

К. Є. Кисельова, Н. Ю. Бевз, О. О. Михайленко, М. І. Яромій, Л. І. Вишневська

Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України

Обґрунтування вибору екстрагента для отримання вилучень наземної частини леспедеці двоколірної

Мета – обґрунтувати вибір екстрагента для отримання вилучень наземної частини леспедеці двоколірної.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження була подрібнена надземна частина леспедеці двоколірної. Екстрагували водою очищеною, 40 та 70 % водно-спиртовим розчином методом мацерації із застосуванням приладу для УЗ-екстракції. Аналітичні дослідження виконували відповідними реакціями ідентифікації, методом тонкошарової хроматографії на хроматографічних пластинках Silica gel 60 фірми Merk, спектрофотометричні випробування здійснювали на спектрофотометрі Evolution 60s з використанням реактивів, що відповідають вимогам ДФУ.

Результати та їх обговорення. Хімічними реакціями ідентифіковано наявність у водному та спиртових вилученнях леспедеці двоколірної речовин флавоноїдної будови, фенолів, дубильних речовин та вуглеводнів. Методом ТШХ ідентифіковано таніни, схожі за будовою на пірогалол, полісахариди, схожі за структурою на фруктозу, флавоноїди, більшість з яких схожі на рутин, та гідроксикоричні кислоти, більшість з яких схожа на хлорогенову кислоту. Спектрофотометричним методом визначено, що екстрагування 40 % і 70 % водно-спиртовим розчином сприяє більш повному вилученню флавоноїдів, схожих за будовою на рутин, а 40 % етанолом – речовин поліфенольної будови в перерахунку на галову кислоту.

Висновки. На підставі результатів дослідження у водному та спиртових вилученнях леспедеці двоколірної ідентифіковано дубильні речовини, речовини флавоноїдної будови, феноли та вуглеводні. Експериментально підтверджено більш повне вилучення речовин поліфенольної будови 40 %, а флавоноїдів – 40 та 70 % етанолом. Експериментально з'ясовано, що за співвідношення 1:7,5 вилучення містять більше БАС, однак їх повніше вилучення відбувається у співвідношенні 1:10. Дослідження довели перспективи використання ультразвукового приладу для екстракції ЛРС, бо це дає можливість значно посилювати вилучення БАС, якщо порівнювати з методом мацерації.

Ключові слова: леспедеця двоколірна; екстракція; спектрофотометрія; поліфенольні сполуки; флавоноїди

K. E. Kyselova, N. Yu. Bevz, O. O. Mykhailenko, M. I. Yaromiy, L. I. Vyshnevskaya
National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine

The substantiation of the choice of an extractant for obtaining extractions of the overground part of *Lespedeza bicolor*

Aim. To substantiate the choice of an extractant when obtaining extractions of the overground part of *Lespedeza bicolor*.

Materials and methods. The study object was the crushed overground part of *Lespedeza bicolor*. Extraction was carried out with purified water, 40 % and 70 % water-alcohol solution by the method of fine maceration and using a device for ultrasound extraction. Analytical studies were performed by the appropriate identification reactions, by the method of thin-layer chromatography on Silica gel 60 chromatographic plates of the Merk company; spectrophotometric tests were carried out on an Evolution 60s spectrophotometer using reagents meeting the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine.

Results and discussion. Chemical reactions identified the presence of flavonoid substances, phenols, tannins, and hydrocarbons in aqueous and alcoholic extracts of *Lespedeza bicolor*. Tannins identified by thin-layer chromatography were structurally similar to pyrogallol, polysaccharides were structurally similar to fructose, most flavonoids were similar to rutin, and most hydroxycinnamic acids were similar to chlorogenic acid. By the spectrophotometric method it was found that extraction with 40 % and 70 % water-alcohol solution contributed to a more complete extraction of flavonoids similar in structure to rutin, and 40 % ethanol gave substances of the polyphenolic structure calculated with reference to gallic acid.

Conclusions. Based on the research results, tannins, flavonoid substances, phenols and hydrocarbons have been identified in aqueous and alcoholic extractions of *Lespedeza bicolor*. A more complete extraction of polyphenols with 40 % ethanol, and flavonoids with 40 and 70 % ethanol has been experimentally confirmed. It has been experimentally found that in a ratio of 1:7.5, extractions contain more BAS, but their more complete extraction occurs in a ratio of 1:10. The studies have shown the prospects of using an ultrasonic device for the medicinal raw plant material extraction as it makes it possible to intensify the extraction of BAS compared to the maceration method.

Keywords: *Lespedeza bicolor*; extraction; spectrophotometry; polyphenols; flavonoids

Вступ. Леспедеця двоколірна (*Lespedeza bicolor*) – найбільш вивчений вид із 58 видів леспедеці, що володіє різноманітним хімічним складом, а отже, виявляє широкий спектр фармакологічної активності. Окрім леспедеці двоколірної, досліджено такі види, як *Lespedeza homoloba* і *Lespedeza cuneata* та деякі інші [1].

Леспедеця – багате джерело різних фітохімічних компонентів, таких як флавоноїди, фенольні сполуки, фенілпропаноїди, стероїди, лігнани та фенілділактони [1].

Як сировину для отримання екстрактів та дослідження фармакологічної активності використовують усю наземну частину, кору стебла, кору кореня, квіти, з яких отримують етанольні та метанольні вилучення.

Аналіз літературних даних засвідчив зацікавленість науковців у дослідженні хімічного складу та фармакологічної активності леспедеці двоколірної. З'ясовано, що леспедеця двоколірна володіє протипухлинною, антиоксидантною і протимікробною активністю, що зумовлено наявністю флавоноїдів і речовин поліфенольної будови [2-5].

