

- zygaenidae (Lepidoptera, Gracillariidae) in green plantations and around Moscow]. *Lesnoy vestnik* [Forest Gazette]. No. 2, pp. 172–177 (in Russian).
3. Timofeeva Yu.A. (2014). *Osobennosti ekologii lipovoy moli-pestryanki Phyllonorycter issikii* (Lepidoptera: Gracillariidae) v Sankt-Peterburge [Features of ecology lime gracillariidae *Phyllonorycter issikii* (Lepidoptera: Gracillariidae) in St. Petersburg]. *Izvestiya Sankt-Peterburgskoy lesotekhnicheskoy akademii* [Proceedings of the St. Petersburg forestry academy]. Iss. 207, pp. 133–141 (in Russian).
  4. Izhevskiy S.S., Maslyakov V.Yu. (2008). *Novye invazii chuzhezemnykh nasekomykh v Yevropeyskiyu Rossiyu* [New invasions of alien insects in European Russia]. *Rossiyskiy Zhurnal Biologicheskikh Invaziy* [Russian journal of biological invasions]. No. 2, pp. 45–54 (in Russian).
  5. Dmitriev G.V. (1969). *Osnovy zashchity zelenykh nashazhdeniy ot vrednykh chlenistonogikh* [Fundamentals of protection of green space of harmful arthropods]. Kiev: Urozhay Publ., 411 p. (in Russian).
  6. Chumak P.Ya., Vyhera S.M., Sykalo O.O. (2014). *Trypsy fitotsenoziv hruntu: monohrafiia* [Trips plant communities soil: monograph]. Nizhyn: PP Lysenko M.M. Publ, 368 p. (in Ukrainian).
  7. Aniskevych L.V., Vyhera S.M. (2009.). *Za dopomohou tekhnichnoho zoru. Analiz stanu bioriznomanittia fitotsenoziv za suchasnoho vedennia zemlerobstva* [With vision. Analysis of the diversity of plant communities on modern farming]. No. 8, pp. 25–28 (in Ukrainian).

УДК 615.011.5:615.332:615.244:615.453.4

## ФІТОХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ ДЛЯ РОЗРОБКИ СКЛАДУ ТА СПЕЦИФІКАЦІЇ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ХОЛЕЛЕСАН У КАПСУЛАХ

О.Г. Смалюх, Л.В. Процик, Ж.М. Кравчук

ПАТ «Галичфарм»

*Наведено результати ідентифікації флавоноїдів за хроматографічними методами та кількісним їх визначенням методом диференціальної спектрофотометрії у лікарській рослинній сировині: плодах моркви дикої та квітках цмину піскового. Продемонстровано, що якісний склад та кількісний вміст флавоноїдів у зразках плодів моркви дикої з різних регіонів України істотно відрізняється, натомість у зразках сировини, вирощеної в межах одного регіону, він є подібним. Якісний склад та кількісний вміст флавоноїдів у зразках квіток цмину піскового з різних регіонів України істотно не відрізняється.*

**Ключові слова:** флавоноїди, морква дика, цмин пісковий (*Helichrysum arenarium* L.), ідентифікація, кількісне визначення.

До складу готового лікарського засобу Холелесан (капсули) входять екстракти квіток цмину піскового, нагідок лікарських та плодів моркви дикої. На сьогодні у Державній фармакопеї України (ДФУ) і зарубіжних фармакопеях досі не існує достатньо повної інформації щодо відповідних характеристик плодів моркви дикої та квіток цмину піскового, тому питання

стандартизації цієї лікарської рослинної сировини (ЛРС), у т.ч. розробка методик ідентифікації та кількісного визначення біологічно активних речовин (БАР), є актуальними і важливими. Методики контролю та критерії прийнятності повинні відповідати коректній оцінці якості як ЛРС, так і лікарських засобів на їх основі, а також бути спроможними контролювати і оцінювати якість продуктів на усіх етапах виробництва лікарського засобу з

метою забезпечення його ефективності та безпечності для споживачів і, крім того, бути придатними для виявлення можливої фальсифікації [1].

