

УДК 615.014.07:615.31:547.56:615.252.349.7:615.322:582.736.302

<https://doi.org/10.24959/ubphj.18.163>

Л. В. Вронська, А. І. Дуб, І. М. Клиш, А. Є. Демид

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського»

## Вивчення складу флавоноїдів і гіпоглікемічної дії сухих екстрактів стулок квасолі

**Актуальність.** При цукровому діабеті другого типу для забезпечення ефективної фармакологічної корекції доцільним є поєднання синтетичних гіпоглікемічних засобів з ліками рослинного походження, які характеризуються комплексним впливом на різні системи організму, низькою токсичністю і відсутністю побічних реакцій.

**Мета роботи.** Вивчення складу і вмісту флавоноїдів у сухих екстрактах стулок квасолі, дослідження їх гіпоглікемічної дії.

**Матеріали та методи.** Хроматографічні і спектрофотометричні методи були використані для дослідження флавоноїдів. Експерименти з вивчення гіпоглікемічної активності проводили на білих нелінійних щурах, виконуючи тест «глюкозного навантаження».

**Результати та їх обговорення.** За результатами хроматографічних досліджень сухого екстракту стулок квасолі маркерами для його ідентифікації обрано рутин, ізокверцитрин і кислоту ферулову. Вміст флавоноїдів в екстракті зростає від 0,562 до 0,729 % із підвищенням вмісту спирту (від 40 до 70 % (об/об)) в екстрагенті, використаному для отримання екстракту. Застосування досліджуваних екстрактів приводить до найбільш інтенсивного зниження рівня глюкози у крові тварин дослідних груп відносно рівня контрольної групи на 27,9-20,0 % впродовж 30-90 хв після глюकोзного навантаження.

**Висновки.** Запропоновані активні маркери для ідентифікації сухого екстракту стулок квасолі. Вміст суми флавоноїдів із підвищенням вмісту спирту етилового з 40 до 70 % (об/об) зростає з 0,562 до 0,729 %. Найбільше зниження рівня глюкози в крові дослідних тварин спостерігається при застосуванні екстрактів, отриманих за допомогою екстрагентів із вмістом спирту етилового 40 і 50 %.

**Ключові слова:** стулки квасолі; сухий екстракт; флавоноїди; цукрознижувальна дія

L. Vronska, A. Dub, I. Klishch, A. Demyd

### Study of flavonoids composition and hypoglycemic effect of dry extracts of phaseolus vulgaris pods

**Topicality.** Combination of synthetic hypoglycemic agents with herbal medicines characterized by complex effects on different systems of the body, low toxicity and no adverse reactions, is appropriate for ensuring effective pharmacological correction in type 2 diabetes.

**Aim.** To study flavonoids composition and their content in phaseolus vulgaris pods dry extracts, to research a hypoglycemic action.

**Materials and methods.** The chromatographic and spectrophotometric methods were used while studying flavonoids. Experiments to study the hypoglycemic activity were performed on white non-linear rats by performing a "glucose load" test.

**Results and discussion.** The routine, isoquercetin and ferulic acid were chosen as markers for identification of the phaseolus vulgaris pods dry extracts according to the results of chromatographic studies of it. The content of flavonoids in the extract rises from 0.562 to 0.729 % with an increase of alcohol content (from 40 to 70 % (v/v)) in the extractant used to make the extract. Application of the investigated extracts causes the most intense reduction of glucose level in blood of The experimental groups animals in relative to the control group level by 27.9-20.0 % for 30-90 minutes after glucose loading.

**Conclusions.** The active markers for identifying of the phaseolus vulgaris pods dry extracts are proposed. The content of flavonoids rises from 0.562 to 0.729 % with an increase of ethyl alcohol content from 40 to 70 % (v/v). The greatest decrease of glucose in the blood of experimental animals is observed with the use of extracts obtained by extractants with an alcohol content of 40 % and 50 %.

