УДК 615.451.1:634.51-027.13:547.972

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

Визначення вмісту суми флавоноїдів у складі густих екстрактів з незрілих плодів горіха волоського

Державний заклад «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України», м. Дніпро

Ключові слова: екстракти густі з незрілих плодів горіха волоського, флавоноїди, метод УФ-спектрофотометрії, біологічно активні речовини

Флавоноїди – найчисельніша й найвивченіша група рослинних фенолів, це непластидні пігменти рослин жовтого, помаранчевого, червоного, синього та фіолетового кольорів. За ступенем окиснення або відновлення гетероциклічного кільця вони поділяються на шість груп: катехіни, антоціани, лейкоантоціани, флавони, флавонони, флавоноли. Біосинтез флавоноїдів здійснюється шикиматним та ацетатним шляхом [1].

Усі природні флавоноїди малотоксичні, вони виявляють широкий спектр фізіологічної дії на організм людини: беруть участь в окисно-відновних процесах, реакціях імунітету, зумовлюють протизапальну, сенсибілізуючу, протипухлинну, радіозахисну дію. Більшість флавоноїдів, особливо катехіни, мають високий рівень антиоксидантної активності [2].

Нині значну частину природних антиоксидантів виявлено й добре вивчено. Однак сьогодні ідентифікують нові флавоноїди, які можуть бути перспективним джерелом антиоксидантів для людини [3]. Пошук нових джерел флавоноїдів рослинного походження може бути ефективною, екологічно та економічно вигідною альтернативою їхнім синтетичним аналогам.

Нашу увагу привернули густі екстракти з незрілих плодів горіха волоського (ГВ) (*L. Juglans regia*) [4]. Аналізуючи попередні дослідження з безпечності та лікувально-профілактичної дії зазначених екстрактів, видно, що вони виявляють протимікробну, гастропротекторну та протизапальну активність [5–10].

Враховуючи широкий спектр фармакологічної дії екстрактів з незрілих плодів ГВ та можливі перспективи отримання з них нових лікарських форм, *мета дослідження* – визначення вмісту суми флавоноїдів у складі густих екстрактів з незрілих плодів ГВ.

Матеріали та методи. Сьогодні існує чимало методів визначення кількісного вмісту біологічно активних речовин (БАР) у лікарській рослинній сировині (ЛРС). Серед них – фізико-хімічні методи, такі як гравіметричні (вагові), титриметричні, хромато-денситометричні; електрохімічні методи, до яких відноситься потенціометрія; полярографічні методи, капілярний електрофорез. Нині все більшого поширення отримали різні інструментальні методи аналізу, які здатні швидко й точно виявити навіть незначні кількості БАР. До таких методів належать газова хроматографія та високоефективна рідинна хроматографія. Однак залишається актуальним метод спектрофотометрії у видимій й УФ області спектра. Даний метод досить добре вивчений і доступний, описаний у нормативних документах України та в провідних фармакопеях світу [11–13].

Визначення суми флавоноїдів у перерахунку на рутин у густих екстрактах з незрілих плодів ГВ проводили методом УФ-спектрофотометрії на спектрофотометрі СФ-46, ЛОМО. Для зважування наважки зразків використовувалися аналітичні ваги ANG 200 фірми «AXIZ», Польща.

Результати та їх обговорення. Екстракт густий водний (ЕГВ) та екстракти

© Колектив авторів, 2018

густі водно-спиртові з концентрацією екстрагенту – спирту етилового 30, 70 і 96 % (ЕГВС 30, ЕГВС 70, ЕГВС 96, відповідно) були одержані на базі НФаУ під керівництвом професора В. А. Георгіянц, шляхом комплексної переробки незрілих плодів молочно-воскової стиглості ГВ (*Juglans regia L.*).

Нами проведені реакції досліджуваних екстрактів з розчином алюмінію хлориду та записані абсорбційні спектри поглинання отриманих забарвлених розчинів в області 380–500 нм (рисунок). Встановлено, що абсорбційні спектри досліджуваних розчинів характеризуються наявністю максимуму поглинання за довжини хвилі 412 нм, який відповідає максимуму поглинання розчину рутину після реакції взаємодії з розчином алюмінію хлориду в кислому середовищі.

