



УДК 543.544:615.322:582.634.1:547.586.5/.972.2

DOI <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2019.2.10269>

ХРОМАТОГРАФІЧНІ ПРОФІЛІ ФЛАВОНОЇДІВ І ГІДРОКСИКОРИЧНИХ КИСЛОТ ВІТЧИЗНЯНИХ ЗРАЗКІВ ЛІКАРСЬКОЇ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ ЛИСТЯ ШОВКОВИЦІ БІЛОЇ

Л. В. Вронська, А. Є. Демид

Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України

vronska_liudmyla@ukr.net

ІНФОРМАЦІЯ

Надійшла до редакції / Received:
11.06.2019

Після доопрацювання / Revised:
20.06.2019

Прийнято до друку / Accepted:
23.06.2019

Ключові слова:

листя шовковиці білої,
сировина,
флавоноїди,
гідроксикоричні кислоти,
хроматографічний профіль,
хроматографічний відбиток

АНОТАЦІЯ

Мета роботи. Вивчення ТШХ- і ВЕРХ-профілів флавоноїдів і гідроксикоричних кислот вітчизняних зразків лікарської рослинної сировини листя шовковиці білої.

Матеріали і методи. Зразки сировини листя шовковиці білої було зібрано на початку червня 2015-2018 років в районах Тернопільської, Волинської, Харківської, Миколаївської областей, два зразки у різні роки було придбано у Польщі – харчова добавка (подрібнене листя) «Morwa biała» (ARTEO NATURA, Польща).

У ТШХ-дослідженнях використовували хроматографічні пластинки Silica gel 60 F₂₅₄ і хроматографічні камери («Merck», Німеччина), прилад для нанесення проб Linomat 5 («SAMAG», Швейцарія). При ВЕРХ-дослідженнях флавоноїдів і гідроксикоричних кислот застосовували рідинні хроматографи Agilent 1200 із детектором діодна матриця G1315D («Agilent», США) і Waters Alliance System 2690 з детектором діодна матриця Waters 996 («Waters», США), хроматографічну колонку XTerra C18 («Waters», США), градієнтне елюювання.

Результати і обговорення. У результаті хроматографічних досліджень вітчизняних зразків листя шовковиці білої, зібраних у різних регіонах України, встановлено, що рутин, ізокверцитрин, кемпферол-3-О-β-D-глюкозид і хлорогенова кислота є головними представниками флавоноїдів і гідроксикоричних кислот. Кверцитрин і ферулова кислота ідентифікуються, але їхній вміст є незначним, що узгоджується із даними літератури фітохімічного аналізу польських, сербських, китайських, корейських, угорських зразків сировини. У ТШХ-профілях, крім зазначених БАР, присутні характеристичні інтенсивні зони, які, ймовірно, належать іншим флавоноїдам і гідроксикоричним кислотам. Аналогічно ВЕРХ-профілі також містять піки не ідентифікованих речовин, спектри поглинання яких є характерними для флавоноїдів і гідроксикоричних кислот.

Висновки. Отримані ТШХ- і ВЕРХ- хроматографічні профілі флавоноїдів і гідроксикоричних кислот є аналогічними для різних зразків і можуть бути використані для розробки методик ідентифікації ЛРС листя шовковиці білої та засобів на її основі. Рутин, ізокверцитрин, кемпферол-3-О-β-D-глюкозид і хлорогенову кислоту слід обрати активними маркерами при наступній розробці методик ідентифікації даної ЛРС методом «хроматографічного відбитка».

Вступ. Цукровий діабет (ЦД) розглядається як проблема глобального здоров'я, на вирішення якої національні медичні служби щороку витрачають великі кошти. Поширеність ЦД тривожно зростає, досягаючи епідемічної позначки. За статистикою IDF Diabetes Atlas кількість хворих на ЦД у 2017 році склала 425 мільйонів і до 2045 року зростає до 629 мільйонів [1]. Слід зазначити, що 90 % всіх випадків припадає на діабет другого типу. Донедавна другий тип вважався «старечим» захворюванням, проте у сучасному світі він стрімко «молодшає» завдяки все нижчому фізичному навантаженню у праці, «бідному» нездоровому харчуванню і гіподинамії у відпочинку, що викликають ожиріння, захворювання коронарних артерій і периферичних судин, ретинопатію, нейропатію і нефропатію, цереброваскулярні захворювання, інвалідизацію і смертність. Багато синтетичних лікарських засобів, які призначаються хворим із діабетом другого типу спричиняють численні ускладнення [2]. Натомість застосування рослин і рослинних засобів може стимулювати чутливість до інсуліну або впливати на інсуліно-сигнальні шляхи [3-6], позитивно доповнюючи терапію синтетичними засобами і запобігаючи ускладненням спричиненим нею. Зокрема, до таких рослин належить шовковиця біла, листя якої у народній медицині багатьох країн пропонується як цукрознижуючий засіб при діабеті [7-9]. Листя шовковиці білої (ЛШБ) містить комплекс біологічно активних речовин (БАР), які поодиночі або синергічно чинять гіпоглікемічну, гіполіпідемічну, протипухлинну, гепатопротекторну, кардіоваскулярну дію [8-15]. В Україні фітохімічні і фармакологічні дослідження цієї сировини є поодинокими, але вказують на можливість застосування вітчизняної сировини для розробки нових лікарських засобів на її основі [16-19]. Відтворюваність біологічної дії лікарського засобу визначається якістю сировини, екстрактів і готових лікарських засобів на їхній основі. Щоб її забезпечити необхідно напрацювати критерії якості. Тому **метою роботи** є вивчення ТШХ- і ВЕРХ-профілів флавоноїдів і гідроксикоричних кислот вітчизняних зразків ЛРС ЛШБ.

Матеріали і методи. Зразки сировини ЛШБ були зібрані на початку червня у різні роки (2015-2018) в районах Тернопільської, Волинської, Харківської, Миколаївської областей. Два зразки було придбано у різні роки в Польщі – харчова добавка (подрібнене листя) «Morwa biała» (ARTEO NATURA, Польща).

У ТШХ-дослідженнях використовували хроматографічні пластинки Silica gel 60 F₂₅₄ і хроматографічні камери («Мерск», Німеччина), прилад для нанесення проб Linomat 5 («САМАГ», Швейцарія). Проявку флавоноїдів і гідроксикоричних кислот здійснювали метанольним розчином 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти, а після висушування – метанольним розчином 50 г/л макрополу 400. Для ідентифікації флавоноїдів використовували стандартні

зразки рутину, гіперозиду, апігенін-7-глюкозиду, лютеолін-7-глюкозиду, ізокверцитрину, кверцитрину, лютеоліну, кверцетину, кемпферолу, кемпферол-3-глюкозиду, хлорогенової, ферулової, розмаринової, кофейної і галоїчної кислот (Sigma-Aldrich, Fluka).

Випробовувані розчини для ТШХ-досліджень отримували шляхом кип'ятіння наважки подрібненої сировини (1 г) з 25 мл метанолу впродовж 1 год зі зворотним холодильником на водяній бані. Вивчення якісного складу флавоноїдів методом ТШХ здійснювали у двох системах розчинників: 1 – мурашина кислота-вода-етилацетат (6:9:90), 2 – мурашина кислота-льодяна оцтова кислота-вода-етилацетат (7.5:7.5:17:67.5).