З літератури відомо, що лігнани *L. cuneata* виявляють гепатопротекторну і противиразкову активність у разі виразкового коліту, а флавоноїди – гепатопротекторний і NO-інгібувальні ефекти [1].

Поліфенольні сполуки, виділені з кори леспедеці двоколірної, вибірково інгібують в пробірці рак простати людини, стійкий до ліків. Рослину часто використовують у народній медицині для виведення токсинів, поповнення запасів енергії та регулювання різних симптомів діабету, що спонукало дослідників з'ясувати, що *L. bicolor* відновлює метаболічну дисфункцію та глюкотоксичність за діабетичної нефропатії, зменшуючи окислювальний стрес, запалення та пошкодження нирок [6, 7]. У роботі [7] наведено результати дослідження противірусної активності пренільованих поліфенольних сполук із кори стебла та квітів *L. bicolor* проти інфекції HSV-1 та QSAR-аналізу щодо їхньої віруліцидної активності.

Фармакологічні дослідження свідчать, що метанольний екстракт *L. bicolor* володіє протизапальною, антиоксидантною активністю та виявляє інгібіторну дію на тирозиназу і його можна використовувати для лікування постзапальної пігментації шляхом інгібування патогенного процесу, пов'язаного з гіперпігментацією [8].

Через те що *L. bicolor* містить суму біологічно активних сполук, які різняться за хімічною будовою та можуть діяти як синергічно, так і антагоністично, потрібна додаткова робота для визначення потенційних складових витяжок, отриманих з використанням різних екстрагентів.

Мета роботи – обґрунтувати вибір екстрагента для отримання вилучень наземної частини леспедеці двоколірної.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження була повітряно-суха подрібнена надземна частина, що складається з суміші бутонів, квітів, листя і стебл

леспедеці двоколірної (*Lespedeza bicolor* Turcz., родина Бобові), заготовлена в колекції «Лікарські рослини» ботанічного саду ЛНУ ім. Івана Франка (Львів, Україна) у I декаді серпня 2022 року, у фенофазу масового цвітіння. Зразки, ідентифіковані ст.н.сп. М. І. Скібіцькою, було збережено в гербарії (LW) Львівського національного університету імені Івана Франка (LW0056630), Україна. Сировину сушили за температури навколишнього середовища 20-24 °C і використовували для хімічного та технологічного аналізу.

Для екстрагування біологічно активних сполук з леспедеці двоколірної використовували такі екстрагенти: 40 % спирт етиловий, 70 % спирт етиловий та вода очищена. На цьому етапі дослідження екстрагували лікарську рослину сировину методом мацерації і УЗ-екстракції з використанням лабораторного ультразвукового приладу Ultrasonic Cleaner (потужність ультразвукового випромінювання 120 Вт і частота 40 кГц), у який поміщали ємність з сировиною та відповідним екстрагентом.

За використання як екстрагента 40 % етанолу екстрагували методом мацерації у співвідношенні 1:7,5 (зразок 1) і 1:10 (зразок 2) та із застосуванням приладу для УЗ-екстракції у співвідношенні 1:7,5 (зразок 3). За використання як екстрагента 70 % етанолу екстрагували як методом мацерації у співвідношенні 1:7,5 (зразок 4) і 1:10 (зразок 5), так і УЗ-екстракцією у співвідношенні 1:7,5 (зразок 6). Водне вилучення отримували шляхом настоювання сировини на водяній бані за співвідношення 1:10 з урахуванням коефіцієнта водопоглинання протягом 15 хв з подальшим настоюванням за охолодження протягом 45 хв (зразок 7).

Аналітичні дослідження проводили методом тонкошарової хроматографії на хроматографічних пластинках Silica gel 60 фірми Merk, спектрофотометричні випробування здійснювали на спектрофотометрі Evolution 60s з використанням реактивів, що відповідають вимогам Державної фармакопеї України [9].

За зовнішнім виглядом досліджувані зразки – рідини жовтувато-коричневого, коричневого, зеленувато-коричнюватого забарвлення з характерним специфічним запахом.

Реакції ідентифікації. Перед проведенням реакцій отримані зразки розводили, для чого 5,0 мл зразка поміщали у мірну колбу на 25,0 мл і доводили до мітки підходящим розчинником.

Реакції на флавоноїди

Ціанідінова проба в модифікації за Бріантом: до 1 мл отриманого розчину вилучення (екстракту) додають 2-3 краплі кислоти хлоридної концентрованої та металічний магній, у результаті утворюється забарвлений в рожевий колір розчин.

Реакція з 2 % спиртовим розчином алюмінію хлориду: до 1 мл отриманого розчину додають 1 мл 2 % спиртового розчину алюмінію хлориду; утворюється яскраве зеленувато-жовте забарвлення.

Реакція з 10 % спиртовим розчином лузгу: до 1 мл отриманого розчину екстракту додають 10 % спиртовий

розчин калію гідроксиду; утворюється розчин жовтого кольору.

Реакція з мінеральними кислотами: до 1 мл отриманого розчину екстракту додають розчин сульфатної кислоти (1:4); утворюється розчин малинового забарвлення.

Реакції на феноли і дубильні речовини

До 1 мл отриманого розчину екстракту додають 2 мл 2 % розчину FeCl_3 , утворюється синьо-зелене забарвлення.

Реакції на вуглеводи

Рівний об'єм реагентів мідно-тартратний 1 і мідно-тартратний 2 змішують разом і до 2 мл цього розчину додають 1 мл розчину вилучення і обережно кип'яють. Цегляно-червоний осад з'являється в нижній частині пробірки, що свідчить про присутність відновлювальних цукрів.