Метою нашої роботи було дослідження складу флавоноїдів у різних зразках ЛРС плодів моркви дикої та квітках цмину піскового за допомогою хроматографічних методів аналізу, а також кількісне визначення та обґрунтування вимог щодо їх ідентифікації і вмісту на основі отриманих даних.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для дослідження використовували зразки ЛРС квіток цмину піскового та плодів моркви дикої, зібраної у різних регіонах України, а також екстракти та напівпродукти, що були виготовлені під час фармацевтичної розробки готового лікарського засобу Холелесан (капсули).

Ідентифікацію флавоноїдів у сировині здійснювали методами тонкошарової (ТШХ) та вискоефективної рідинної (ВЕРХ) хроматографії.

Для проведення випробування методом ТШХ використовували хроматографічні пластинки MERCK Silica gel F254 і систему розчинників: мурашина кислота безводна — вода — етилацетат (10:10:80). Для проявлення хроматограм використовували розчин 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру в метанолі та 50 г/л макрогону 400 Р у метанолі Р. Оцінювання результатів здійснювали шляхом порівняння величин  $R_f$ -зон на хроматограмі розчину порівняння та випробовуваного розчину.

У процесі проведення випробування методом ВЕРХ застосовували рідинний хроматограф Agilent 1200 із хроматографічною колонкою XTerra C18 розміром 4,6×250 мм, з розміром часток 5 мкм. Рухома фаза А: розчин натрію дигідрофосфату моногідрату — 0,6 г/л, доведений до рН 2,5 кислотою фосфорною; рухома фаза В: ацетонітрил. Швидкість рухомої фази — 1 мл/хв, градієнтне елюювання. Детектування проводили за допомогою діодно-матричного детектора за довжини хвилі 330 нм. Ідентифікацію речовин здійснюва-

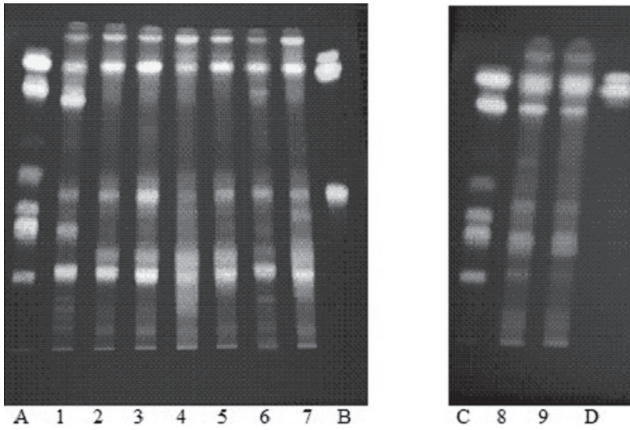
ли шляхом порівняння часового утримування піків на хроматограмі випробовуваного розчину з часовим утримуванням стандартних речовин.

Оцінювання кількісного вмісту флавоноїдів проводили спектрофотометричним методом. Методика ґрунтувалася на попередньому гідролізі флавоноїдів до агліконів, екстракції агліконів етилацетатом та наступному комплексотворенні з алюмінію хлоридом [2, 3]. Вимірювання оптичної густини і записи спектрів поглинання здійснювали на спектрофотометрі Cary-100 (Varian). Усі використовувані реактиви відповідали вимогам ДФУ, а їх розчини готували відповідно до цих вимог [4].

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Першим етапом фітохімічних досліджень було проведення ідентифікації флавоноїдів ЛРС, яка не описана у провідних фармакопеях світу, методами тонкошарової та вискоефективної хроматографії. Результати ідентифікації методами ТШХ та ВЕРХ плодів моркви дикої свідчать про різницю складу і співвідношення фенольних сполук у зразках, зібраних у Західному регіоні України та АР Крим. Для зразків ЛРС Західного регіону основними характерними компонентами є ферулова кислота, рутин, лютеолін та апігенін, а для зразків плодів моркви дикої, зібраних у АР Крим, — хлорогенова кислота, гіперозид. Аналізуючи результати ідентифікації хроматографічними методами аналізу можна стверджувати, що в усіх досліджуваних зразках, зібраних у Західному регіоні України, міститься лютеолін. Саме тому для цих зразків як маркер для ідентифікації та розрахунку кількісного вмісту флавоноїдів було вибрано лютеолін. Однак, як було виявлено, у досліджуваних зразках із АР Крим у значній кількості міститься гіперозид. Тому маркер для ідентифікації та розрахунку кількісного вмісту флавоноїдів у сировині з цього регіону використали гіперозид. Типові хроматограми, отримані у дослідженнях, наведено на рисунках 1–3.