При ВЕРХ-дослідженні флавоноїдів і гідроксикоричних кислот застосовували рідинний хроматограф Agilent 1200 з детектором діодною матрицею («Agilent», США). Умови хроматографування і детектування детально описані [20]. Випробовувані розчини для ВЕРХ-досліджень отримували шляхом кип'ятіння наважки подрібненої сировини (1 г) з 25 мл етанолу (70 % (об/об)) впродовж 1 год зі зворотним холодильником на водяній бані; після охолодження вилучення фільтрували і доводили об'єм розчину до 25 мл тим же етанолом; відбирали 5 мл отриманого розчину у мірну колбу місткістю 100 мл і доводили до позначки фазою А.

У ВЕРХ-дослідженнях гідроксикоричних кислот застосовували рідинний хроматограф Waters Alliance System 2690 з детектором діодна матриця Waters 996 («Waters», США). Умови хроматографування: колонка XTerra C18 (Waters) розміром 250x4,6 мм (5 мкм); температура колонки 25 °С; рухома фаза А: фосфорна кислота – ацетонітрил – вода (1:19:80), рухома фаза В: фосфорна кислота – метанол – ацетонітрил (1:40:59); градієнтне елюювання: до 20 хв фаза А лінійно зі 100 до 55 %, з 20 хв до 25 хв фаза А лінійно з 55 до 0 %, з 25 хв до 35 хв фаза А лінійно з 0 до 100 %; з 35 хв до 40 хв фаза А 100%; швидкість рухомої фази 1,2 мл/хв; детектування спектрофотометричне за довжини хвилі 330 нм; інжекція: 20 мкл. Випробовувані розчини для ВЕРХ-досліджень отримували шляхом кип'ятіння наважки подрібненої сировини (1 г) з 100 мл етанолу (50 % (об/об)) впродовж 1 год зі зворотним холодильником на водяній бані; вилучення фільтрували після охолодження і доводили об'єм розчину до 100 мл етанолом (50 % (об/об)).

Результати і обговорення. Зразки хроматограм, отримані при ТШХ-дослідженні зразків ЛШБ, представлені на рисунках 1-3. ТШХ-профілі флавоноїдів усіх зразків є аналогічними. У метанольних витягах вітчизняних зразків сировини в обраних системах розчинників були ідентифіковані рутин, хлорогенова кислота, ізокверцитрин, кемпферол-3-глюкозид, ферулова кислоти (слідові кількості) (рис. 1-3).

ТШХ-профілі флавоноїдів польського зразка сировини містив додатково зони оранжевої і салаткової

флуоресценції, розташовані дещо вище зони кемпферол-3-глюкозиду, а також була відсутня зона салатової флуоресценції, присутня у профілях інших зразків на рівні кофейної кислоти. У ТШХ-профілі харківського зразка сировини додатково спостерігали: у системі розчинників 1 – зону жовтої флуоресценції, розташовану між зонами рутину і хлорогенової кислоти; у системі 2 – зону кверцетину у верхній частині профілю і зону оранжевої флуоресценції, розташовану нижче зони рутину.

ТШХ-профілі гідроксикоричних кислот вказують на те, що хлорогенова кислота є головним представником даного класу БАР. Всі зразки містять її у значній кількості. У профілях польського, волинського і харківського зразків сировини (рис. 2, 3) присутня інтенсивна зона блакитної, флуоресценції, яка розташовується між зонами цикорієвої і розмаринової кислот. Інші зразки досліджуваної сировини містять цю БАР, але у слідових кількостях. Кофейна кислота не виявлена у жодному із зразків при ТШХ-дослідженні.

Приклади хроматограм, отримані при ВЕРХ-дослідженні етанольних (70 % (об/об)) витягів із різних зразків ЛШБ представлені на рис. 4. Отримані хроматографічні профілі є дуже подібними, що дозволяє застосовувати їх для ідентифікації сировини за методом «хроматографічного відбитка / chromatographic fingerprinting». В усіх зразках ЛШБ ідентифіковано хлорогенову кислоту, рутин, ізокверцитрин, кемферол-3-О-β-D-глюкозид, у слідових кількостях ідентифікуються кофейна і ферулова кислоти, кверцитрин. Оскільки розділення хлорогенової кислоти з іншими БАР цієї сировини у вказаній в [20] хроматографічній системі було не найкращим, то було досліджено їхнє розділення в інших умовах. Було встановлено, що при застосуванні колонки XTerra C18 (Waters) і градієнтного елювання з двома рухомими фазами фосфорна кислота – ацетонітрил – вода (1:19:80) і фосфорна кислота – метанол – ацетонітрил (1:40:59) БАР ЛШБ добре розділяються (рис. 5). Отримані в цих умовах хроматографічні профілі є аналогічними для різних зразків і можуть

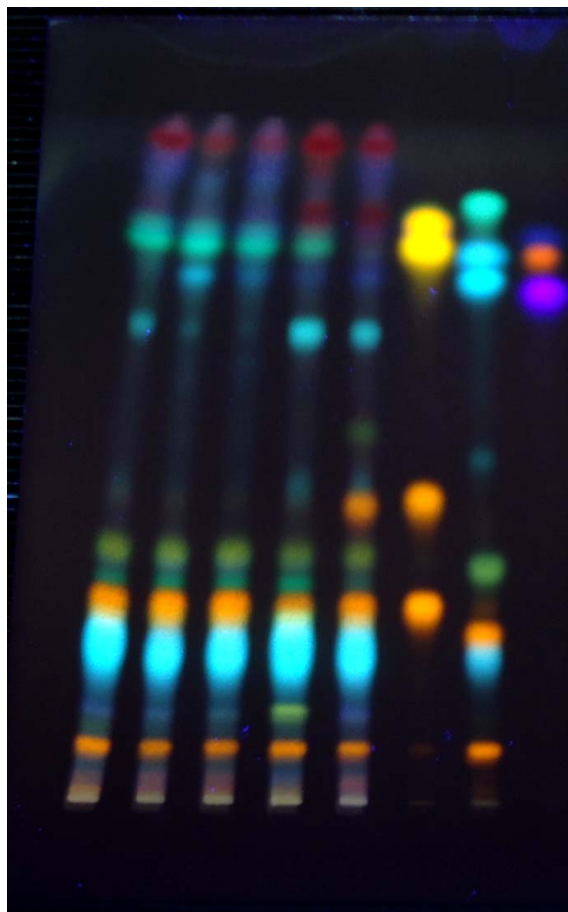


Рис. 1. Фотографія ТШХ-хроматограми, отримана в умовах ідентифікації фенольних сполук ЛРС ЛШБ. Рухома фаза: мурашина кислота-вода-етилацетат (6:9:90). 1-5 – випробовувані розчини: 1 – Волинської області зразок, 2,3 – Тернопільської області зразки, 4 – Харківської області зразок, 5 – харчова добавка (подрібнене листя) «Mogwa biała» (ARTEO NATURA, Польща). Розчини стандартних зразків: 6 – ізокверцитрин, кверцитрин, лутеолін, кверцетин; 7 – рутин, хлорогенова кислота, гіперозид, апігенін-7-О-глюкозид, розмаринова кислота, кофейна кислота, кемпферол; 8 – галова кислота, мірицетин, ферулова кислота.