**Key words:** phaseolus vulgaris pods; dry extract; flavonoids; hypoglycemic effect

Л. В. Вронська, А. І. Дуб, І. Н. Клиш, А. Е. Демид

### Изучение состава флавоноидов и гипогликемического действия сухих экстрактов створок фасоли

**Актуальность.** При сахарном диабете второго типа для обеспечения эффективной фармакологической коррекции целесообразно сочетание синтетических гипогликемических средств и лекарств растительного происхождения, характеризующихся комплексным воздействием на различные системы организма, низкой токсичностью и отсутствием побочных реакций.

**Цель работы.** Изучение состава и содержания флавоноидов в сухих экстрактах створок фасоли, исследование их гипогликемического действия.

**Результаты и их обсуждение.** По результатам хроматографического исследования сухого экстракта створок фасоли маркерами для его идентификации избраны рутин, изокверцитрин и кислота феруловая. Содержание флавоноидов в экстракте возрастает от 0,562 до 0,729 % с повышением содержания спирта (от 40 до 70 % (об/об)) в экстрагенте, использованном для получения экстракта. Применение исследуемых экстрактов приводит к снижению содержания глюкозы в крови животных опытных групп относительно уровня контрольной группы на 27,9-20,0 % в течение 30-90 мин после глюкозной нагрузки.

**Выводы.** Предложены активные маркеры для идентификации сухого экстракта створок фасоли. Содержание суммы флавоноидов с повышением содержания спирта этилового с 40 до 70 % (об/об) растет с 0,562 до 0,729 %. Наибольшее снижение уровня глюкозы в крови подопытных животных наблюдается при применении экстрактов, полученных с помощью экстрагентом с содержанием спирта этилового 40 и 50 %.

**Ключевые слова:** створки фасоли; сухой экстракт; флавоноиды; сахаропонижающее действие

## ВСТУП

Зростання чисельності хворих на цукровий діабет набуває розмаху епідемії [1]. Об'єктивною причиною цього явища є старіння населення. Одночасно з цим зростаючим є вплив як соціально-економічних чинників, що включають погіршення якості харчування, погіршення доступності якісних медичних послуг і якісних ліків, так і нехтування скринінговими дослідженнями і періодичним контролем стану здоров'я, низькою обізнаністю суспільства у питанні даного захворювання і низьким рівнем або і відсутністю первинної профілактики цукрового діабету, що передбачає модифікацію способу життя. Цукровий діабет другого типу, на який страждають за різними оцінками близько 90 % усіх хворих, вимагає ефективної фармакологічної корекції, спрямованої як на нормалізацію метаболічних, структурних і функціональних порушень в організмі, так і на запобігання та корекцію ускладнень на пізніших термінах перебігу хвороби. Для лікування і медикаментозної корекції численних порушень [2], викликаних цукровим діабетом, раціональним є поєднання синтетичних гіпоглікемічних лікарських засобів з ліками рослинного походження, які характеризуються м'якшим і комплексним впливом на різні системи організму при тривалому застосуванні, низькою токсичністю і відсутністю побічних реакцій. В зв'язку з цим розробка нових засобів на основі лікарської рослинної сировини є актуальною, про що свідчать численні роботи, присвячені створенню гіпоглікемічних рослинних препаратів [3-10].

Одним із компонентів зареєстрованих в Україні гіпоглікемічних зборів «Арфазетин» і «Садіфіт» є стулки квасолі звичайної [11]. Наукові джерела вказують на присутність різних класів біологічно активних речовин у сировині, серед яких особливо виділяють флавоноїди і аргінін, яким приписують здатність нормалізувати обмін вуглеводів і знижувати рівень глюкози. Вважається, що стулки квасолі впливають на організм як інсулін. Так відомо, що одна склянка настою стулок квасолі відповідає 3 одиницям інсуліну [12]. За даними різних досліджень екстракти, отримані із різних частин рослинної сировини квасолі, чинять гіпоглікемічну і гіполіпідемічну дію [13-17]. Раніше нами було проведено низку досліджень щодо вивчення складу біологічно активних речовин стулок квасолі та закономірностей їх екстракції [18, 19]. Застосовуючи вивчені залежності було отримано сухий екстракт стулок квасолі.