Випробовуваний розчин готували наступним чином: 0,5 г густого екстракту поміщали в колбу на 250 мл, додавали 50 мл спирту етилового 50 %, отриманий розчин охолоджували та фільтрували через паперовий фільтр. 1 мл фільтрату поміщали в мірну колбу на 50 мл, додавали 10 мл спирту етилового 50 %, 2 мл спиртового розчину алюмінію хлориду 50 г/л, через 10 хв додавали 1 мл розчину кислоти оцтової 50 г/л та доводили спиртом етиловим 50 % до позначки.

Розчин порівняння готували за наступною схемою: 0,02 г (точна наважка) стандартного зразка рутину розчиняли в 30 мл 96 % спирту етилового при нагріванні на водяній бані, охолоджували та доводили об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл. До 1 мл отриманого розчину додавали 1 мл розчину алюмінію хлориду і доводили об'єм розчином 5 % кислоти оцтової льодяної в етанолі Р до 25,0 мл.

Для приготування компенсаційного розчину 1 мл фільтрату поміщали в мірну колбу на 50 мл, додавали 10 мл спирту етилового 50 %, 1 мл розчину кислоти оцтової 50 г/л та доводили спиртом етиловим 50 % до позначки.

Далі на спектрофотометрі проводили визначення оптичної густини компенсаційного та випробовуваного розчинів. Оптичну густину випробовуваних розчинів вимірювали не пізніше, ніж через 30 хв після приготування. Оптичну густину отриманих випробовуваних розчинів і розчину стандартного зразка рутину визначали на спектрофотометрі за довжини хвилі 412 нм [13].

Розрахунок умісту суми флавоноїдів у екстрактах у відсотках проводили за формулою:

$$X = \frac{D_1}{D_0} \cdot \left(\frac{m_0 \cdot 1}{100 \cdot 25} \right) \cdot \left(\frac{50 \cdot 50}{m_1 \cdot 1} \right) \cdot \frac{100}{(100 - d)} \cdot \frac{P}{100} \cdot 100 ,$$

де D_1 – оптична густина розчину досліджуваного екстракту за довжини хвилі 412 нм;

m_1 – маса наважки досліджуваного екстракту для приготування випробовуваного розчину, г;

m_0 – маса наважки стандартної речовини – рутину для приготування стандартного розчину, г;

D_0 – оптична густина розчину стандартної речовини рутину за довжини хвилі 412 нм;

d – втрати в масі за висушування густого екстракту, %;

P – уміст рутину в стандартному зразку, %.

Результати визначення вмісту флавоноїдів у екстрактах наведено в таблиці. За результатами проведених досліджень встановлено, що сумарний уміст флавоноїдів у густих екстрактах з незрілих плодів ГВ становить 0,37–0,51 %, отже видно, що кількісний уміст суми флавоноїдів досліджуваних екстрактів суттєво не відрізняється та не залежить від використаного екстрагенту, а критерієм їхнього вмісту може бути кількість не менше ніж 0,30 %. Спектрофотометричний метод може бути використаний за створення нормативно-технічної документації.

Враховуючи достатній уміст флавоноїдів у досліджуваних екстрактах, вважаємо за доцільне подальше вивчення властивостей густих екстрактів з незрілих плодів ГВ з метою створення потенційного нового ЛЗ.

Висновки

Таким чином, було розроблено методику кількісного визначення вмісту

Таблиця

Результати кількісного визначення вмісту флавоноїдів у густих екстрактах з плодів горіха волоського

Екстракт	$X_{ср}$, %
Водний	0,43
Водно-спиртовий (спирт етиловий 30 %)	0,37
Водно-спиртовий (спирт етиловий 70 %)	0,51
Водно-спиртовий (спирт етиловий 96 %)	0,40

