

Рекомендована д-м фармац. наук, проф. С. М. Марчишин

УДК 582.542.1:581.184.20

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ СУМИ ФЛАВОНОЇДІВ В ЕКСТРАКТАХ ПРИЙМОЧОК ЗІ СТОВПЧИКАМИ КУКУРУДЗИ

©**О. І. Єзерська, Т. Г. Калинюк, Л. В. Вронська**¹

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

¹Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського

Резюме: визначено кількісний вміст флавоноїдів в екстрактах приймочок зі стовпчиками кукурудзи і досліджено його залежність від концентрації спирту етилового.

Ключові слова: приймочки зі стовпчиками кукурудзи, флавоноїди, кількісне визначення, екстракти.

Вступ. Пошук рослин, які можуть бути джерелом біологічно активних речовин, з метою створення високоефективних лікарських засобів є одним із основних завдань сучасної фармацевтичної науки. Особливо це стосується рослин, що мають багатовікову історію використання в народній медицині. До таких рослин належать кукурудза звичайна (*Zea mays*) – однорічна однодомна трав'яниста рослина родини злакових. Кукурудзяні приймочки містять сапоніни (до 3,18%), дубильні речовини, гіркі глікозиди (до 1,5%), флавоноїди, алкалоїди (до 0,5%), ефірну (до 0,12%) і жирну (до 2,5%) олії, стерини (стигмастерол, ситостерол), вітамін К (1 600 біологічних одиниць на 1 г), аскорбінову і пантотенову кислоти, спирт інозит, мікроелементи та інші речовини [1, 2].

Препарати з приймочок кукурудзи мають жовчогінні, діуретичні, кровоспинні й гіпоглікемічні властивості. Вони збільшують секрецію й поліпшують відтік жовчі, змінюють її фізико-хімічні властивості (знижуються в'язкість, питома вага, кількість білірубіну). Кровоспинна дія кукурудзи ґрунтується на її здатності прискорювати процес зсідання крові за рахунок впливу на синтез протромбіну в печінці і збільшення кількості тромбоцитів. Як жовчогінний засіб препарати з приймочок кукурудзи показані при жовчнокам'яній хворобі, гепатитах, холециститах і холангітах, як кровоспинний засіб – при геморагічних діатезах і маткових кровотечах різного походження. Крім того, препарати з приймочок кукурудзи дають добрі результати при лікуванні циститів, нирковокам'яної хвороби, набряків, пов'язаних з порушенням серцевої діяльності, та ожиріння [1].

Особливу увагу серед біологічно активних речовин кукурудзи заслуговують флавоноїди, завдяки антиоксидантній, протизапальній і жовчогінній дії.

Мета дослідження – визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів в екстрактах приймо-

чок зі стовпчиками кукурудзи та вибір екстрагенту для вилучення флавоноїдів.

Методи дослідження. Екстракти приймочок зі стовпчиками кукурудзи отримували методом реперколяції, використовуючи сировину – приймочки зі стовпчиками кукурудзи виробництва ЗАТ «Ліктрави», м. Житомир (Україна). З метою вибору кращого екстрагенту флавоноїдів із досліджуваної сировини нами було отримано екстракти з використанням спиртових розчинів різної концентрації і води.

Дослідження якісного складу поліфенольних сполук в отриманих екстрактах проводили методом тонкошарової хроматографії, використовуючи хроматографічні пластинки Silica gel F₂₅₄ та систему розчинників кислота мурашина безводна – вода – етилацетат (6:9:90). Висушену та витриману протягом 10 хв при температурі 100 – 105 °С пластинку обробляли розчином 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти, а потім – розчином 50 г/л макрололу 400 в метанолі, через 30 хв пластинку переглядали в УФ світлі з довжиною хвилі 365 нм. Плями флавоноїдів мали жовто-оранжеву флуоресценцію.

Кількісне визначення суми флавоноїдів проводили спектрофотометричним методом на основі реакції утворення комплексної сполуки флавоноїдів з хлоридом алюмінію у спиртовому середовищі [3]. Запис спектрів і вимірювання оптичної густини проводили на спектрофотометрі Carry – 50 М.

У дослідженнях використали стандартні зразки речовин флавоноїдів: гіперозид (ФСЗ ДФУ), апігенін (Fluka), кверцетин (Fluka), рутин (Sigma), лютеолін-7-глюкозид (ФСЗ), кемпферол (Sigma), розчини яких готували на метанолі шляхом розчинення відповідних точних наважок. Розчин 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти і 50 г/л макрололу 400 в метанолі готували відповідно до методик, описаних у ДФУ [4, 5, 6].

Розчин 2 % хлориду алюмінію готували розчиненням відповідної наважки реактиву кваліфікації «ч.д.а» у 70 % спирті етиловому.