У вибраних умовах пробопідготовки розчин порівняння лютеоліну мав макси-



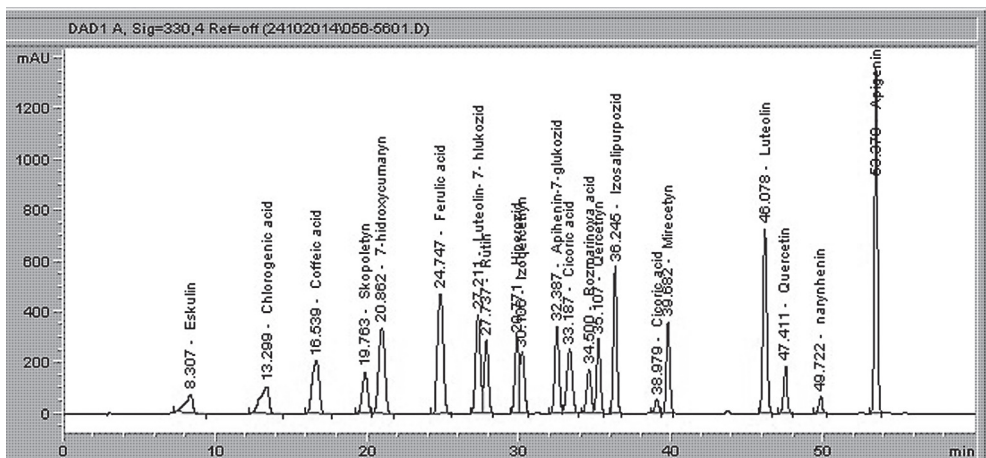
**Рис. 1.** Хроматограми порівняння розчинів, отриманих під час ідентифікації поліфенольних сполук у плодах моркви дикої методом ТШХ (знизу — вгору): А — рутин, хлорогенова кислота, гіперозид, апігеніну-7-глюкозид, цикорієва кислота, лутеолін, апігенін; В — лутеолін-7-глюкозид, кофейна кислота; С — утин, хлорогенова кислота, гіперозид, апігеніну-7-глюкозид, цикорієва кислота, лутеолін, апігенін; D — кофейна кислота, кверцетин; зразки: 1–7 — із Західного регіону України; 8, 9 — із АР Крим

мум поглинання при 395 нм ( $\lambda_{\text{макс}} = 395$  нм, рис. 3). Випробовувані розчини мали максимум поглинання при  $395 \pm 3$  нм, що відповідає максимуму поглинання лутеоліну в умовах кількісного визначення. Диференціальні спектри деяких зразків мали два мак-

симуми поглинання при 397 та 415 нм або розмите «плече» при 415–420 нм. Наявність другого максимуму чи «плеча» свідчить про різноманітність флавоноїдного складу плодів моркви дикої, проте переважає група речовин структурно подібних до лутеоліну. Зразки із території АР Крим мали чіткий максимум поглинання при  $420 \pm 2$  нм, що характерно для флавоноїдів рутину та гіперозиду.

За результатами проведених досліджень встановлено, що сумарний уміст флавоноїдів у зразках плодів моркви дикої, зібраних у Західному регіоні України, становить 0,1–0,8 %, у перерахунку на лутеолін. У зразках, зібраних у АР Крим, уміст суми флавоноїдів становив 0,07–0,08%, у перерахунку на гіперозид. Результати аналізів з визначення суми флавоноїдів у досліджуваних зразках ЛРС наведено у таблиці 1.