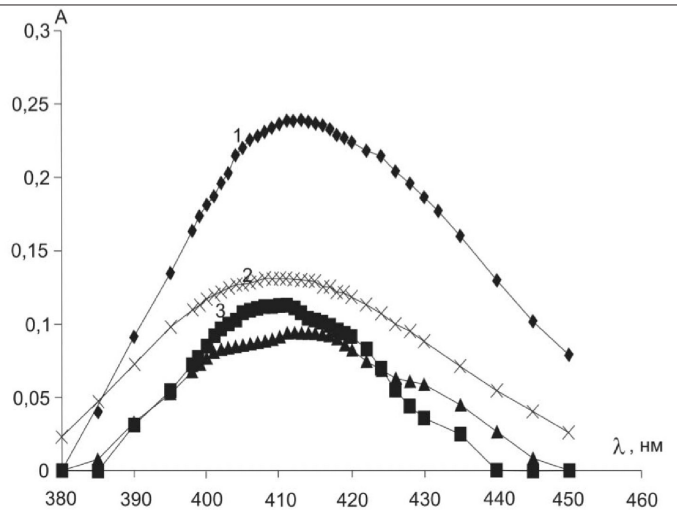

Рисунок. Спектр поглинання стандартного розчину рутину (1), густого водно-спиртового 70 % екстракту з незрілих плодів горіха волоського (2), густого водного екстракту з незрілих плодів горіха волоського (3), густого водно-спиртового 30 % екстракту з незрілих плодів горіха волоського (4) після додавання розчину алюмінію хлориду

суми флавоноїдів у густих екстрактах з незрілих плодів ГВ у перерахунку на рутин з використанням УФ-спектрофотометрії. Методом УФ-спектрофотометрії було визначено суму флавоноїдів у складі всіх досліджуваних густих екстрактів з незрілих плодів ГВ. Найбільшу кількість флавоноїдів вміщує водно-спиртовий 70 % екстракт (0,51 %), найменшу – водно-спиртовий 30 % (0,37 %). Результати дослідження можуть буди використані для розробки методик контролю якості.

1. *Keller R. B*. Flavonoids: biosyntesis, biological effects and dietary sources / R. B. Keller. – NY : Nova Science Publishers, 2009. – 388 p.
2. *Pokorny J.* Application of phenolic antioxidants in food products / J. Pokorny // EJEAF Chem. – 2008. – V. 7. – P. 3320–3324.
3. *Pokorny J.* Food Preservation Techniques / Eds. P. Zeuthen, L. Bogh-Sorensen. – Cambridge : Woodhead Publishing, UK, 2000. – P. 33–48.
4. 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 Scence and Technology; Ed. by Fereidoon Shahidi. – Boca Raton/ London/ New York : CRC Press Taylor & Francis Grup, 2009. – 307 p.
5. *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.
6. *Zalygina E. V.* Antimicrobial activity of thick aqueous-alcoholic extract of unripe walnut fruits / E.V. Zalygina, I. P. Koshova, E. A. Podpletnyaya // East European Scientific. – 2017. – № 1. – P. 127–134.
7. *Залигіна Є. В.* Дослідження гострої токсичності та протизапальної дії екстракту густого водно-спиртового з незрілих плодів горіха волоського / Є. В. Залигіна, О. А. Подплетня, В. Ю. Слєсарчук // Український біофармацевтичний журнал. – 2017. – № 2 (49). – С. 44–48.

8. *Залигіна Є. В.* Скринінгове дослідження противиразкової активності густих екстрактів незрілих плодів горіха волоського / Є. В. Залигіна, О. А. Подплетня // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2016. – № 6. – С. 47–52.
9. *Залигіна Є. В.* Порівняльне вивчення токсичності густого водно-спиртового екстракту з незрілих плодів горіха волоського та препарату Альтан за повторного введення щурам / Є. В. Залигіна // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2017. – № 6 (56). – С. 72–82.
10. Перспективи створення нових противиразкових лікарських засобів на основі біологічно активних речовин горіха волоського / Є. В. Залигіна, В. Ю. Слєсарчук, О. А. Подплетня, Н. Ю. Бабаніна // Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції (28–29 березня 2018 р.): у 2 т. – Х.1. – 268 с. – (Серія «Наука»), 2018. ISSN 2412 – 045.
11. Ruhrkrautbluten // Deutches Arzneimittel Codex. – Stuttgart: Deutsther Apotheker Verlag, 2000.
12. State Pharmacopoeia of Ukraine / State Enterprise «Scientific and Expert Pharmacopoeial Centre». – 1st ed. – Kharkov : RIREH, 2001. – 556 p.
13. State Pharmacopoeia of Ukraine / State Enterprise «Ukrainian scientific Pharmacopoeial center of drugs quality». – 1st ed. – Appendix 3. – Kharkiv : State Enterprise «Ukrainian scientific center pharmacopoeia quality of drugs», 2009. – 280 p.