Методика визначення дубильних речовин (танінів) методом тонкошарової хроматографії (ТШХ)

Випробовуваний розчин. 0,1 мл екстракту доводять до 5,0 мл етанолу 40 % або 70 % (залежно від використовуюваного розчинника).

Розчин порівняння. 2,5 мг пірогалолу *P*, 2,5 мг фруктози *P* розчиняють у 2,5 мл метанолу *P*.

Пластика: ТШХ-пластинка із шаром силікагелю *P*.

Рухома фаза: вода *P* – мурашина кислота безводна *P* – етилацетат *P* (5:10:85).

Об'єм проби: на лінію старту хроматографічної пластинки наносять 10 мкл випробованого розчину (на відстані 1,5 см від краю), 5 мкл розчину порівняння, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 10 см від лінії старту.

Висушування: на повітрі, до зникнення запаху розчинника (сушать у витяжній шафі).

Виявлення: обробляють анісового альдегіду розчином *P*, нагрівають за температури 100-105 °С протягом 5 хв до проявлення плям. Переглядають за денного світла.

Методика визначення сполук поліфенольної будови методом ТШХ

Випробовуваний розчин. 0,1 мл спиртової витяжки леспедеці двоколірної вміщують у мірну колбу місткістю 5,0 мл і доводять до об'єму 40 % або 70 % спиртом (залежно від використовуюваного екстрагенту).

Розчин порівняння. 1 мг рутину, 5 мг кверцетину, 5 мг хлорогенової кислоти і 5 мг кавової кислоти розчиняють у 10 мл метанолу.

Пластика: ТШХ-пластинка із шаром силікагелю *P*.

Рухома фаза: бутанол *P* – оцтова кислота безводна *P* – вода *P* (4:1:2).

Об'єм проби: на лінію старту хроматографічної пластинки наносять 10 мкл випробованого розчину, 5 мкл розчину порівняння, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 12 см від лінії старту.

Висушування: на повітрі, до зникнення запаху розчинника 30 хвилин.

Виявлення: обробляють 5 % розчином алюмінію хлориду в метанолі, висушують у потоці теплого

повітря і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Методика кількісного визначення поліфенольних сполук

Випробовуваний розчин. 0,1 мл відповідного зразка вміщують у мірну колбу місткістю 25,0 мл, доводять об'єм етиловим спиртом відповідної концентрації або водою до мітки та перемішують.

Розчин порівняння. 0,0398 г кислоти галової вміщують у мірну колбу місткістю 25,0 мл, розчиняють у 10 мл 70 % спирту етилового та доводять розчин тим же розчинником до мітки. 1,0 мл отриманого розчину вміщують у мірну колбу місткістю 100,0 мл, доводять тим же розчинником до мітки та перемішують.

Компенсаційний розчин. Спирт етиловий відповідної концентрації або вода.

Вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину та розчину порівняння на спектрофотометрі за довжини хвилі 278 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм.

Вміст суми поліфенольних сполук (*X*, %) у перерахунку на кислоту галову обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 25,0 \cdot 1 \cdot 100}{A_0 \cdot V \cdot 25,0 \cdot 100} = \frac{A \cdot m_0}{A_0 \cdot V}$$

де *A* – оптична густина випробовуваного розчину;

*A*₀ – оптична густина розчину стандартного зразка галової кислоти;

*m*₀ – маса наважки стандартного зразка галової кислоти, г;

V – об'єм препарату, взятий для аналізу, мл.

Методика кількісного визначення танінів

Випробовуваний розчин. 0,1 мл відповідного екстракту вміщують у мірну колбу місткістю 20,0 мл, додають 0,1 мл реактиву Фоліна-Чокальтеу, 2 мл насиченого розчину натрію карбонату, доводять об'єм водою до мітки та перемішують.

Розчин порівняння. 0,020 г пірогалолу вміщують у мірну колбу місткістю 50,0 мл, розчиняють у 25 мл води та доводять розчин тим же розчинником до мітки. 0,1 мл отриманого розчину вміщують у мірну колбу місткістю 20,0 мл, додають 0,1 мл реактиву Фоліна-Чокальтеу, 2 мл насиченого розчину натрію карбонату, доводять об'єм водою до мітки та перемішують.

Компенсаційний розчин. Вода.

Вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину та розчину порівняння на спектрофотометрі за довжини хвилі 710 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм.

Вміст суми поліфенольних сполук (*X*, %) у перерахунку на пірогалол обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 20,0 \cdot 0,1 \cdot 100}{A_0 \cdot V \cdot 20,0 \cdot 50,0} = \frac{A \cdot m_0 \cdot 2}{A_0 \cdot V}$$

де *A* – оптична густина випробовуваного розчину;

*A*₀ – оптична густина розчину стандартного зразка пірогалолу;

*m*₀ – маса наважки пірогалолу, г;

V – об'єм екстракту, взятий для аналізу, мл.

Методика визначення кількісного вмісту флавоноїдів у дослідних зразках

Випробовуваний розчин. 0,1 мл відповідного екстракту вміщують у мірну колбу місткістю 5,0 мл, додають 1,0 мл розчину 20 г/л алюмінію хлориду в метанолі, доводять об'єм 5 % (об/об) кислоти оцтової льодяної у метанолі до мітки та перемішують.