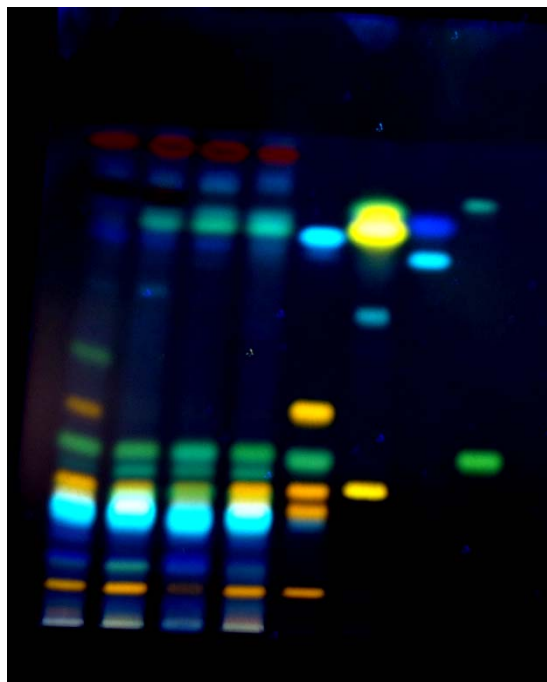


Рис. 2. Фотографія ТШХ-хроматограми, отримана в умовах ідентифікації фенольних сполук ЛРС ЛШБ. Рухома фаза: мурашина кислота-вода-етилацетат (6:9:90). **1-4** – Випробовувані розчини: **1** – харчова добавка (подрібнене листя) «Mogwa biała» (ARTEO NATURA, Польща), **2** – Харківської області зразок, **3** – Миколаївської області зразок, **4** – Тернопільської області зразок. Розчини стандартних зразків: **5** – рутин, хлорогенова кислота, гіперозид, ізокверцитрин, апігенін-7-О-глюкозид, кверцитрин, кофейна кислота; **6** – ізокверцитрин, цикорієва кислота, лютеолін, кверцетин, апігенін; **7** – розмаринова кислота, ферулова кислота; **8** – кемпферол-3-глюкозид, кемпферол.

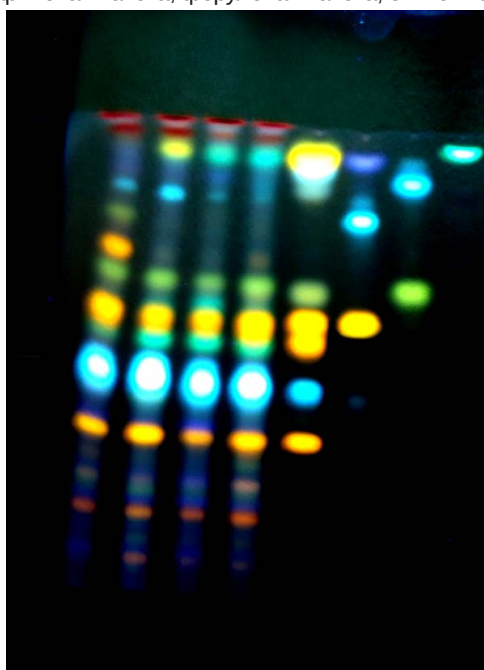


Рис. 3. Фотографія ТШХ-хроматограми, отримана в умовах ідентифікації фенольних сполук ЛРС ЛШБ. Рухома фаза: мурашина кислота – льодяна оцтова кислота – вода – етилацетат (7.5:7.5:17:67.5). **1-4** – Випробовувані розчини: **1** – харчова добавка (подрібнене листя) «Mogwa biała» (ARTEO NATURA, Польща), **2** – Харківської області зразок, **3** – Миколаївської області зразок, **4** – Тернопільської області зразок. Розчини стандартних зразків: **5** – рутин, хлорогенова кислота, гіперозид, ізокверцитрин, апігенін-7-О-глюкозид, кверцитрин, кофейна кислота, кверцетин; **6** – ізокверцитрин, цикорієва кислота, ферулова кислота; **7** – кемпферол-3-глюкозид, розмаринова кислота, кофейна кислота; **8** – кемпферол.

