географії зростання.

Флавоноїдам характерна різнобічна фармакологічна дія. Зокрема, авторами [5] показано, що флавоноїди підвищують антитромботичну функцію ендотелію і нормалізують баланс гемостазу крові при цукровому діабеті. Завдяки численним комплексним дослідженням причин виникнення цукрового діабету сформовано мультигенну концепцію розвитку цукрового діабету, яка дозволила відступити від "глюкоцентричної" терапії і обґрунтувати нові підходи до лікування даної недуги [6]. Зокрема наголошено на існуванні зв'язку між підвищенням рівнем вільних радикалів та інсулінорезистентністю, яка є патогенетичним підґрунтям розвитку ЦД 2 типу, метаболічного синдрому. Ми ж вказуємо на не-

де А – оптична густина випробовуваного розчину;

A0 – оптична густина розчину порівняння;

m0 – маса наважки стандартного зразка рутину, у грамах;

m – маса наважки сировини, взятої для аналізу, у грамах;

W – втрата в масі при висушуванні, у відсотках.

За запропонованою вище методикою проаналізовано сім досліджуваних зразків ЛРС квасолі стулки плодів та отримані результати вмісту флавоноїдів (табл. 3).

обхідність використання лікарських препаратів, здатних коригувати розвиток цукрового діабету шляхом послаблення токсичної дії вільних радикалів кисню та продуктів вільнорадикального окиснення (ВРО). Тому до комплексної фармакотерапії цукрового діабету включають антиоксиданти, що дозволяє знизити надмірну активність процесів ВРО, зокрема, в b-клітинах підшлункової залози та клітинах ендотелію.

Результати досліджень фармакологічної дії екстракту квіток софори японської на моделі алоксанового діабету у щурів показали, що препарат знижує рівень глюкози в крові, має позитивний вплив на ліпідний обмін, знижує прояви оксидативного стресу, усуває функціональну недостатність ензимсинтезуючих ланок печінки, підвищує антитоксичну спроможність гепатоцитів, покращує функціональну активність нирок. На думку авторів [7], позитивний вплив препарату на патогенез модельованого цукрового діабету пов'язаний з антиоксидантною дією флавоноїдів екстракту, які разом з іншими біологічно активними речовинами зумовлюють його мембраностабілізуючу дію. Показовими щодо важливості включення флавоноїдів ЛРС у схеми лікування інсуліннезалежного цукрового діабету є дослідження авторів [8]. Хворі на цироз печінки на фоні цукрового діабету 2-го типу протягом року приймали препарат розтопші плямистої, внаслідок чого рівень глікемії у них був значно нижчим, ніж у групи хворих, які не приймали даний комплекс. Однак авторами зазначається недостатній рівень доказовості

(рівень III, C) клінічної ефективності, що пов'язують з необхідністю більш тривалого і глибокого вивчення.

Отже, необхідне фармакологічне вивчення активності флавоноїдного комплексу даної сировини з метою напрацювання меж критерію для показника кількісного вмісту флавоноїдів в ЛРС стулочок плодів квасолі.

**Висновки.** 1. Для встановлення тотожності ЛРС стулочок плодів квасолі запропоновано ТШХ методику ідентифікації флавоноїдів, ідентифікаційним критерієм якості обрано наявність на

хроматограмі зон трьох флавоноїдів, з яких рутин і ізокверцитрин ідентифіковані.

2. Запропоновано спектрофотометричну методику кількісного визначення флавоноїдів у ЛРС квасолі стулочок плодів з перерахунком вмісту на рутин. Для напрацювання кількісного критерію якості необхідним є подальше дослідження більшої кількості зразків сировини, оскільки визначений вміст флавоноїдів семи досліджуваних зразків коливається у широких межах ( $0,023 \pm 0,002$ ) – ( $0,214 \pm 0,001$ ), а також необхідним є вивчення фармакологічної активності.

#### Література

1. Stanislaw Kohlm?nzer Farmakognozja / Warszawa, 2007. – S. 595.
2. Лекарственное растительное сырье. Фармакогнозия: учеб. пособие / под ред. Г. П. Яковлева и К. Ф. Блиновой. – СПб. : СпецЛит, 2004. – С. 442–443.
3. Ковальов В. М. Фармакогнозія з основами біохімії рослин / В. М. Ковальов, О. І. Павлій, Т. І. Ісакова. – Харків : "Прапор", 2000. – 703 с.
4. Державна Фармакопея України. – [1-е вид.] – Х. : РИРЕГ, 2001. – 556 с.
5. Влияние флавоноидов на основные параметры гемостаза крови и антитромботическую функцию эндотелия при сахарном диабете / И. Н. Тюренков, А. В. Воронков, А. А. Слиецанс [и др.] // Фармация. –

2012. – № 4. – С. 34–36.

6. Деримедвідь Л. В. Можливості застосування комбінацій природних антиоксидантів за умов первинної інсулінорезистентності / Л. В. Деримедвідь, І. П. Бухтіярова // Фармакологія та лікарська токсикологія – 2011. – № 2 (21). – С. 37–42.

7. Антидіабетична дія екстракту квіток софори японської / Р. Е. Джафарова, Г. Ш. Гараєв, З. С. Джафаркулієва // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – № 6 (19). – С. 13–17.

8. Systematic review of herbs and dietary supplements for glycemic control in diabetes / Gloria Y. Yeh, David M. Eisenberg, Ted J. Kaptchuk [et al] // Diabetes Care. – 2003. – Vol. 26, N 4. – P. 1277–1294.

## ИССЛЕДОВАНИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ СТВОРОК ПЛОДОВ ФАСОЛИ ПО СОДЕРЖАНИЮ ФЛАВОНОИДОВ

Л. В. Вронска

*Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского*

**Резюме:** исследован качественный состав флавоноидов створок плодов фасоли, предложены ТСХ методика идентификации и спектрофотометрическая методика их количественного определения.

**Ключевые слова:** створки плодов, фасоль обыкновенная, флавоноиды, стандартизация.

## STUDY ON THE STANDARDIZATION OF VALVES FRUIT BEAN ON FLAVONOID CONTENT

L. V. Vronska

*Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky*

**Summary:** the qualitative composition of flavonoids of valves fruit bean has been investigated, TLC method of identification and spectrophotometric method of quantitation have been proposed.

**Key words:** vakves fruit, bean (Phaseoli valvae fructum), flavonoids, standardization.