Розчин порівняння. 0,020 г рутину вміщують у мірну колбу місткістю 50,0 мл, розчиняють у 25 мл метанолу та доводять розчин тим же розчинником до мітки. 1,0 мл отриманого розчину вміщують у мірну колбу місткістю 25,0 мл, додають 1,0 мл розчину 20 г/л алюмінію хлориду в метанолі, об'єм 5 % (об/об) кислоти оцтової льодяної в метанолі до мітки та перемішують.

Компенсаційний розчин. 0,1 мл відповідного екстракту доводять розчином 5 % (об/об) кислоти оцтової льодяної в метанолі до об'єму 5,0 мл.

Оптичну густину випробовуваного розчину вимірюють через 30 хвилин після приготування за довжини хвилі 407 нм щодо компенсаційного розчину.

Вміст суми флавоноїдів (X , %) у перерахунку на рутин обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 5,0 \cdot 1,0 \cdot 100}{A_0 \cdot V \cdot 50,0 \cdot 25,0} = \frac{A \cdot m_0}{A_0 \cdot V \cdot 2,5}$$

де A – оптична густина випробовуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину стандартного зразка рутину;

m_0 – маса наважки рутину, г;

V – об'єм екстракту, взятий для аналізу, мл.

Результати та їх обговорення. Для попереднього визначення складу вилучень проводили реакції ідентифікації на біологічно активні речовини леспедеці двоколірної – флавоноїди, феноли і дубильні речовини. Реакції проводили за методиками, описаними в літературі [10]. Хімічні реакції ідентифікації свідчать про наявність у досліджуваних водному та спиртових вилученнях речовин флавоноїдної будови, фенолів, дубильних речовин та вуглеводнів.

Для ідентифікації танінів і речовин полісахаридної будови методом тонкошарової хроматографії

досліджувані зразки розчиняли в спирті етиловому підходящої концентрації або водою, наносили на тонкошарові пластинки, вміщували в рухому фазу вода – мурашина кислота – етилацетат (5:10:85). Маркерами обрано фруктозу і пірогалол. Коли фронт розчинників пройшов 10 см, хроматограми сушили на повітрі, обробляли розчином анісового альдегіду, нагрівали за температури 100-105 °С 15 хвилин і переглядали за денного світла.

Послідовність зон на хроматограмах випробовуваних розчинів та розчину порівняння наведено на рис. 1.

Отримані результати свідчать про наявність у всіх досліджуваних екстрактах танінів і речовин полісахаридної будови (рис. 1). На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися й інші зони.

Визначення сполук поліфенольної будови (флавоноїдів і гідроксикоричних кислот) проводили методом тонкошарової хроматографії в системі розчинників бутанол – кислота оцтова льодяна – вода (4:1:2) з використанням для проявлення 5 % розчину алюмінію хлориду в метанолі. Хроматограми переглядали в УФ-світлі до і після проявлення реактивом.

На хроматограмі випробовуваного розчину наведено послідовність зон, окрім того виявлялися й інші зони (рис. 2).

На хроматограмах досліджуваних екстрактів у всіх зразках проявляються такі зони: блакитна зона на рівні зони кавової кислоти, жовта флуоресцентна зона на рівні зони кверцетину, жовтаво-зеленкувата флуоресцентна зона на рівні зони розташування рутину та блакитна флуоресцентна зона на рівні зони розташування хлорогенової кислоти. У всіх досліджуваних зразках проявляються додаткові зони вище і нижче рівня зон розчину порівняння (рис. 2).

Отримані результати методом ТШХ свідчать про наявність у всіх досліджуваних зразках флавоноїдів, речовин поліфенольної будови і дубильних речовин.

Для визначення кількості біологічно активних сполук, що переходить у воду та спирт різної концентрації, вивчали характер абсорбційних спектрів у ділянці довжини хвиль від 220 нм до 450 нм (рис. 3).

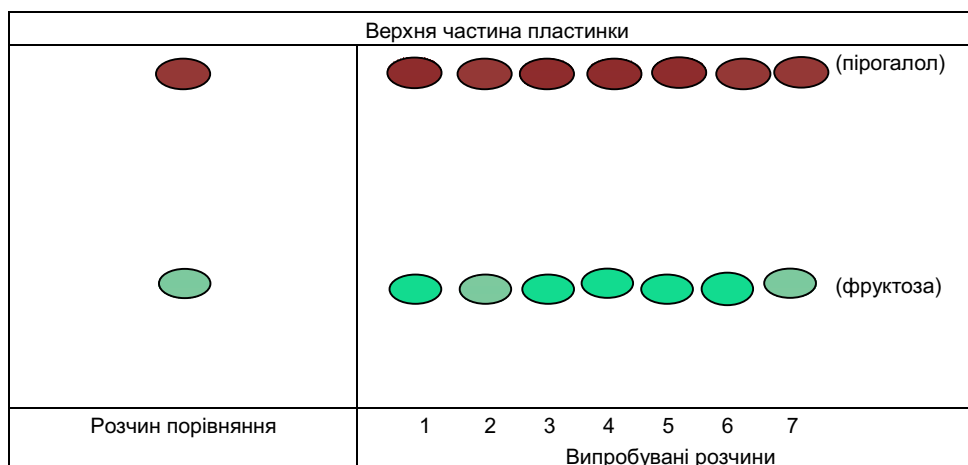


Рис. 1. Схема хроматограми, отримана за ідентифікації танінів і речовин полісахаридної будови в дослідних зразках екстрактів леспедеці