Результати й обговорення. Хроматографічні дослідження дозволили встановити присутність в отриманих екстрактах семи флавоноїдів, серед яких ідентифіковано гіперозид ($R_f = 0,21$), лутеолін-7-глюкозид ($R_f = 0,24$), апігенін (0,82). Чотири інші неідентифіковані речовини мали фактори рухливості відповідно: 0,12 (інтенсивна флуоресценція), 0,43, 0,71 (дуже інтенсивна флуоресценція), 0,76.

У диференційних електронних спектрах поглинання розчинів, отриманих зливанням відповідних аліквот досліджуваних екстрактів із 2 % розчином хлориду алюмінію, спостерігали появу максимуму поглинання при довжині хвилі (400 ± 2) нм (рис. 1). Як видно з рисунка 1, для всіх екстрактів спостерігається аналогічний хід кривих світлопоглинання. Порівнюючи отримані

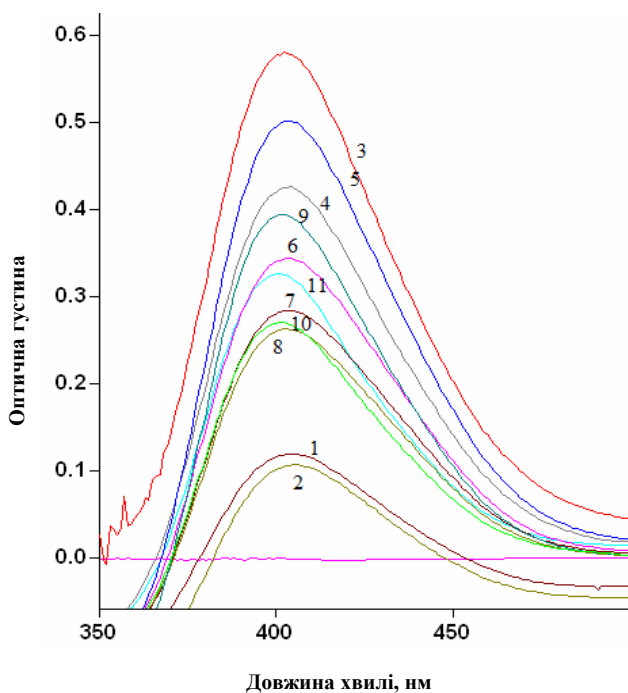


Рис. 1. Диференційні електронні спектри поглинання випробуваних розчинів в умовах кількісного визначення флавоноїдів в екстрактах приймочок зі стовпчиками кукурудзи: 1 – водний екстракт, 2 – 11 спиртові екстракти (концентрація спирту наведена у таблиці 1).

Кількісне визначення суми флавоноїдів у досліджуваних екстрактах приймочок зі стовпчиками кукурудзи проводили за такою методикою.

Методика кількісного визначення.

Випробуваний розчин. Аліквотну частину досліджуваного спиртового екстракту, достатню для отримання оптичної густини в межах 0,4 – 0,6,

спектри із спектрами стандартних флавоноїдів, отриманих в аналогічних випробуваних розчинах умовах, нами встановлено, що за ходом кривої світлопоглинання та положенням максимуму поглинання, спектри випробуваних розчинів і розчину лутеолін-7-глюкозиду ідентичні (рис. 2). Тому кількісний вміст суми флавоноїдів в екстрактах можна перераховувати на лутеолін-7-глюкозид або його аглікон – лутеолін, оскільки комплексоутворення з хлоридом алюмінію в обох випадках відбувається за орто-розміщеними гідроксильними групами у 3',4'-положенні. Відрізнятиметься для цих двох речовин лише питомий коефіцієнт світлопоглинання, оскільки різними є молярні маси аглікону та глікозиду. Згідно з даними літератури [3], питомий коефіцієнт поглинання комплексу флавону з хлоридом алюмінію при довжині хвилі 400 нм для лутеоліну становить 549, а розрахований нами для лутеолін-7-глюкозиду – 387.

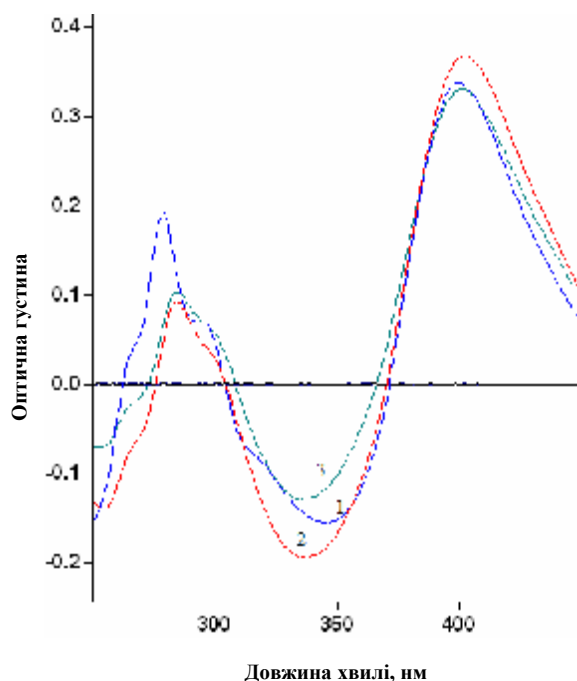


Рис. 2. Диференційні електронні спектри поглинання розчинів в умовах кількісного визначення флавоноїдів: 1 – лутеолін-7-глюкозиду, 2 – екстракт, отриманий на 50 % спирті, 3 – екстракт, отриманий на 60 % спирті.

поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл і додають 10 мл 95 % спирту етилового, 4 мл 2 % спиртового розчину хлориду алюмінію і доводять об'єм отриманого розчину 95 % спиртом етиловим до позначки та перемішують.

Компенсаційний розчин. Аліквотну частину досліджуваних спиртових екстрактів, однакову за

розміром з аліквотою, взятою для приготування випробуваного розчину, поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 0,1 мл льодяної оцтової кислоти і доводять об'єм отриманого розчину 95 % спиртом етиловим до позначки та перемішують.

Через 40 хв вимірюють оптичну густину розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі 400 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи відповідний компенсаційний розчин.

Вміст суми флавоноїдів в екстракті (X) у відсотках та в перерахунку на лютеолін, розраховували за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 25}{E \cdot V_a \cdot 1}$$

де X – масово-об'ємна частка суми флавоноїдів в екстракті, у відсотках;

A – оптична густина випробуваного розчину;
 E – питомий показник поглинання при довжині хвилі 400 нм для лютеоліну 549;

V_a – об'єм аліквоти досліджуваного екстракту, взятої для аналізу, у мл.

Результати визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів в екстрактах приймочок зі стовпчиками кукурудзи наведено у таблиці 1.

Як показують результати, наведені у таблиці 1, найбільша кількість флавоноїдів міститься в екстракті, що був отриманий з використанням 50 % спирту етилового. Таким чином, 50 % спирт етиловий – кращий екстрагент флавоноїдів з приймочок зі стовпчиками кукурудзи та може застосовуватись як при технологічному одержанні екстрактів, так і з аналітичною метою – при отриманні спиртових вилучень для контролю якості даної лікарської сировини.

Таблиця 1. Результати визначення суми флавоноїдів в екстрактах приймочок зі стовпчиками кукурудзи

№ за/п екстракту	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Концентрація спирту, %	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	95
Сума флавоноїдів у перерахунку на лютеолін, % 10^{-3}	2,68	2,43	13,20	19,34	22,84	31,31	25,85	23,93	17,93	6,14	3,71

Висновки. Запропоновано методику кількісного визначення суми флавоноїдів в екстрактах приймочок зі стовпчиками кукурудзи з перерахун-

ком вмісту на лютеолін або лютеолін-7-глюкозид. Кращим екстрагентом флавоноїдів з приймочок зі стовпчиками кукурудзи є 50 % спирт етиловий.

Література

1. Гродзінський А.М. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / А. М. Гродзінський. – К.: Олімп, 1992. – С. 224–225.
2. Чекман І. С. Клінічна фітотерапія / І. С. Чекман. – К.: Видав. А.С.К., 2003. – 552 с.
3. Евдокимова О. В. Валидація методики кількісного визначення сумми флавоноїдів в столбиках с рыльцами кукурузы / О. В. Евдокимова // Фармація. – 2008. – № 7. – С. 14-17.
4. Державна Фармакопея України. – 1-ше вид. –

Харків : Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2001. – 556 с.

5. Державна Фармакопея України. – 1-ше вид. – Харків : Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – Доповнення 2. – 2008. – 620 с.

6. Государственная фармакопея СССР. – Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М. : Медицина, 1989. – 400 с.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В ЭКСТРАКТАХ СТОЛБИКОВ С РЫЛЬЦАМИ КУКУРУЗЫ

О. И. Езерская, Т. Г. Калынюк, Л. В. Вронска¹

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого

¹Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского

Резюме: определено количественное содержание флавоноидов в экстрактах рылец со столбиками кукурузы и исследована его зависимость от концентрации спирта этилового.

Ключевые слова: рыльца со столбиками кукурузы, флавоноиды, количественное определение, экстракты.

THE DETERMINATION OF FLAVONOIDS SUM IN ZEAE MAYDIS STYLI CUM STIGMATIS EXTRACTS

O. I. Yezeraska, T. H. Kalynyuk, L. V. Vronska¹

Lviv National Medical University by Danylo Halytskyi

¹Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky

Summary: there was determined the quantitative content of flavonoids in extracts zeaе maydis styli cum stigmatis and investigated its dependence on the concentration of ethyl alcohol.

Key words: zeaе maydis styli cum stigmatis, flavonoids, assay, extracts.