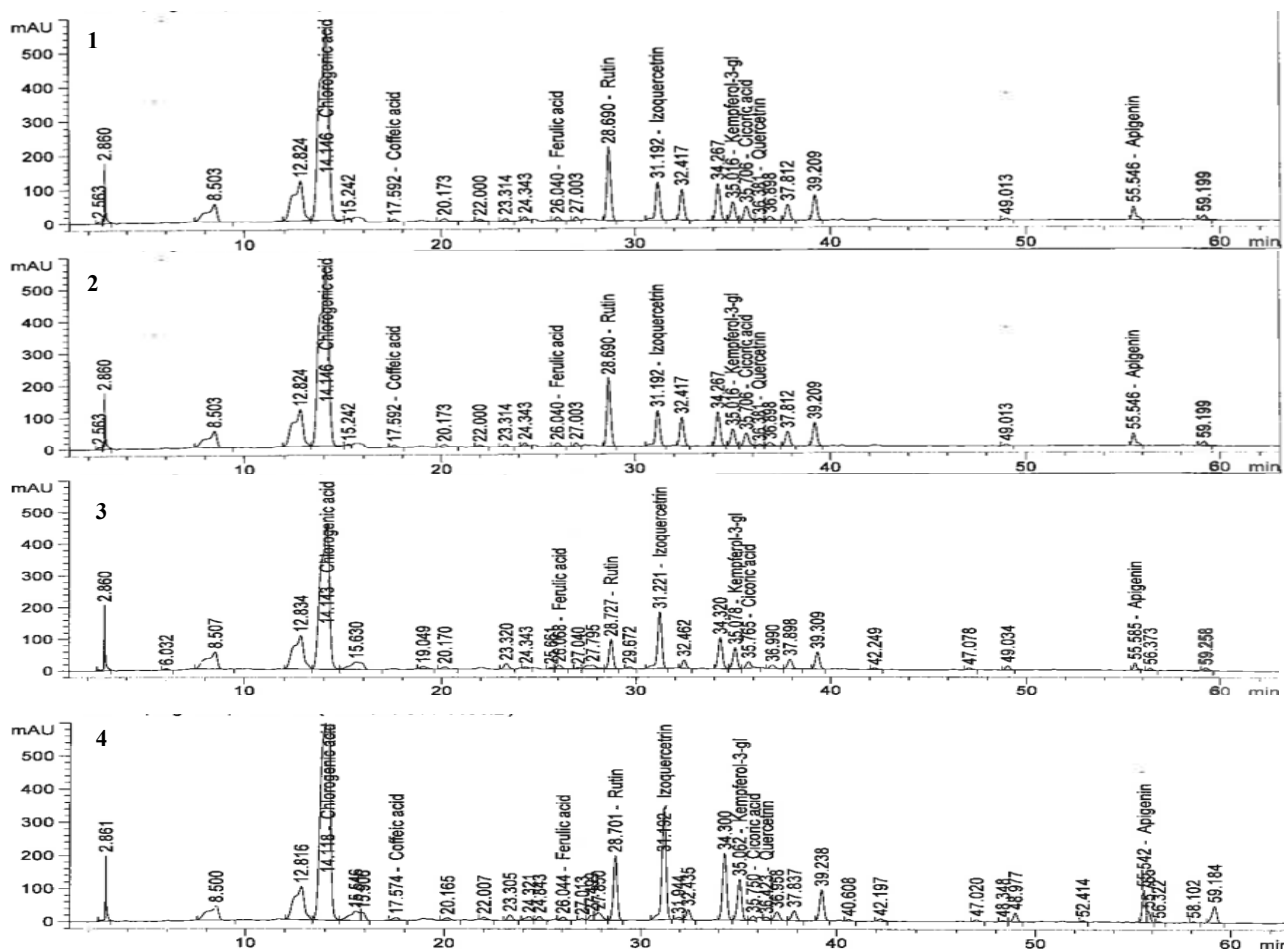


Рис. 4. ВЕРХ-хроматограми фенольних сполук у випробовуваних розчинах листа шовковиці білої, отримані в умовах, описаних в [20]. 1-4 – Випробовувані розчини сировини: 1 – харчова добавка (подрібнене листя) «Morga biała» (ARTEO NATURA, Польща), 2 – Харківської області зразок, 3 – Миколаївської області зразок, 4 – Тернопільської області зразок.

бути використані для ідентифікації цієї сировини за методом «хроматографічного відбитка / chromatographic fingerprinting». За даних умов хроматографування в усіх зразках ідентифіковано хлорогенову, ферулову і розмаринову кислоти, також можливе їхнє кількісне визначення. Кофейну кислоту було ідентифіковано лише у двох зразках із семи у слідових кількостях. Її присутність у випробовуваних розчинах пов'язана скоріше з утворенням внаслідок гідролізу хлорогенової кислоти під час прободготовки.

У результаті проведеного дослідження складу флавоноїдів і гідроксикоричних кислот вітчизняних зразків ЛРС ЛШБ було ідентифіковано рутин, ізокверцитрин, кверцитрин, кемпферол-3-глюкозид, хлорогенову, ферулову і розмаринову кислоти. Вищим вмістом кверцитрину, неідентифікованих двох флавоноїдів у глікозидній формі і двох гідроксикоричних кислот відрізнявся польський зразок сировини від вітчизняних.

Отримані дані добре узгоджуються з даними літератури як вітчизняних вчених [16], так і зарубіжних [9, 12, 14, 21-25]. У вітчизняних зразках листа шовковиці білої, зібраного у Рівненській і Київській областях, авторами [16] було ідентифіковано хлорогенову і кофейну кислоти, рутин, кверцитрин, ізокверцитрин, кверцетин і кемпферол, тоді як зібрані нами вітчизняні зразки сировини практично не містили агліконів і в них, за винятком двох зразків, не було ідентифіковано кофейну кислоту; поява останньої, як зазначалось раніше, ймовірно пов'язана із гідролізом хлорогенової кислоти в процесі прободготовки. Крім того, авторами [16] не було виявлено кемпферол-3-глюкозид, який був присутній у всіх досліджених нами зразках сировини. У водних екстрактах, отриманих із польських зразків сировини, виявлено додатково до ідентифікованих нами, кемпферол-3-β-D-глюкопіранозид, галову, протокатехову, п-гідроксибензойну, ванілінову, п-кумарову і синапові кислоти [21]. Вміст цих речовин в екстрактах є суттєво нижчим, ніж вміст осно-

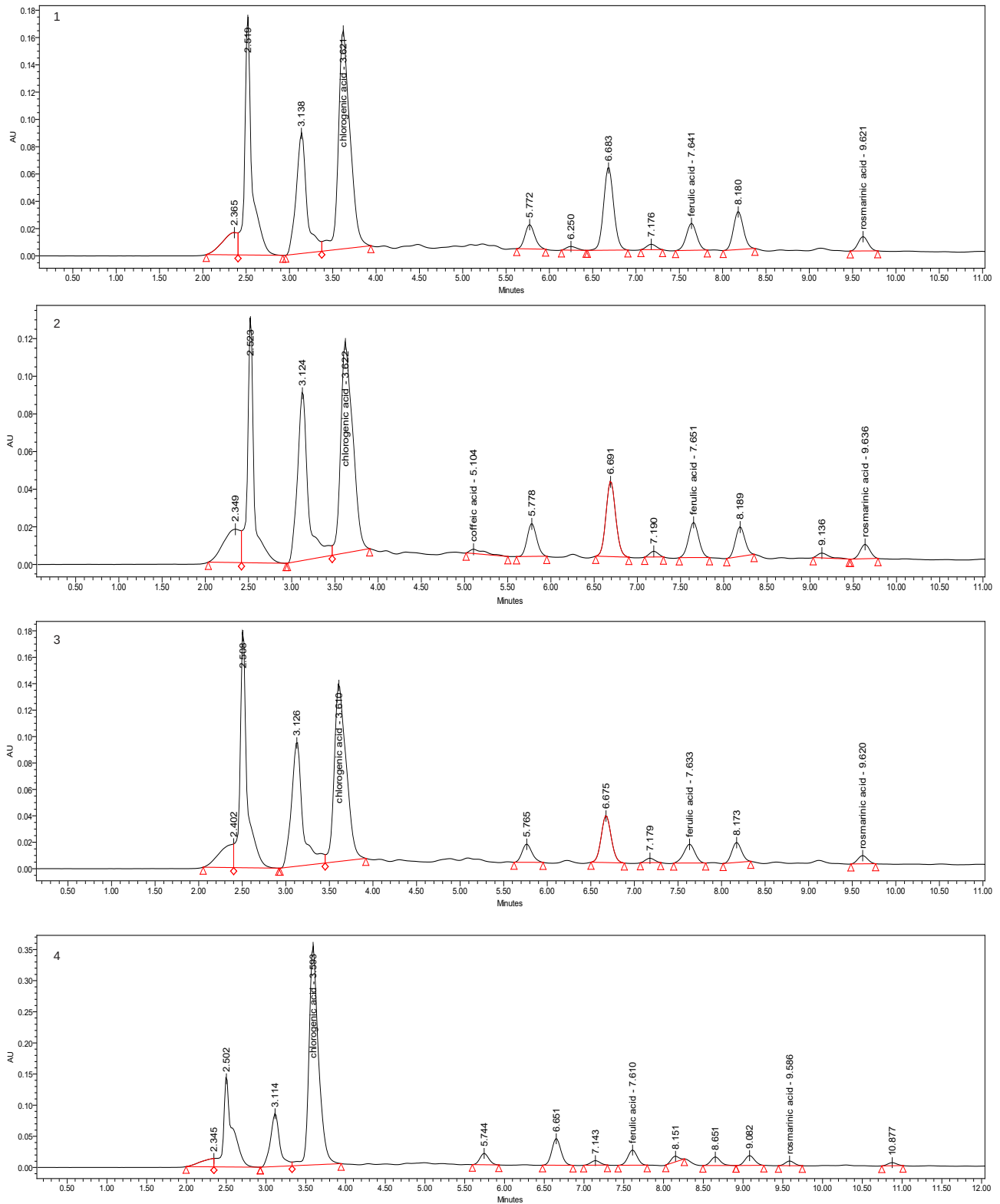


Рис. 5. ВЕРХ-хроматограми, отримані в умовах дослідження гідроксикоричних кислот листя шовковиці білої. 1-4 – Випробовувані розчини сировини: 1, 2 – Волинської області зразки (2015, 2016 рр.); 3 – Миколаївської області зразок (2016 р.); 4 – харчова добавка (подрібнене листя) «Morwa biała» (2016 р., APTEO NATURA, Польща).