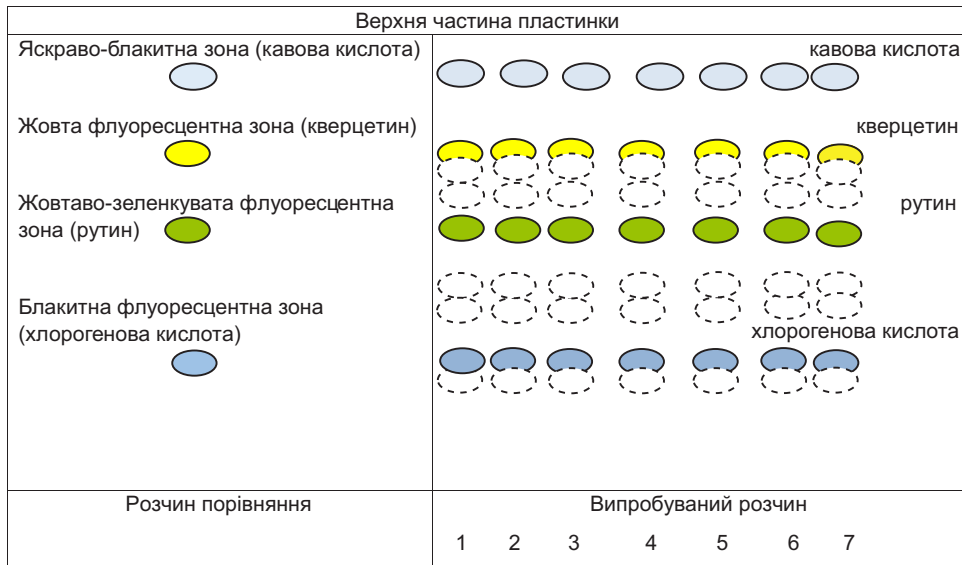


Рис. 2. Схема хроматограми, отримана за ідентифікації речовин флавоноїдної природи у дослідних зразках екстрактів леспедеці

Наявність максимумів поглинання за довжини хвилі 274 нм, що збігаються з максимумом поглинання спиртового розчину галової кислоти (278 нм), може свідчити про наявність у досліджуваних зразках речовин поліфенольної структури. Максимуми поглинання в ділянці від 321 нм до 327 нм можуть свідчити про наявність гідроксикоричних кислот. Тому доцільно було вміст біологічно активних речовин в екстрактах залежно від розчинника визначати в перерахунку на поліфенольні сполуки і використовувати як стандарт спиртовий розчин галової кислоти, УФ-спектр 0,0016 % спиртового розчину якого наведено на рис. 4.

Результати кількісного визначення вмісту поліфенольних сполук в екстрактах у перерахунку на галову кислоту наведено в табл.

Отже, найбільша кількість речовин поліфенольної будови в перерахунку на галову кислоту екстрагується 40 % етиловим спиртом у співвідношенні 1:7,5 як методом мацерації (зразок 1), так із застосуванням приладу для УЗ-екстракції (зразок 3).

Загальний вміст танінів визначали за допомогою реакції взаємодії з реактивом Фоліна-Чокальтеу (фосфорно-молібденово-вольфрамовий реактив). Реакцію проводили в присутності насиченого розчину натрію карбонату за довжини хвилі 710 нм, що