На основі отриманих результатів можна зробити висновок, що кількісний уміст флавоноїдів у плодах моркви дикої, зібраних у різних регіонах України, істотно відрізняється, що можна пояснити різними



**Рис. 2.** Типова хроматограма розчину порівняння, отримана під час ідентифікації флавоноїдів

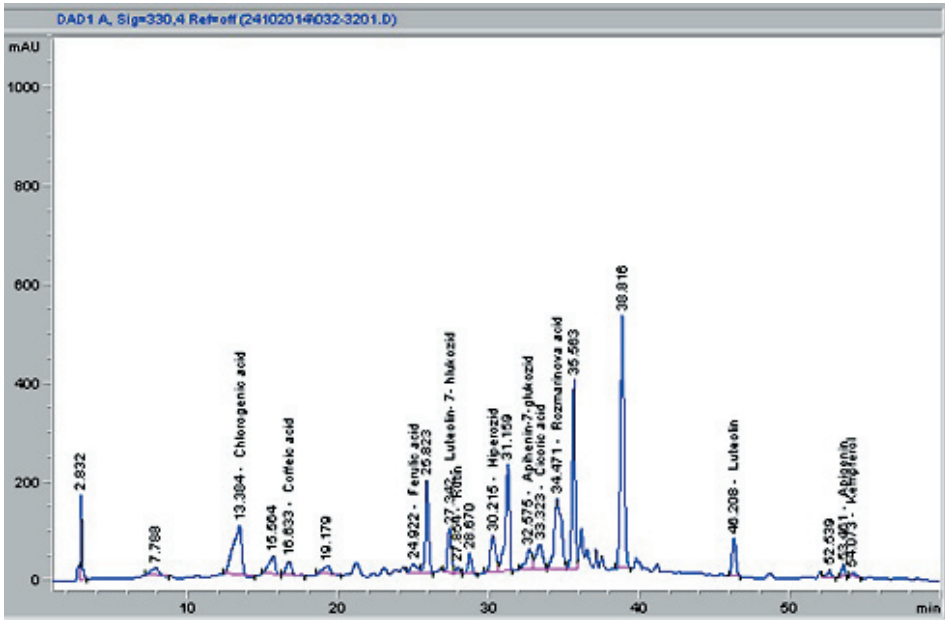


Рис. 3. Типова хроматограма випробовуваного розчину плодів моркви дикої, отримана під час ідентифікації флавоноїдів методом ВЕРХ

Таблиця 1

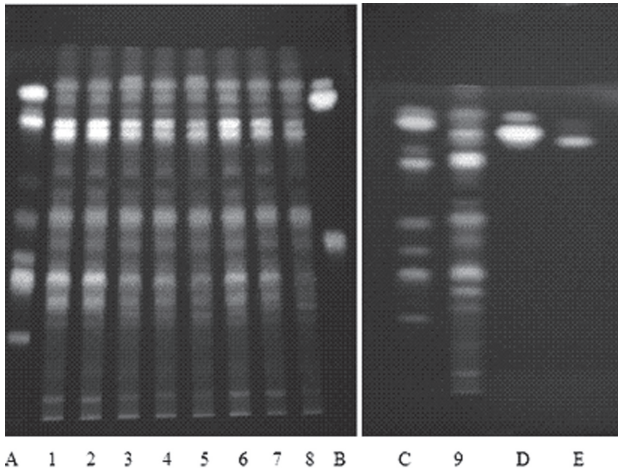
Вміст суми флавоноїдів у досліджуваних зразках плодів моркви дикої

№ зразка	Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на лутеолін, %
1 (серія 010101)	0,353±0,008
2 (серія 020202)	0,792±0,007
3 (серія 010711)	0,261±0,005
4 (серія 060625)	0,434±0,004
5 (серія 014111)	0,645±0,006
6 (серія 251008)	0,114±0,003
7 (серія 010102)	0,213±0,005
Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на гіперозид, %	
8 (серія 361109)	0,080±0,004
9 (серія 060210)	0,071±0,003

кліматичними умовами вирощування та наявністю різних хемотипів моркви дикої.