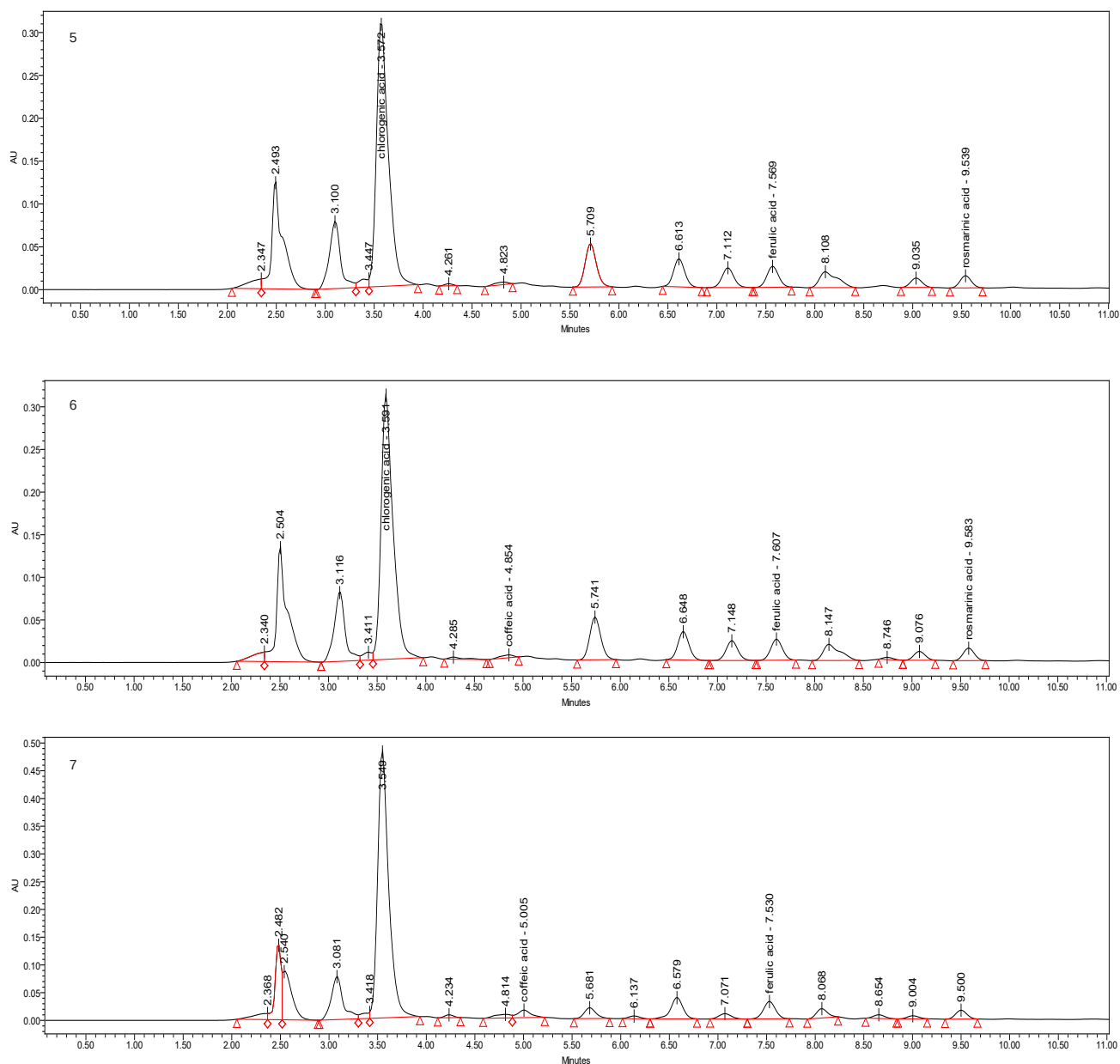


Рис. 5. (продовження): ВЕРХ-хроматограми, отримані в умовах дослідження гідроксикоричних кислот листа шовковиці білої. **5-7** – випробовувані розчини сировини: **5** – Волинської області зразок (2017 р.); **6** – Харківської області зразок (2014 р.); **7** – Тернопільської області зразок (2015 р.).

вних ідентифікованих представників фенольних сполук. У сербських зразках ЛШБ не були ідентифіковані глікозиди кемпферолу, але ідентифіковано кверцетин у вільній формі, що може бути пов'язане із особливостями тривалої (24 год) пробопідготовки [22]. У метанольних витягах зі зразків ЛШБ китайського походження головним представником флавоноїдів встановлено рутин [23], а авторами [12] знайдено нове похідне флавану, (2S)-4'-гідрокси-7-метокси-8-пренілфлаван. При дослідженні метанольних витягів з ЛШБ корейських зразків було визначено головними

представниками флавоноїдів рутин, ізокверцитрин, кемпферол-3-O- β -D-глюкозид, вільний кверцетин, який було визначено у малих кількостях [9]. В зразках сировини, зібраних в Угорщині, було ідентифіковано рутин, ізокверцитрин і хлорогенову кислоту, як основні БАР цієї сировини [14, 24], а також відзначено, що рутин і хлорогенова кислота відіграють головну роль в антидіабетичній дії екстракту ЛШБ при діабеті другого типу у щурів [25]. Відповідно до твердження авторів [25], внесок впливу хлорогенової кислоти і рутину може складати половину антидіабетич-

ної активності ЛШБ, тому їх можна вважати кращими маркерами для контролю якості листя шовковиці.

Висновки. 1. За даними ТШХ- і ВЕРХ- досліджень, вітчизняні зразки ЛРС ЛШБ містять рутин, ізокверцитрин, кемпферол-3-О-β-D-глюкозид і хлорогенову кислоту у значних кількостях, кверцитрин і ферулову кислоту – у слідових кількостях, що узгоджується із даними літератури щодо фітохімічного складу польських, сербських, китайських, корейських, угорських зразків сировини. У ТШХ-профілях, крім зазначених БАР, присутні характеристичні інтенсивні зони, які, ймовірно, належать іншим флавоноїдам і гідроксикоричним кислотам. Аналогічно ВЕРХ-профілі містять піки не ідентифікованих речовин, спектри поглинання яких є характерними для флавоноїдів і гідроксикоричних кислот.