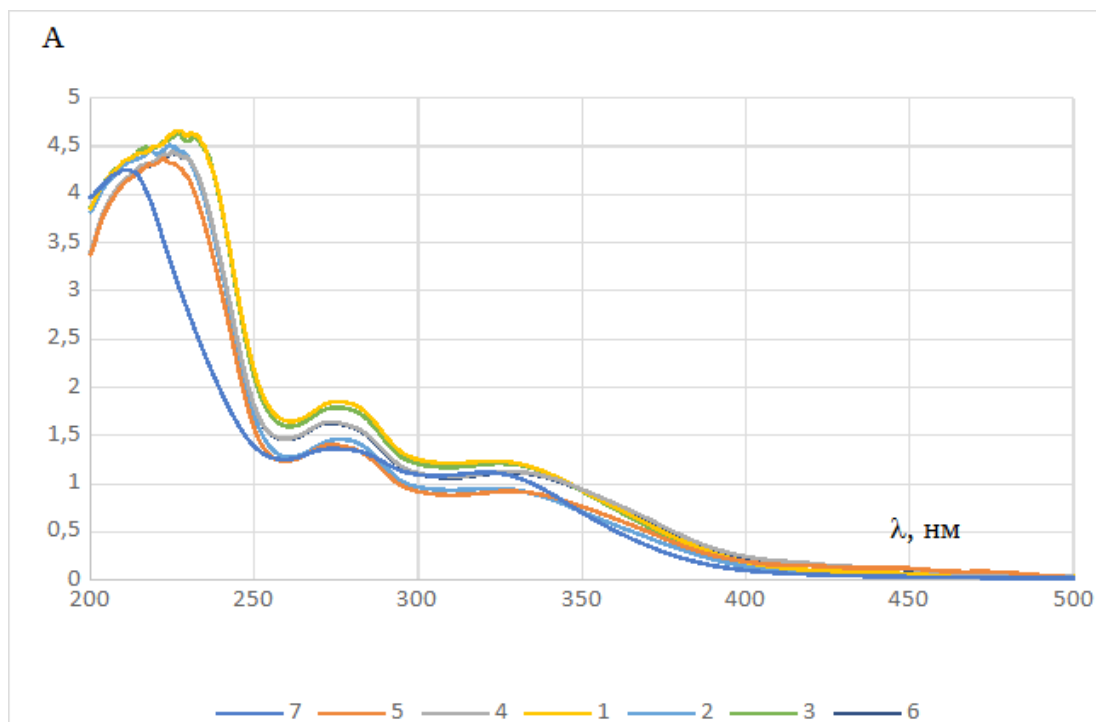


Рис. 3. Абсорбційні спектри розчинів екстрактів у відповідних розчинниках

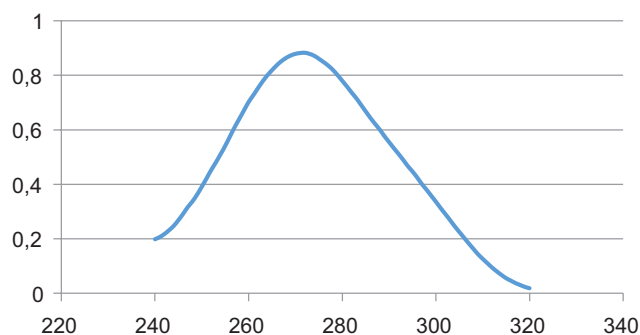


Рис. 4. УФ-спектр 0,0016 % спиртового розчину галлової кислоти

відповідає максимуму поглинання 0,002 % розчину пірогалолу в цих умовах (рис. 5).

Результати кількісного визначення вмісту таніну в дослідних зразках наведено в табл.

Отже, за застосування як екстрагента 40 % спирту і води (зразки 1, 2, 3 і 7) екстрагується приблизно однакова кількість танінів.

Визначення кількісного вмісту флавоноїдів у дослідних зразках

До поліфенольних сполук відносять флавоноїди. У результаті проведених досліджень визначено, що абсорбційні спектри поглинання отриманих забарвлених розчинів леспедеці двоколірної після взаємодії з розчином алюмінію(III) хлоридом в оцтовому середовищі характеризуються наявністю

максимумів поглинання за довжини хвилі 402 нм (екстракти 2, 6 і 7), 405 нм (зразок 2, 4 і 5), 406 нм (екстракт 1), що перебувають у межах положення максимуму рутину в цих умовах 407 нм (рис. 4).

Результати кількісного визначення вмісту флавоноїдів в екстрактах наведено в табл. Отже, за застосування як екстрагента 40 % і 70 % водно-спиртового розчину (зразки 3, 4, 5 і 6) в екстракти переходить найбільша кількість флавоноїдів, схожих за будовою на рутин.

Кількісний вміст біологічно активних сполук у вилученнях, отриманих унаслідок екстрагування різними екстрагентами за різних співвідношень, отриманих методом мацерації і з використанням приладу для УЗ-екстракції, наведено в табл.

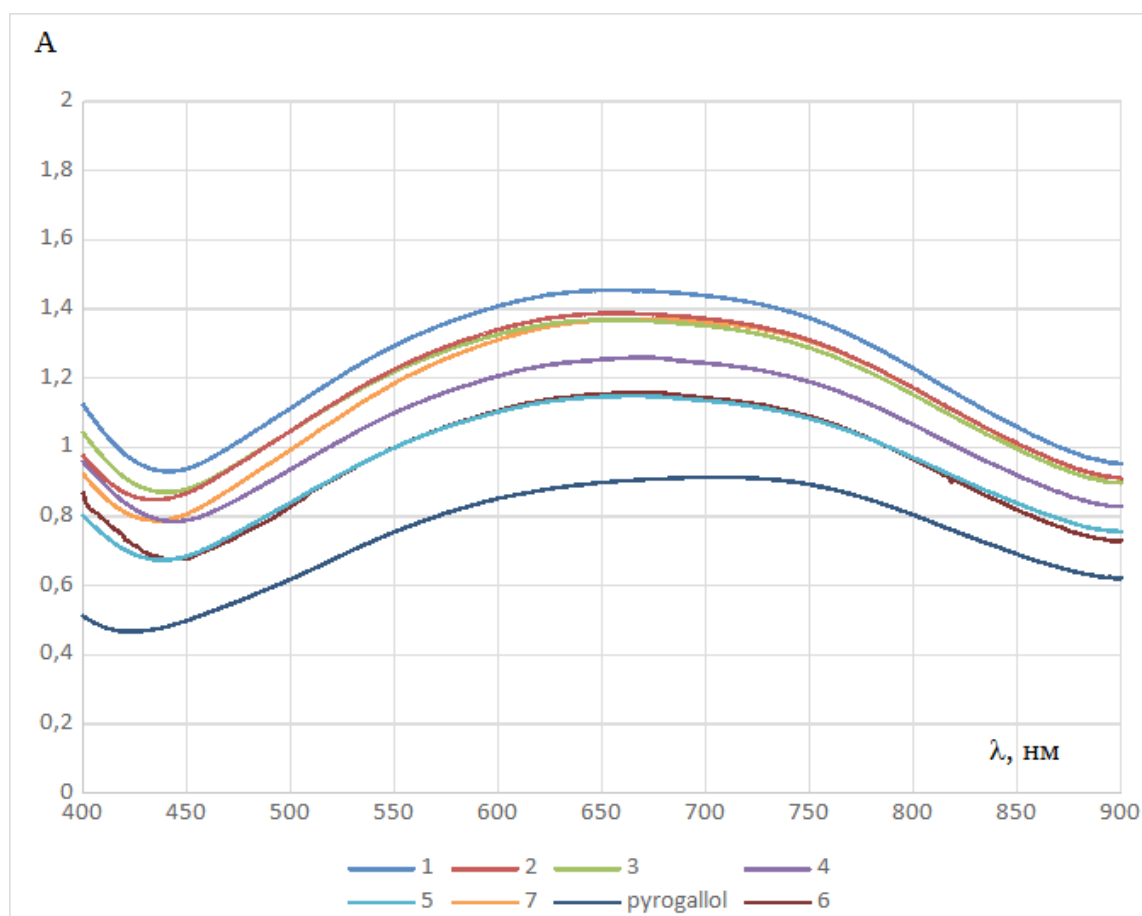


Рис. 5. Абсорбційні спектри розчинів екстрактів і 0,0002 % розчину пірогалолу після реакції з реактивом Фоліна-Чокальтеу