**Метою** роботи було вивчення складу і вмісту флавоноїдів у сухих екстрактах стулок квасолі, дослідження їх гіпоглікемічної дії.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Вивчення якісного складу сухих екстрактів стулок квасолі здійснювали методами тонкошарової і вискоефективної рідинної хроматографії. Для іден-

тифікації флавоноїдів використовували стандартні зразки рутину, гіперозиду, апігенін-7-глюкозиду, лютеолін-7-глюкозиду, ізокверцитрину, кверцитрину, лютеоліну, кверцетину, кемпферолу, хлорогенової, ферулової і кофейної кислот (Sigma-Aldrich, Fluka).

В методі тонкошарової хроматографії використовували хроматографічні пластинки Silica gel 60 F<sub>254</sub> і хроматографічні камери («Merck», Німеччина), прилад для нанесення проб Linomat 5 і лампу для перегляду хроматограм в ультрафіолеті («СМАГ», Швейцарія).

Вивчення якісного складу флавоноїдів методом ТШХ здійснювали у двох системах розчинників: мурашина кислота – вода – етилацетат (6 : 9 : 90), мурашина кислота – льодяна оцтова кислота – вода – етилацетат (7,5 : 7,5 : 17 : 67,5). Випробовувані розчини для ТШХ-дослідження готували розчиненням 0,25 г сухого екстракту в 10 мл метанолу. Проявку хроматограм здійснювали обробкою висушених і нагрітих пластинок спершу метанольним розчином 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти, а потім після наступного висушування метанольним розчином 50 г/л макроголу 400. Перша система розчинників забезпечує ефективніше розділення флавоноїдів – саме тому, як і у випадку аналізу ЛРС стулок квасолі [18], вона була обрана нами для ідентифікації флавоноїдів екстракту.

При дослідженні якісного складу флавоноїдів методом вискоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) застосовували рідинний хроматограф Agilent 1200 з детектором діодна матриця («Agilent», США). Умови хроматографування, а саме: тип колонки, склад рухомої фази, умови градієнтного елюювання, довжина хвилі детектування раніше були детально описані [20].

Для ВЕРХ-дослідження наважку сухого екстракту стулок квасолі масою 0,25 г розчиняли у 5 мл метанолу, аліквоту отриманого розчину об'ємом 3 мл доводили до об'єму 10 мл рухомою фазою А, склад якої описано в [11], і фільтрували.

Кількісний вміст флавоноїдів визначали методом спектрофотометрії у перерахунку на рутин. Вміст суми поліфенолів і танінів визначали за методиками Державної фармакопеї України [21]. Записування електронних спектрів поглинання і визначення абсорбції вимірюваних розчинів здійснювалось на спектрофотометрі Lambda 25 (PerkinElmer, США).

Метанол, ацетонітрил, спирт етиловий, етилацетат, кислоту оцтову льодяну, кислоту мурашину безводну, аміноетиловий ефір дифенілборної кислоти та макрогол 400, алюмінію хлорид та фармакопейний стандартний зразок шкірного порошку використовували такої кваліфікації, що відповідала вимогам ДФУ, з них у подальшому готували розчини або рухомі фази чи застосовували при визначенні [21].