2. Отримані ТШХ- і ВЕРХ- хроматографічні профілі флавоноїдів і гідроксикоричних кислот є подібними для різних зразків і можуть бути використані для розробки методик ідентифікації ЛРС ЛШБ та засобів на її основі методом «хроматографічного відбитка / chromatographic fingerprinting».

3. Враховуючи результати, отримані з хроматографічних профілів різних зразків досліджуваної сировини, і дані літератури щодо біологічної активності, рутин, ізокверцитрин, кемпферол-3-О-β-D-глюкозид і хлорогенову кислоту слід обрати активними маркерами при наступній розробці методик ідентифікації даної ЛРС методом «хроматографічного відбитка / chromatographic fingerprinting».

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

FLAVONOIDS AND HYDROXYCINNAMIC ACIDS CHROMATOGRAPHIC PROFILES OF DOMESTIC RAW MATERIALS SAMPLES OF MULBERRY WHITE LEAVES

L. V. Vronska, A. Ye. Demyd

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

vronska_liudmyla@ukr.net

The aim of the work. To study of flavonoids and hydroxycinnamic acids TLC and HPLC chromatographic profiles of domestic raw material samples of mulberry white leaves.

Materials and methods. Samples of mulberry white leaves raw material were collected in June 2015-2018 in the Ternopil, Volyn, Kharkiv and Mykolaiv regions, two samples were purchased in Poland in different years – a nutritional supplement "Morwa biała" (crushed leaves, APTEO NATURA, Poland).

Silica gel 60 F254 chromatographic plates (Merck, Germany), Linomat 5 (CAMAG, Switzerland) – device for drawing samples were used in TLC studies. In HPLC studies of flavonoids and hydroxycinnamic acids, the chromatographs Agilent 1200 with G1315D DAD Detector ("Agilent", USA) and Waters Alliance System 2690 with Waters 996 DAD Detector ("Waters", USA), the chromatographic column XTerra C18 ("Waters", USA) and gradient elution were used.

Results and discussion. As a result of chromatographic studies of domestic samples of mulberry white leaves, collected in different regions of Ukraine, it has been established, that rutin, isoquercitrin, kaempferol-3-O-β-D-glucoside and chlorogenic acid are the main among of flavonoids and hydroxycinnamic acids. Quercitrin and ferulic acid are identified but their content is low, which is consistent with the literature data on the phytochemical analysis of Polish, Serbian, Chinese, Korean, and Hungarian samples of raw material. In TLC-profiles, in addition to the above-mentioned biologically active substances, there are characteristic intensive zones that are likely to belong to other flavonoids and hydroxycinnamic acids. Similarly, HPLC profiles also contain peaks of unidentified substances whose absorption spectra are common for flavonoids and hydroxycinnamic acids.

Conclusions. The obtained TLC and HPLC chromatographic profiles of flavonoids and hydroxycinnamic acids are similar for various samples and can be used to develop methods for identifying of mulberry white leaves plant material and drugs with it. Rutin, isoquercitrin, kaempferol-3-O-β-D-glucoside and chlorogenic acid should be selected as active markers for the subsequent development of methods for identification this plant material using the "chromatographic fingerprinting" method.

Key words: mulberry white leaves, raw materials, flavonoids, hydroxycinnamic acids, chromatographic profile, chromatographic fingerprinting.

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ ПРОФИЛИ ФЛАВОНОИДОВ И ГИДРОКСИКОРИЧНЫХ КИСЛОТ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ОБРАЗЦОВ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ЛИСТЬЕВ ШЕЛКОВИЦЫ БЕЛОЙ

Л. В. Вронска, А. Е. Демид

Тернопольский национальный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского МОЗ Украины
vronska_liudmyla@ukr.net

Цель работы. Изучение ТСХ- и ВЭЖХ-профилей флавоноидов и гидроксикоричных кислот отечественных образцов лекарственного растительного сырья листьев шелковицы белой.

Материалы и методы. Образцы сырья листьев шелковицы белой были собраны в начале июня 2015-2018 годов в районах Тернопольской, Волынской, Харьковской, Николаевской областей, два образца в разные годы были приобретены в Польше – пищевая добавка (измельченные листья) «Morwa biała» (APTEO NATURA, Польша).

В ТСХ-исследованиях использовали хроматографические пластинки Silica gel 60 F254 и хроматографические камеры ("Merck", Германия), прибор для нанесения проб Linomat 5 ("CAMAG", Швейцария). При ВЭЖХ-исследованиях флавоноидов и гидроксикоричных кислот применяли жидкостные хроматографы Agilent 1200 с детектором диодной матрицей G1315D ("Agilent", США) и Waters Alliance System 2690 с детектором диодной матрицей Waters 996 ("Waters", США), хроматографическую колонку XTerra C18 ("Waters", США) и градиентное элюирование.

Результаты и обсуждение. В результате хроматографических исследований отечественных образцов листьев шелковицы белой, собранных в разных регионах Украины, установлено, что рутин, изокверцитрин, кемпферол-3-О-β-D-глюкозид и хлорогеновая кислота являются главными представителями флавоноидов и гидроксикоричных кислот. Кверцитрин и феруловая кислота идентифицируются, но их содержание незначительно, что согласуется с данными литературы относительно фитохимического анализа польских, сербских, китайских, корейских, венгерских образцов сырья. В ТСХ-профилях, кроме указанных БАП, присутствуют характерные интенсивные зоны, которые, вероятно, принадлежат другим флавоноидам и гидроксикоричным кислотам. Аналогично, ВЭЖХ-профили также содержат пики не идентифицированных веществ, спектры поглощения которых характерны для флавоноидов и гидроксикоричных кислот.

Выводы. Полученные ТСХ- и ВЭЖХ хроматографические профили флавоноидов и гидроксикоричных кислот аналогичны для различных образцов и могут быть использованы для разработки методик идентификации ЛРС листьев шелковицы белой и лекарственных средств на его основе. Рутин, изокверцитрин, кемпферол-3-О-β-D-глюкозид и хлорогеновую кислоту следует выбрать активными маркерами при следующей разработке методик идентификации данной ЛРС методом "хроматографического отпечатка".

Ключевые слова: листья шелковицы белой, сырье, флавоноиды, гидроксикоричные кислоты, хроматографический профиль, хроматографический отпечаток.