Результати визначення кількісного вмісту біологічно активних сполук в об'єктах дослідження

Зразки/ Біологічно активні сполуки	1	2	3	4	5	6	7
Кількість поліфенольних сполук, %	0,830± 0,018	0,656± 0,016	0,804± 0,018	0,737± 0,015	0,648± 0,018	0,630± 0,018	0,612± 0,016
Кількість танінів, %	0,065± 0,014	0,062± 0,016	0,061± 0,015	0,056± 0,016	0,053± 0,015	0,051± 0,017	0,062± 0,016
Кількість флавоноїдів, %	0,063± 0,011	0,063± 0,012	0,125± 0,012	0,155± 0,013	0,152± 0,014	0,123± 0,012	0,041± 0,013

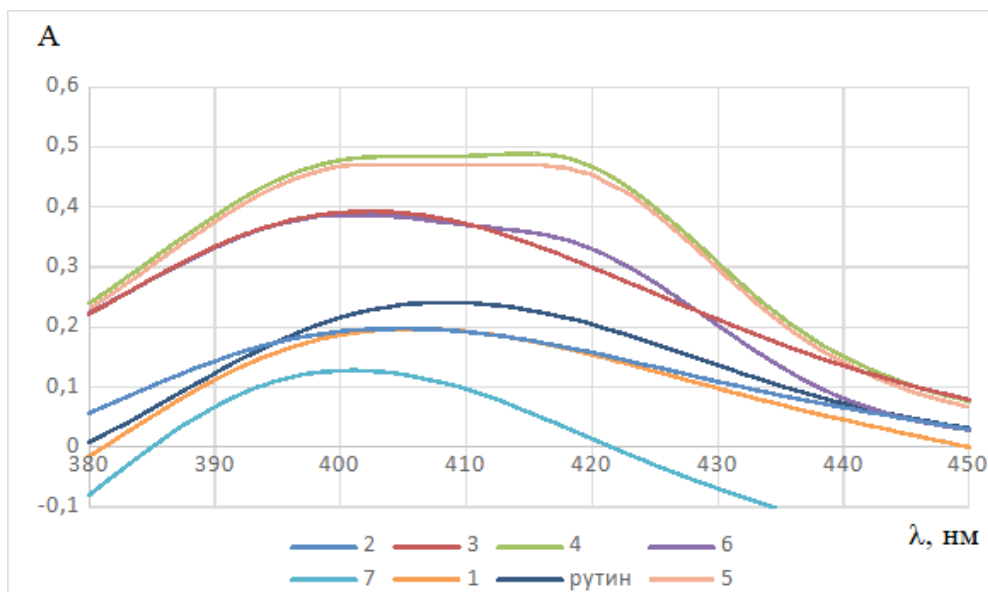


Рис. 6. Абсорбційні спектри розчинів дослідних зразків після реакції з розчином алюмінію хлориду в оцтовокислому середовищі

Висновки та перспективи подальших досліджень. Досліджено якісний склад та кількісний вміст водних та спиртових вилучень з наземної частини леспедеці двоколірної.

Хімічними реакціями ідентифіковано наявність у водному та спиртових вилученнях леспедеці двоколірної речовин флавоноїдної будови, фенолів, дубильних речовин та вуглеводнів.

Методом ТШХ виявлено наявність у вилученнях танінів, схожих за будовою на пірагалол, полісахаридів, схожих за структурою на фруктозу, флавоноїдів, більшість з яких схожа на рутин, та гідроксикоричних кислот, більшість з яких схожа на хлорогенову кислоту.

Спектрофотометричним методом у видній ділянці визначено, що найбільша кількість речовин поліфенольної будови в перерахунку на галову кислоту екстрагується 40 % етиловим спиртом у співвідношенні 1:7,5 методом мацерації, а також із

застосуванням приладу для УЗ-екстракції (0,830 і 0,804 % відповідно).

Спектрофотометричним методом визначено, що за застосування як екстрагента 40 % і 70 % водно-спиртового розчину (зразки 3, 4, 5 і 6) в екстракти переходить найбільша кількість флавоноїдів, схожих за будовою на рутин.

Експериментально з'ясовано, що за співвідношення 1:7,5 вилучення містять більше БАС, однак їх повніше вилучення відбувається у співвідношенні 1:10. Дослідження довели перспективи використання ультразвукового приладу для екстракції ЛРС, бо це дає можливість інтенсифікувати вилучення БАС, якщо порівнювати з методом мацерації.

Наступним етапом дослідження буде поглиблене вивчення хімічного складу отриманих вилучень з використанням методу ВЕРХ і подальше опрацювання умов екстрагування лікарської сировини.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

- Deng F., Chang J., Zhang J. S. New flavonoids and other constituents from *Lespedeza cuneata*. *J Asian Nat Prod Res.* 2007. Vol. 9. P. 655-658. DOI: 10.1080/10286020600979894.
- Sami U. Methanolic extract from *Lespedeza bicolor*: potential candidates for natural antioxidant and anticancer agent. *J Tradit Chin Med.* 2017. Vol. 37, № 4. P. 444-451.
- Antioxidants from *Lespedeza homoloba* (I) / T. Miyase et al. *Phytochemistry.* 1999. Vol. 52, № 2. P. 303-310. DOI: 10.1016/s0031-9422(99)00195-8.