За результатами аналізу методом ТШХ у зразках квіток цмину пісового, за детектування в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм, були ідентифіковані хлорогенова і

кофейна кислоти, апігенін-7-глюкозид, ісо-саліпурпузид, лутеолін, апігенін. Методом ВЕРХ у зразках квіток цмину пісового, за співпадінням піків часового утримування на хроматограмах розчину порівняння та випробовуваного розчину, були ідентифі-

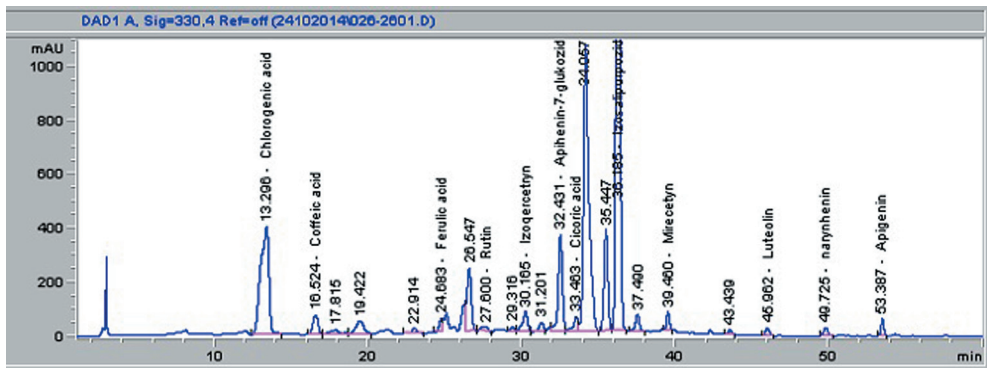


**Рис. 4.** Хроматограми порівняння розчинів, отриманих під час ідентифікації флавоноїдів у квітках цмину піскового методом ТШХ (знизу — вгору): А — рутин, хлорогенова кислота, гіперозид, апігеніну-7-глюкозид, ізосаліпурпузид, цикорієва кислота, лутеолін; В — лутеолін-7-глюкозид, кофейна кислота, кверцетин; С — рутин, хлорогенова кислота, гіперозид, апігеніну-7-глюкозид, ізосаліпурпузид, цикорієва кислота, лутеолін, апігенін; D — кофейна кислота, кверцетин; E — розмаринова кислота, ферулова кислота; 1–9 — зразки квіток цмину піскового із досліджуваних спиртових витягів

ковані хлорогенова, цикорієва і кофейна кислоти, апігенін-7-глюкозид, ізосаліпурпузид, нарінгенін, апігенін, кемпферол, а також у деяких зразках ідентифіковано лутеолін. Типові хроматограми наведено на рисунках 4 та 5.

Згідно із результатами досліджень [5], кількісне визначення флавоноїдів квіток цмину піскового проводять методом прямої спектрофотометрії шляхом вимірювання оптичної густини на «плечі» кривої світлопоглинання ( $\lambda = 315 \text{ nm}$ ), що зумовлює значне відхилення результатів у бік завищення. На вказаній ділянці довжин хвиль максимуми поглинання має низка речовин, наприклад кислоти — хлорогенова (328 nm), розмаринова (326), цикорієва (330 nm), що входять до складу досліджуваної сировини і легко екстрагуються спиртом (50% об/об), [2, 6, 7]. Тому нами запропоновано метод диференціальної спектрометрії, за якого комплекс алюмінію хлориду з флавоноїдами квіток цмину піскового, в умовах вибраної пробопідготовки, мав максимум поглинання в діапазоні 412–418 nm. Спектр розчину порівняння стандартного зразка ізосаліпурпузиду, отриманий за таких са-

мих умов, мав максимум при 418 nm. Варіювання значення максимуму поглинання в діапазоні 412–418 nm свідчить про різноманітність і дещо різне співвідношення деяких сполук флавоноїдів квіток цмину піскового у різних зразках сировини, проте



**Рис. 5.** Типова хроматограма випробовуваного розчину квіток цмину піскового (*Helichrysum arenarium* L.), отримана під час ідентифікації флавоноїдів методом ВЕРХ