Експерименти з вивчення гіпоглікемічної дії проводили на білих нелінійних щурах-самцях масою (200 ± 20) г з нормальним вуглеводним гомеостазом,

який оцінювали за базальним рівнем глікемії і за зміною рівня глюкози внаслідок виконання орального тесту толерантності до глюкози. Обраний тест проводили на тваринах, які піддавались 6-8 годинному голодуванню впродовж ночі. Всі тварини були розділені на групи: 1 – контрольна група, яка піддавалась глюкозному навантаженню (40 % розчин глюкози у перерахунку на 3 г/кг маси тварини, внутрішньо-шлунково), 2-5 дослідні групи, які за 1 годину до введення глюкози отримували водний розчин сухого екстракту стулок квасолі у дозі 75 мг/кг (екстракти були отримані за допомогою екстрагенту з вмістом спирту: 2 група – 40 %, 3 група – 50 %, 4 група – 60 % і 5 група – 70 % (об/об) ). Гіпоглікемічну дію сухих екстрактів оцінювали за здатністю знижувати рівень глюкози в крові тварин після «глюкозного навантаження». Концентрацію глюкози в крові тварин визначали за допомогою тест-смужок і глюкометра «Accu-Chek performa» (Roche Diagnostics, Німеччина). Збір крові здійснювали шляхом дистальної резекції хвоста піддослідних тварин через 30, 60, 90, 120 і 180 хв після введення водного розчину глюкози. Всі експерименти із залученням лабораторних тварин проводили, керуючись нормами біоетики, які рекомендуються Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, яких використовують для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Директивою Європейського Союзу 2010/10/63 EU щодо експериментів на тваринах, рекомендаціями «Біоетична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах» (Київ, 2006) і законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Відомості Верховної Ради України, 2006 (зі змінами)).

Статистичну обробку результатів аналізу здійснювали за критеріями Стьюдента і Манна-Уїтні [22].

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При дослідженні біологічної активності того чи іншого екстракту важливо мати його стандартизованим або кількісно визначеним, щоб пов'язати активність, яку спостерігають, із відповідним складом БАР. І навпаки, вибираючи оптимальні технологічні параметри отримання екстракту, важливо відслідкувати зв'язок фармакотехнологічних і кількісних показників екстрактів із біологічною дією. У такому випадку отримані результати дослідження будуть відтворюваними у майбутніх серіях таких же екстрактів і матимуть визначену закономірність зв'язку дії та складу екстракту. Стандартизовані екстракти – екстракти, визначувані по заданому складу компонентів з терапевтичною активністю, вміст яких регулюється в межах прийнятого допуску. Кількісно визначені (квантифіковані) екстракти – екстракти, в яких вміст компонентів або маркерів регулюється в певних межах. У другому випадку при квантифікації екстракту компоненти, які несуть терапевтичну активність, можуть бути невідомі, тоді із БАР, присутніх в екстракті, оби-

рають маркери. Активні маркери – компоненти (групи компонентів), які сприяють терапевтичній активності, аналітичні маркери – компоненти (групи компонентів), які обирають з аналітичною метою.

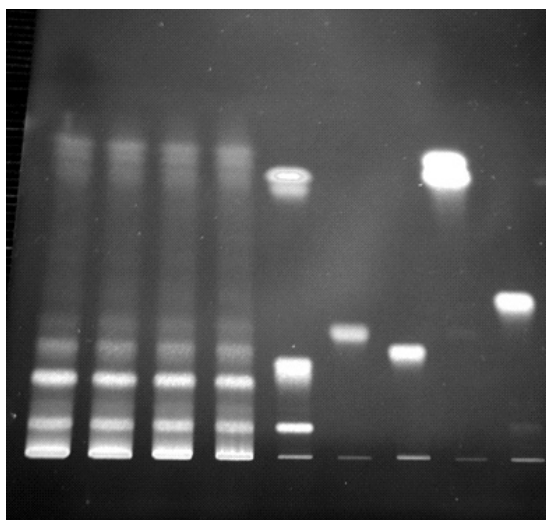
Механізм гіпоглікемічної і гіполіпідемічної дії екстрактів квасолі, отриманих з різних частин рослини (листя, трави з кореннями, насіння, стулок), залишається точно не з'ясованим. Наукові повідомлення про ці види дії передбачають два можливих механізми, пов'язані із фітогемаглютиніном (ФГА) та інгібіторами  $\alpha$ -амілази [23]. Пригнічення  $\alpha$ -амілази, яка є ферментом, що каталізує гідроліз  $\alpha$ -(1,4)-глікозидних зв'язків крохмалю, викликає пригнічення крохмального обміну, що, в свою чергу, викликає зниження рівня глікемії [24, 25]. ФГА квасолі звичайної впливає на катаболізм, знижує рівень інсуліну в плазмі крові [26, 27]. За повідомленням [23] ФГА, зв'язуючись із епітеліальними клітинами шлунка та тонкої, сліпої і товстої кишки, стимулює вивільнення холецистокініну та глюкагон-пептидів, гормонів, які мають здатність впливати на харчову поведінку людини, створюючи відчуття ситості і знижуючи апетит.