- Miyase T., Sano M., Yoshino K., Nonaka K. Antioxidants from *Lespedeza homoloba* (II). *Phytochemistry*. 1999. Vol. 52, № 2. P. 311-319. DOI: 10.1016/s0031-9422(99)00194-6.
- Potent inhibition of bacterial neurami-nidase activity by pterocarpan isolated from the roots of *Lespedeza bicolor* / H. S. Woo et al. *Bioorg Med Chem Lett*. 2011. Vol. 21, № 20. P. 6100-6103.
- Kim Y., Lee H., Kim S. Y., Lim Y. Effects of *Lespedeza Bicolor* Extract on Regulation of AMPK Associated Hepatic Lipid Metabolism in Type 2 Diabetic Mice. *Antioxidants*. 2019. Vol. 8. P. 599. DOI: 10.3390/antiox8120599.
- Therapeutic Potential of *Lespedeza bicolor* to Prevent Methylglyoxal-Induced Glucotoxicity in Familial Diabetic Nephropathy / Moon Ho Do et al. *J. Clin. Med*. 2019. Vol. 8. P.1138. DOI:10.3390/jcm8081138.
- Lee S. J., Hossaine M. D., Park S. C. A potential anti-inflammation activity and depigmentation effect of *Lespedeza bicolor* extract and its fractions. *Saudi J Biol Sci*. 2016. Vol. 23, № 1. P. 9-14. doi: 10.1016/j.sjbs.2015.01.016.
- Державна фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.
- Yadav R. N. S., Agarwala M. Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytology*. 2011. Vol. 2, № 12. P. 10-14.

REFERENCES

- Deng, F., Chang, J., Zhang, J. S. (2007). New flavonoids and other constituents from *Lespedeza cuneata*. *J Asian Nat Prod Res*, 9, 655-658. doi: 10.1080/10286020600979894.
- Sami, U. (2017) Methanolic extract from *Lespedeza bicolor*: potential candidates for natural antioxidant and anticancer agent. *J Tradit Chin Med*, 37 (4), 444-451.
- Miyase, T., Sano, M., Nakai, H., Muraoka, M., Nakazawa, M., Suzuki, M. et al. (1999) Antioxidants from *Lespedeza homoloba* (I). *Phytochemistry*, 52 (2), 303-310. doi: 10.1016/s0031-9422(99)00195-8.
- Miyase, T., Sano, M., Yoshino, K., Nonaka, K. (1999) Antioxidants from *Lespedeza homoloba* (II). *Phytochemistry*, 52 (2), 311-319. doi: 10.1016/s0031-9422(99)00194-6.
- Woo, H. S., Kim, D. W., Curtis, L. M., Lee, B. W., Lee, J. H., Kim, J. Y. et al. (2011) Potent inhibition of bacterial neurami-nidase activity by pterocarpan isolated from the roots of *Lespedeza bicolor*. *Bioorg Med Chem Lett*, 21 (20), 6100-6103.
- Kim, Y., Lee, H., Kim, S. Y., Lim, Y. (2019) Effects of *Lespedeza Bicolor* Extract on Regulation of AMPK Associated Hepatic Lipid Metabolism in Type 2 Diabetic Mice. *Antioxidants*, 8, 599. doi: 10.3390/antiox8120599.
- Do, M. H., Lee J. H., Cho, K., Kang, M. C., Subedi, L., Parveen, A. et al. (2019) Therapeutic Potential of *Lespedeza bicolor* to Prevent Methylglyoxal-Induced Glucotoxicity in Familial Diabetic Nephropathy. *J. Clin. Med*. 8, 1138. doi:10.3390/jcm8081138.
- Lee, S. J., Hossaine, M. D., Park, S. C. (2016) A potential anti-inflammation activity and depigmentation effect of *Lespedeza bicolor* extract and its fractions. *Saudi J Biol Sci*. 23 (1), 9-14. doi: 10.1016/j.sjbs.2015.01.016.
- Derzhavna farmakopeia Ukrainy : v 3 t. (2015). / DP «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv». Kharkiv.
- Yadav, R. N. S. (2011.) Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytology*, 2 (12), 10-14.

Відомості про авторів:

Кисельова К. Є., аспірантка кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: katekiseliova1999@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3268-0683>

Яромий М. В., аспірантка кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: maryana011189@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4523-2801>

Бевз Н. Ю., кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри фармацевтичної хімії, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: nata.bevz.60@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7259-8908>

Вишнеvsька Л. І., доктор фармацевтичних наук, професор, завідувачка кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: liliavyshevnska@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6887-3591>

Михайленко О. О., кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри фармацевтичної хімії, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: mykhailenko.farm@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3822-8409>

Information about authors:

Kiseliova K.Ye., postgraduate student of the Department of Pharmacy Drug Technology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: katekiseliova1999@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3268-0683>.

Yaromiy M.V., postgraduate student of the Department of Pharmacy Drug Technology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine E-mail: maryana011189@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4523-2801>

Bevz N. Yu., Candidate of Pharmacy (Ph.D.), associate professor of the Pharmaceutical Chemistry Department, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: nata.bevz.60@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7259-8908>

Vyshnevnska L. I., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor, head of the Department of Pharmacy Drug Technology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: liliavyshevnska@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6887-3591>

Mykhailenko O.O, Candidate of Pharmacy (Ph.D.), associate professor of the Pharmaceutical Chemistry Department, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: mykhailenko.farm@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0003-3822-8409>

Надійшла до редакції 19.10.2023 р.