Список літератури

1. IDF Diabetes Atlas 8th Edition http://diabetesatlas.org/IDF_Diabetes_Atlas_8e_interactive_EN/
2. Clinical Review of Antidiabetic Drugs: Implications for Type 2 Diabetes Mellitus Management / A. Chaudhury, C. Duvoor, V. Sena [et al.] // Front. Endocrinol. (Lausanne). – 2017. – Vol. 8. – P. 6. DOI: 10.3389/fendo.2017.00006
3. Systematic review of herbs and dietary supplements for glycemic control in diabetes / G. Y. Yeh, D. M. Eisenberg, T. J. Kaptchuk [et al.] // Diabetes care. – 2003. – V. 26, № 4. – P. 1277-1294. DOI: 10.2337/diacare.26.4.1277
4. Деримедвідь Л. В. Можливості застосування комбінацій природних антиоксидантів за умов первинної інсулінорезистентності / Л. В. Деримедвідь, І. П. Бухтіярова // Фармакологія і лікарська токсикологія. – 2011. – № 2 (21). – С. 37-42.
5. Antidiabetic plants improving insulin sensitivity / M. Ed-douks, A. Bidi, B. El Bouhali [et al.] // J. of Pharmacy and Pharmacology. – 2014. – V. 66. – P. 1197-1214. DOI: 10.1111/jphp.12243
6. Tundis R. Natural Products as α-Amylase and α-Glucosidase Inhibitors and their Hypoglycaemic Potential in the Treatment of Diabetes: An Update / R. Tundis, M. R. Loizzo, F. Mennichini // Mini-Reviews in Medical Chemistry. – 2010. – Vol. 10, № 4. – P. 315-331. DOI: 10.2174/138955710791331007
7. Indian Medicinal Plants / [K. S. Mhaskar, E. B. Latter, J. S. Caius та ін.]. – Sri Satguru Publications: Sri Satguru Publications, 2000. – С. 3185.
8. Morus alba L. nature's functional tonic / M. S. Butt, A. Nazir, M. T. Sultan [et al.] // Trends in Food Science & Technology. – 2008. – V. 19. – P. 505-512. DOI:10.1016/j.tifs.2008.06.002
9. Antioxidant activities and polyphenol content of Morus alba leaf extracts collected from varying regions / D. S. Kim, Y. M. Kang, W. Y. Jin [et al.] // Biomedical Reports. – 2014. – V. 2. – P. 675-680. DOI: 10.3892/br.2014.294
10. Grajek K. Bioactivity of Morus Alba L. extracts – an overview / K. Grajek, A. Wawro, D. Pieprzyk-Kokocha

- // International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. – 2015. – V. 6, Iss. 8. – P. 3110-3122. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.6(8).3110-22
11. Tian S. Current anti-diabetes mechanisms and clinical trials using *Morus alba* L. / S. Tian, M. Tang, B. Zhao // J of Traditional Chinese Medical Sciences. – 2016. – V. 3. – P. 3-8. DOI: 10.1016/J.JTCMS.2016.04.001
 12. Chemical constituents of *Morus alba* L. and their inhibitory effect on 3T3-L1 preadipocyte proliferation and differentiation / Y. Yang, X. Yang, B. Xu [et al.] // Fitoterapia. – 2014. – V. 98, Iss. 10. – P. 222-227. DOI: 10.1016/j.fitote.2014.08.010
 13. *Morus Alba* Linn. A Phytopharmacological review / B. Devi, N. Sharma, D. Kumar [et al.] // Intern. J. of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. – 2013. – Vol. 5, Iss. 2. – P. 14-18.
 14. Metabolic Effects of Mulberry Leaves: Exploring Potential Benefits in Type 2 Diabetes and Hyperuricemia / A. Hunyadi, E. Liktör-Busa, A. Marki [et al.] // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013. – Vol. 3. – Article ID 948627. – 10 p. DOI: 10.1155/2013/948627
 15. Zhong L. An extract of black, green, and mulberry teas causes malabsorption of carbohydrate but not of triacylglycerol in healthy volunteers / L. Zhong, J. K. Furne, M. D. Levitt // The American J of Clinical Nutrition. – 2006. – Vol. 84. – P. 551-555. DOI 10.1093/ajcn/84.3.551
 16. Цуркан О. О. Вивчення біологічно активних речовин надземної частини шовковиці білої (*Morus Alba* L.) і шовковиці чорної (*Morus Nigra* L.) / О. О. Цуркан, Т. В. Ковальчук, О. В. Гергель // Фарм. журнал. – № 6. – С. 72-78.
 17. Vronska L. Study of biologically active substances of White Mulberry leaves and their extracts / L. Vronska, A. Demyd, A. Dub [et al.] // Plant – the source of research material: 5th International Conference and Workshop, 21 - 24. 06. 2017. – Lublin. – 2015. – P. 167.
 18. Вивчення гіпоглікемічної дії фітозасобу, що містить сухі екстракти з листя шовковиці білої, стулок квасолі звичайної і пагонів чорниці звичайної / А. І. Дуб, І. М. Кліщ, Л. В. Вронська [et al.] // Медична та клінічна хімія. – 2018. – Т. 20, № 3. – С. 43-49. DOI 10.11603/mcsh.2410-681X.2018.v0.i3.9313
 19. Вивчення специфічної активності фітозасобу, що містить сухі екстракти з листя шовковиці білої, стулок квасолі звичайної і пагонів чорниці на експериментальній моделі інсулінорезистентності, викликаної дексаметазоном / А. І. Дуб, І. М. Кліщ, Л. В. Вронська [et al.] // Colloquium-journal. – 2018. – № 11(22), Cz. 2. – P. 32-41.
 20. Vronska L. V. Development of phenolic compounds chromatographic identification in bilberry shoots / L. V. Vronska, M. B. Chubka, A. Ye. Demyd // Фармацевтичний часопис. – 2015. – № 3. – С. 28-33. DOI 10.11603/2312-0967.2015.3.4951
 21. Chemical characterization and antioxidative properties of Polish variety of *Morus alba* L. leaf aqueous extracts from the laboratory and pilot-scale processes / E. Flaczyk, J. Kobus-Cisowska, M. Przeor [et al.] // Agric. Sci. – 2013. – P. 141–147. DOI: 10.4236/as.2013.45B026
 22. Free radical scavenging activity and total phenolic and flavonoid contents of mulberry (*Morus* spp. L., Moraceae) extracts / M. M. Radojkovic, Z. P. Zekovic, S. S. Vidovic [et al.] // Hem Ind. – 2012. – № 66. – P. 547-552. DOI: 10.2298/HEMIND11111002R
 23. Phytochemical Profiles of Different Mulberry (*Morus* sp.) Species from China / W. Song, H-J. Wang, P. Bucheli [et al.] // J. Agric. Food Chem. – 2009. – №57(19). – P. 9133–9140. DOI: 10.1021/jf9022228
 24. Investigation of the antidiabetic activity of *Morus alba* leaf extract in vitro and in vivo / A. Hunyadi, E. Liktör-Busa, A. Balogh [et al.] // Planta Med. – 2010. – Vol. 76. – P. 098. DOI: 10.1055/s-0030-1264396
 25. Chlorogenic acid and rutin play a major role in the in vivo anti-diabetic activity of *Morus alba* leaf extract on type II diabetic rats / A. Hunyadi, A. Martins, T. J. Hsieh [et al.] // Plos One. – 2012. – Vol. 7(11). – e50619. DOI: 10.1371/journal.pone.0050619