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

Визначення вмісту суми флавоноїдів у складі густих екстрактів з незрілих плодів горіха волоського

Флавоноїди – найчисельніша і найвивченіша група рослинних фенольних сполук, які містять у молекулі реакційноздатні фенольні радикали та карбонільну групу. Завдяки цьому вони беруть участь у різноманітних метаболічних процесах, що зумовлює їхню біологічну активність. Усі природні флавоноїди малотоксичні, вони виявляють широкий спектр дії на організм людини. Останнім часом ідентифікують нові флавоноїди, які можуть бути перспективним джерелом антиоксидантів для людини.

Сьогодні найперспективнішим напрямом прикладних досліджень є вивчення антиоксидантних, антибактеріальних, цитотоксичних властивостей флавоноїдів з метою отримання безпечних препаратів природного походження для фармацевтичної промисловості. Пошук нових джерел флавоноїдів рослинного походження може бути ефективною, екологічно та економічно вигідною альтернативою їхнім синтетичним аналогам.

Нашу увагу привернули густі екстракти з незрілих плодів горіха волоського, які виявляють протимікробну, гастропротекторну та протизапальну активність.

Мета дослідження – визначити вміст суми флавоноїдів у складі густих екстрактів з незрілих плодів горіха волоського.

Екстракт густий водний та екстракти густі водно-спиртові з концентрацією спирту етилового 30, 70 і 96 % були одержані на базі НФаУ під керівництвом професора В. А. Георгіянц шляхом комплексної переробки незрілих плодів молочно-воскової стиглості горіха волоського. Визначення суми флавоноїдів у перерахунку на рутин у густих екстрактах з незрілих плодів горіха волоського проводили методом УФ-спектрофотометрії.

У дослідженні виявлено, що випробовувані розчини з екстракту густого водного та екстрактів густих водно-спиртових з концентрацією спирту етилового 30, 70 і 96 % характеризуються наявністю максимуму поглинання за довжини хвилі 412 нм, що є близьким до максимуму поглинання розчину стандартного зразка рутину, приготованого за таких самих умов. Уміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин для водного екстракту склав 0,43 %, а для водно-спиртових (30, 70, 96 %) – 0,37 %, 0,51 %, 0,40 % відповідно.

Таким чином, методом УФ-спектрофотометрії було визначено суму флавоноїдів у складі всіх досліджуваних густих екстрактів з незрілих плодів горіха волоського. Найбільшу кількість флавоноїдів уміщує водно-спиртовий 70 % екстракт (0,51 %), найменшу – водно-спиртовий 30 % (0,37 %).

Ключові слова: екстракти густі з незрілих плодів горіха волоського, флавоноїди, метод УФ-спектрофотометрії, біологічно активні речовини

Е. В. Залыгина, Е. А. Подплетняя, К. В. Соколова

Определение содержания суммы флавоноидов в составе густых экстрактов из незрелых плодов ореха грецкого

Флавоноиды – самая многочисленная и наиболее изученная группа растительных фенольных соединений, содержащих в молекуле реакционные фенольные радикалы и карбонильную группу. Благодаря этому они участвуют в различных метаболических процессах, что обусловливает их биологическую активность. Все природные флавоноиды малотоксичны, они проявляют широкий спектр действия на организм человека. В последнее время идентифицируют новые флавоноиды, которые могут быть перспективным источником антиоксидантов для человека.

Наиболее перспективным направлением прикладных исследований является изучение антиоксидантных, антибактериальных, цитотоксических свойств флавоноидов с целью получения безопасных препаратов природного происхождения для фармацевтической промышленности. Поиск

новых источников флавоноидов растительного происхождения может быть эффективной, экологически и экономически выгодной альтернативой их синтетическим аналогам.