Таблиця 2

**Результати визначення вмісту суми флавоноїдів у досліджуваних зразках квіток цмину піскового (*Helichrysum arenarium* L.)**

Зразок ЛРС	Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на ізосаліпурпузид та на суху сировину, %
1 (серія 010101)	1,53±0,02
2 (серія 020202)	1,82±0,05
3 (серія 010711)	2,01±0,04
4 (серія 060625)	1,22±0,03
5 (серія 014111)	1,76±0,05
6 (серія 251008)	1,36±0,06
7 (серія 010102)	1,43±0,04
8 (серія 361109)	1,11±0,05
9 (серія 060210)	1,34±0,04

переважаючим компонентом є ізосаліпурпузид. За результатами проведених досліджень встановлено, що сумарний вміст флавоноїдів, визначений у ЛРС квіток цмину піскового, становив 1,1–2,0%, у перерахунку на ізосаліпурпузид та на суху сировину (табл. 2).

На основі отриманих результатів можна зробити висновок, що кількісний вміст флавоноїдів у досліджуваних зразках квіток цмину піскового істотно не відрізняється, а кількісним критерієм їх вмісту може бути частка не менше 1,0%.

### ВИСНОВКИ

За результатами проведених досліджень методом ТШХ та ВЕРХ встановлено, що у плодах моркви дикої склад та співвідношення флавоноїдів у зразках сировини Західного регіону України істотно відрізняється від таких у зразках сировини з АР Крим, до того ж у межах одного регіону склад флавоноїдів у зразках є подібним. Запропоновано використовувати як маркер для ідентифікації ЛРС плодів моркви дикої наявність лютеоліну.

Визначено кількісний вміст суми флавоноїдів у зразках сировини плодів моркви дикої, зібраних у різних регіонах України. Встановлено, що вміст флавоноїдів у зразках становить 0,07–0,79%, у перерахунку на лютеолін або гіперозид. Запропоновано унормувати вміст суми флавоноїдів на рівні — не менше ніж 0,1%, у перерахунку на лютеолін та суху речовину.

Методами ТШХ та ВЕРХ встановлено, що склад та співвідношення флавоноїдів у

досліджених зразках квіток цмину піскового, зібраних у різні роки в різних регіонах України, істотно не відрізнялися. Запропоновано використовувати для ідентифікації ЛРС квіток цмину піскового наявність апігенін-7-глюкозиду та ізосаліпурпузиду.

Розроблено методику кількісного визначення вмісту суми флавоноїдів у квітках цмину піскового у перерахунку на ізосаліпурпузид з використанням диференціальної спектрофотометрії. На основі отриманих результатів запропоновано ввести у специфікацію на цю ЛРС нормування вмісту флавоноїдів на рівні — не менше ніж 1,0%, у перерахунку на ізосаліпурпузид та суху сировину.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Сур С.В. Методологія оцінки якості рослинних лікарських засобів на підставі результатів, одержаних за допомогою сучасних аналітичних методів / С.В. Сур // Фармацевтичний журнал. — 2002. — № 6. — С. 64–71.
2. Гризодуб О.І. Особливості фармакопейних підходів щодо кількісного визначення лікарської рослинної сировини та сумарних фітопрепаратів / О.І. Гризодуб, О.А. Євтіфеева, К.І. Проскуріна // Фармаком. — 2012. — № 3. — С. 7–31.
3. Державна фармакопея України. — 1-ше вид. — Доп. 4. — Х.: ДП «Науково-експертний фармакопейний центр», 2011. — 329 с.
4. Державна фармакопея України. — 1-ше вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 169 с.
5. Государственная фармакопея СССР. — XI издание. — Вып. 2. — М., 1990. — С. 244–246.
6. Смирнова Л.П. Количественное определение суммы флавоноидов в желчегонном сборе / Л.П. Смирнова, Л.Н. Первых // Химико-фар-

мацевтический журнал. — 1999. — Т. 33, № 3. — С. 37–39.