References

1. IDF Diabetes Atlas 8th Edition http://diabetesatlas.org/IDF_Diabetes_Atlas_8e_interactive_EN/
2. Chaudhury A, Duvoor C, Sena V, Kraleti S, Chada A, Ravilla R, et al. Clinical Review of Antidiabetic Drugs: Implications for Type 2 Diabetes Mellitus Management. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2017;8:6. DOI: 10.3389/fendo.2017.00006
3. Yeh GY, Eisenberg DM, Kaptchuk TJ, Phillips RS. Systematic review of herbs and dietary supplements for glycemic control in diabetes. *Diabetes care*. 2003;4:1277-94. DOI: 10.2337/diacare.26.4.1277
4. Derymedvid LV, Buhtiyarova IP. [The possibility of using natural antioxidant combinations under conditions of primary insulin resistance]. *Pharmacology and medicinal toxicology*. 2011;21:37-42. Ukrainian.
5. Eddouks M, Bidi A, El Bouhali B, Hajji L, Zeggwagh NA. Antidiabetic plants improving insulin sensitivity. *J. of Pharmacy and Pharmacology*. 2014;66: 1197-214. DOI: 10.1111/jphp.12243
6. Tundis R, Loizzo MR, Mennichini F. Natural Products as α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitors and their Hypoglycaemic Potential in the Treatment of Diabetes: An Update. *Mini-Reviews in Medical Chemistry*. 2010;4:315-31. DOI: 10.2174/138955710791331007
7. Mhaskar KS, Latter EB, Caius JS, Kirtikar KR, Basu BD. *Indian Medicinal Plants*. Vol. 3. Sri Satguru Publications. 2000. p. 3185.
8. Butt MS, Nazir A, Sultan MT, Schroen K. *Morus alba* L. nature's functional tonic. *Trends in Food Science & Technology*. 2008;19:505-12. DOI:10.1016/j.tifs.2008.06.002
9. Kim DS, Kang YM, Jin WY, Sung YY, Choi G, Kim HK. Antioxidant activities and polyphenol content of *Morus alba* leaf extracts collected from varying regions. *Biomedical Reports*. 2014;2:675-80. DOI: 10.3892/br.2014.294

10. Grajek K, Wawro A, Pieprzyk-Kokocha D. Bioactivity of *Morus Alba L.* extracts – an overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.* 2015;6:3110-22. DOI: 10.13040/IJP-SR.0975-8232.6(8).3110-22
11. Tian S, Tang M, Zhao B. Current anti-diabetes mechanisms and clinical trials using *Morus alba L.* *J. of Traditional Chinese Medical Sciences.* 2016;3:3-8. DOI: 10.1016/J.JTCMS.2016.04.001
12. Yang Y, Yang X, Xu B, Zeng G, Tan J, He X, et al. Chemical constituents of *Morus alba L.* and their inhibitory effect on 3T3-L1 preadipocyte proliferation and differentiation. *Fitoterapia.* 2014;98:222-7. DOI: 10.1016/j.fitote.2014.08.010
13. Devi B, Sharma N, Kumar D, Jeet K. *Morus Alba Linn:* A Phytopharmacological review. *Intern. J. of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 2013;5:14-8.
14. Hunyadi A, Liktör-Busa E, Marki A, Martins A, Jedlinszki N, Hsieh TJ, et al. Metabolic Effects of Mulberry Leaves: Exploring Potential Benefits in Type 2 Diabetes and Hyperuricemia. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2013;3:10. DOI: 10.1155/2013/948627
15. Zhong L, Furne JK, Levitt MD. An extract of black, green, and mulberry teas causes malabsorption of carbohydrate but not of triacylglycerol in healthy volunteers. *The American J of Clinical Nutrition.* 2006;84:551-5. DOI 10.1093/ajcn/84.3.551
16. Tsurkan OO, Kovalchuk TV, Gergel OV. [Study of bioactive substances of overground part of mulberry white (*Morus Alba L.*) and mulberry black (*Morus Nigra L.*)]. *Farmaceut J.* – 2011;6:72-8. Ukrainian.
17. Vronska L, Demyd A, Dub A, Hroshoviy T, Klishch I. Study of biologically active substances of White Mulberry leaves and their extracts. Plant – the source of research material: 5th International Conference and Workshop, 2017 June 21-4; Lublin. Lublin: Botanical Garden of Maria Curie-Skłodowska University; 2015. p. 167. Poland.
18. Dub AI, Klishch IM, Vronska LV, Stechyshyn IP. Research the hypoglycemic activity of the herbal remedy that contain dry extracts of white mulberry leaves, common bean shells and blueberry sprouts. *Med and clinical chem.* 2018;3:43-9. Ukrainian. DOI 10.11603/mcch.2410-681X.2018.v0.i3.9313
19. Dub AI, Klishch IM, Vronska LV, Stechyshyn IP. Investigation the specific activity of the herbal remedy, that contains dry extracts of the white mulberry leaves, common bean shells and blueberry sprouts on the experimental model of dexametasone-induced insulin resistance. *Colloquium-journal.* 2018;11(22),2:32-41.
20. Vronska LV, Chubka MB, Demyd AYe. Development of phenolic compounds chromatographic identification in bilberry shoots. *Farmaceut chasop.* 2015;3: 28-33. DOI 10.11603/2312-0967.2015.3.4951
21. Flaczyk E, Kobus-Cisowska J, Przeor M, Korczak J, Remiszewski M, Korbias E, Buchowski M. Chemical characterization and antioxidative properties of Polish variety of *Morus alba L.* leaf aqueous extracts from the laboratory and pilot-scale processes. *Agric Sci.* 2013;04:141–7. DOI: 10.4236/as.2013.45B026
22. Radojkovic MM, Zekovic ZP, Vidovic SS, Kocar D.D., Maskovic P.Z. Free radical scavenging activity and total phenolic and flavonoid contents of mulberry (*Morus spp. L., Moraceae*) extracts. *Hem Ind.* 2012; 66:547–52. DOI: 10.2298/HEMIND111111002R
23. Song W, Wang H-J, Bucheli P, Zhang P-F, Wei D-Z, Lu Y-H. Phytochemical Profiles of Different Mulberry (*Morus sp.*) Species from China. *J Agric Food Chem.* 2009;57(19):9133–40. DOI: 10.1021/jf9022228
24. Hunyadi A, Liktör-Busa E, Balogh A, Hsieh T, Zupko I, Hohmann J. Investigation of the antidiabetic activity of *Morus alba* leaf extract in vitro and in vivo. *Planta Med.* 2010;76-P098. DOI: 10.1055/s-0030-1264396
25. Hunyadi A, Martins A, Hsieh TJ, Seres A, Zupko I. Chlorogenic acid and rutin play a major role in the in vivo antidiabetic activity of *Morus alba* leaf extract on type II diabetic rats. *Plos One.* 2012;7(11):e50619. DOI: 10.1371/journal.pone.0050619

Відомості про авторів:

Вронська Л. В. – канд. хім., н., доцент кафедри фармації, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, Тернопіль, Україна. E-mail: vronska_liudmyla@ukr.net, ORCID 0000-0002-7223-6966

Демид А. Є. – канд. хім., н., доцент кафедри загальної хімії, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, Україна. E-mail: demyd@tdmu.edu.ua, ORCID 0000-0001-8275-1307

Information about the authors:

Vronska L. V. – PhD (Chemistry), Associate Professor of the Pharmacy Department, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine. E-mail: vronska_liudmyla@ukr.net, ORCID 0000-0002-7223-6966

Demyd A. Ye. – PhD (Chemistry), Associate Professor of the General Chemistry Department, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine. E-mail: demyd@tdmu.edu.ua, ORCID 0000-0001-8275-1307