Тому, не знаючи напевно, з якими речовинами слід пов'язувати гіпоглікемічну дію екстрактів стулок квасолі, нами були обрані маркерами для його якісної ідентифікації флавоноїди, для кількісної стандартизації – вміст флавоноїдів, суму поліфенолів і вміст танінів. Склад і вміст цих речовин в отримуваних екстрактах може корелювати із вмістом інших сполук, біологічна активність яких і є причиною цукрознижувальної дії екстракту. Їх пропонуємо вважати активними маркерами, які сприяють терапевтичній активності.

Хроматограма, отримана при дослідженні якісного складу флавоноїдів в екстрактах, отриманих за допомогою водно-спиртових екстрагентів із вмістом спирту 40, 50, 60 і 70 % (об/об), наведена на рис. 1.

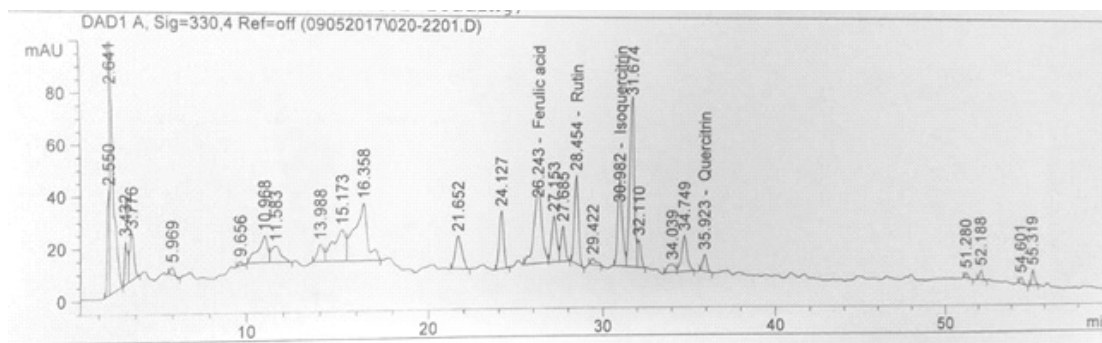
У результаті хроматографування досліджуваних екстрактів стулок квасолі було ідентифіковано рутин та ізокверцитрин і, як свідчить інтенсивність флуоресценції, вони перебувають в екстракті приблизно в однакових кількостях. Найбільш інтенсивною є зона жовто-оранжевої флуоресценції, яка належить неідентифікованому флавоноїду і розташовується на хроматограмі дещо нижче зони кислоти хлорогенової. За забарвленням флуоресценції можна припустити, що неідентифікований флавоноїд може належати деякому глікозидові аглікону кверцетину. На хроматограмі випробовуваних розчинів спостерігається зона із жовто-оранжевою флуоресценцією дуже слабкої інтенсивності, яка розташовується на рівні зони кверцитрину на хроматограмі розчину його стандартного зразка, що дозволяє припустити наявність незначних кількостей кверцитрину в досліджуваних екстрактах.