7. Штучак О.С. Ідентифікація та кількісне визначення фенолкарбонових кислот у препараті

«Апісед» методом диференціальної УФ-спектрофотометрії / О.С. Штучак, О.І. Тихонов // Вісник фармації. — 2012. — № 3 (71). — С. 32–35.

## REFERENCES

1. Sur S.V. (2002) *Metodolohiia otsinky yakosti roslynnykh likarskykh zasobiv na pidstavi rezultativ, oderzhanykh za dopomohoiu suchasnykh analitychnykh metodiv* [Methodology assessing the quality of herbal medicines on the basis of results obtained using modern analytical methods]. *Farmatsevtichnyi zhurnal* [Pharmaceutical Journal]. No. 6, pp. 64–71 (in Ukrainian).
2. Hryzodub O.I., Yevtifieieva O.A., Proskurina K.I. (2012). *Osoblyvosti farmakopeinykh pidkhodiv shchodo kilkisnoho vyznachennia likarskoi roslynnoi syrovyny ta sumarnykh fitopreparativ* [Features pharmacopoeia approaches to quantification of medicinal plants and herbal summary]. *Farmakom Publ.*, No. 3, pp. 7–31 (in Ukrainian).
3. Derzhavna Farmakopeia Ukrainy *Derzhavne pidpriemstvo «Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr»* [State Enterprise «Scientific-expert center pharmacopoeia»]. 1-e vydannia, *Dopovnennia 4* [1st edition, Supplement 4]. Kharkiv: Derzhavne pidpriemstvo «Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr» Publ., 2011, 329 p. (in Ukrainian).
4. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy Derzhavne pidpriemstvo «Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr»* [State Enterprise «Scientific-expert center pharmacopoeia»]. 1-e vydannia [1st edition, Supplement 4]. Kharkiv: RIREH Publ., 2001, 169 p. (in Ukrainian).
5. *Gosudarstvennaya farmakopeya SSSR* [The State Pharmacopoeia of the USSR]. XI izdanie, Iss 2, Moskva, 1990, pp. 244–246 (in Russian).
6. Smirnova L.P., Pervykh L.N. (1999). *Kolichestvennoe opredelenie summy flavonoidov v zhelchegonnom sbore* [Quantification of the amount of flavonoids in the cholagogue collecting]. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal* [First Pharmaceutical Chemistry Journal]. Vol. 33, No. 3, pp. 37–39 (in Russian).
7. Shpychak O.S., Tykhonov O.I. (2012). *Identyfikatsiia ta kilkisne vyznachennia fenolkarbonovykh kyslot u preparati «Apised» metodom dyferentsialnoi UF-spektrifotometrii* [Identification and quantification of fenolkarbonovykh acids in the product «Apised» by differential ultraviolet spectrophotometry]. *Visnyk farmatsii* [Journal of Pharmacy]. No. 3 (71), pp. 32–35 (in Ukrainian).

UDC 631.95[632.5:632.51]:581.5:581.9:574.91

## ONTOGENETIC AND POPULATION STRUCTURE OF ALIEN SPECIES

V. Starodub, E. Tkach

*Інститут агроекології і природокористування НААН*

*Досліджено онтогенетично-популяційну структуру адвентивних видів рослин в агроценозах зернових Правобережного Лісостепу. Наведено оцінку сегетального потенціалу трьох видів: *Sonchus arvensis* L., *Iva xanthifolia* L., *Xanthium strumarium* L., які за віковою структурою, показниками рясності та частотою трапляння визначено як модельні. За індексами «дельта-омега» встановлено, що досліджувані види відносяться до молодих, перехідних та зріючих популяцій. За результатами аналізу встановлено, що популяції модельних видів у агроценозах представлено різними віковими станами. Це свідчить про те, що вони є стійкими та здатними до самопідтримки своєї чисельності за відсутності спеціальних заходів контролю.*

**Ключові слова:** агроценоз, популяція, енергетичне навантаження, адвентивний вид, інвазійність.

Studying of ontogenesis features and structure of coenopopulations allows us to

speak about prosperity or inhibition of a particular species in a concrete habit area. To determine a potential of stranger species, this indicator is of great importance [4].