Наше внимание привлекли густые экстракты из незрелых плодов ореха грецкого, которые проявляют противомикробное, гастропротекторное и противовоспалительное действие.

Цель исследования – определить содержание суммы флавоноидов в составе густых экстрактов из незрелых плодов ореха грецкого.

Экстракт густой водный и экстракты густые водно-спиртовые с концентрацией спирта этилового 30, 70 и 96 % были получены на базе НФаУ под руководством профессора В. А. Георгиянц путем комплексной переработки незрелых плодов молочно-восковой спелости ореха грецкого. Определение суммы флавоноидов в пересчете на рутин в густых экстрактах из незрелых плодов ореха грецкого проводили методом УФ-спектрофотометрии.

В исследовании выявлено, что испытуемые растворы из экстракта густого водного и экстрактов густых водно-спиртовых с концентрацией спирта этилового 30, 70 и 96 % характеризуются наличием максимума поглощения при длине волны 412 нм, что близко к максимуму поглощения раствора стандартного образца рутина в тех же условиях. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин для водного экстракта составило 0,43 %, а для водно-спиртовых (30, 70 и 96 %) – 0,37 %, 0,51 %, 0,40 % соответственно.

Таким образом, методом УФ-спектрофотометрии была определена сумма флавоноидов в составе всех исследуемых густых экстрактов из незрелых плодов ореха грецкого. Наибольшее количество флавоноидов содержится в водно-спиртовом 70 % экстракте (0,51 %), наименьшее – в водно-спиртовом 30 % (0,37 %).

Ключевые слова: экстракты густые из незрелых плодов ореха грецкого, флавоноиды, метод УФ-спектрофотометрии, биологически активные вещества

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

Determination of the flavonoids amount in the composition of thick extracts from immature walnut fruit

Flavonoids are the most numerous and the most studied group of plant phenolic compounds. Flavonoids include in the molecule reactive phenolic radicals and a carbonyl group. Due to this, they participate in various metabolic processes, which cause their biological activity. All natural flavonoids are low toxicity and show a wide range of effects on the human body. Recently there were identified new flavonoids, which can be a promising source of antioxidants for humans.

The most promising area of applied research is the study of the antioxidant, antibacterial, cytotoxic properties of flavonoids in order to obtain safe drugs of natural origin for the pharmaceutical industry. The search for new sources of plant flavonoids can be an effective, environmentally and economically advantageous alternative to their synthetic analogues.

Our attention was attracted by thick extracts from unripe walnut fruit, which show antimicrobial, gastroprotective and anti-inflammatory activity

The purpose of the work is to determine the amount of flavonoids in the composition of thick extracts from immature walnut fruit.

Thick water and water-alcohol extracts with an ethyl alcohol concentration of 30, 70 and 96 % were obtained by means of complex processing of immature fruits of milk-wax ripeness of walnut. The determination of the sum of flavonoids in terms of rutin in thick extracts from immature walnut fruit was carried out by UV spectrophotometry.

It was found out that the test solutions from the thick water extract and the thick water-alcoholic extracts with an ethyl alcohol concentration of 30, 70 and 96 % are characterized by the presence of an absorption maximum at a wavelength of 412 nm, which is close to the maximum absorption of the standard solution under the rutin same conditions. The content of the sum of flavonoids in terms of rutin for water extract was 0,43%, and for water-alcohol (30, 70 and 96 %) – 0,37 %, 0,51 %, 0,40 % .

Thus by the method of UV spectrophotometry, the amount of flavonoids in the composition of all amount studied thick extracts from immature walnut fruit was found. The greatest amount of flavonoids is contained in water-alcohol 70 % extract (0,51%), the lowest – in water-alcohol 30 % (0,37 %).

Key words: thick extracts from immature walnut fruit, flavonoids, UV spectrophotometry method, biologically active substances

Надійшла: 16 травня 2018 р.

Контактна особа: Залигіна Євгенія Володимирівна, здобувач, кафедра загальної та клінічної фармації, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», буд. 9, вул. Володимира Вернадського, м. Дніпро, 49044. Тел.: + 38 0 56 713 52 57. Електронна пошта: avis.rara@hotmail.com