На хроматограмах випробовуваних розчинів у верхній частині спостерігаються дуже інтенсивні зони із фіолетовою флуоресценцією, забарвлення якої не



**Рис. 1.** Хроматограма, отримана в умовах дослідження флавоноїдів сухих екстрактів стулок квасолі. Треки: 1-4 – випробовувані метанольні розчини сухих екстрактів стулок квасолі; 5-9 – розчини стандартних зразків для речовин: рутин, кислота хлорогенова, гіперозид, кислота розмаринова, кислота кофеїна (знизу догори у 5 треці); апігенін-7-О-глюкозид (6 трек); ізокверцитрин (7 трек); лютеолін, кверцетин (8 трек); кверцитрин (9 трек)

змінюється після обробки метанольним розчином 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти і розчином 50 г/л макроголу 400 у метанолі. Використання у якості свідків стандартних речовин ферулової і п-кумарової кислот дозволило встановити присутність ферулової кислоти у сухому екстракті стулок квасолі. На хроматограмі випробовуваних розчинів екстрактів, представлений на рис. 1, їй відповідає інтенсивна зона фіолетової флуоресценції, що розташовується другою згори. Дві інші зони з інтенсивною фіолетовою флуоресценцією, нижче і вище зони ферулової кислоти, не були ідентифіковані, лише можна припустити, що вони можуть бути похідними ферулової кислоти.



**Рис. 2.** Хроматограма випробовуваного розчину сухого екстракту стулок квасолі, отримана в умовах ідентифікації флавоноїдів

Зразок ВЕРХ-хроматограми, отриманої в умовах ідентифікації флавоноїдів у сухому екстракті стулок квасолі, наведено на рис. 2.

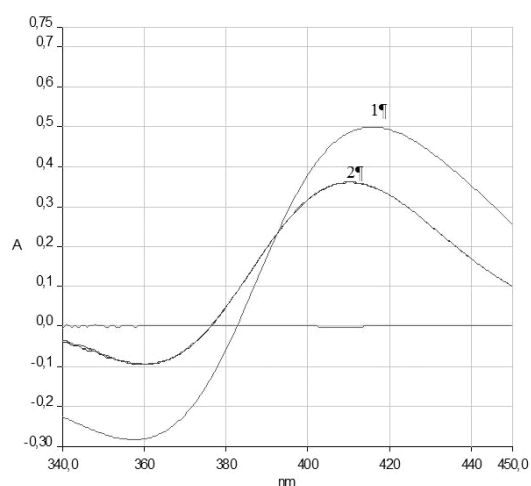
За результатами ВЕРХ-дослідження флавоноїди сухих екстрактів стулок квасолі представлені рутин, ізокверцитрином і кверцитрином, а з гідроксикоричних кислот – кислотою феруловою. Такі дані ВЕРХ-аналізу узгоджуються із результатами ТШХ-ідентифікації флавоноїдів.

Кверцитрин ідентифікується у слідових кількостях (при відповідно вибраній наважці) методом ТШХ, а також його присутність підтверджується методом ВЕРХ як за часом утримування, так і шляхом порівняння його спектра поглинання у випробовуваному і стандартному розчинах, отриманих в аналогічних хроматографічних умовах.

При виборі кількісного показника якості ЛРС стулок квасолі було запропоновано спектрофотометричне визначення суми флавоноїдів [17]. В умовах, описаних в [17], електронний спектр поглинання випробовуваного розчину, отриманого для сухого екстракту стулок квасолі, містить чіткий максимум поглинання при довжині хвилі  $410 \pm 2$  нм (рис. 3).

За ходом кривої світлопоглинання він відповідає електронному спектру поглинання для розчину стандартного зразка рутину. Максимум поглинання для розчину стандартного зразка рутину знаходиться при довжині хвилі  $412 \pm 2$  нм. Таким чином, перерахунок вмісту суми флавоноїдів у сухому екстракті стулок квасолі можна здійснювати на рутин. Результати визначення вмісту флавоноїдів представлені у таблиці.

На хроматограмах метанольних розчинів сухого екстракту стулок квасолі, отриманих методом ТШХ, спостерігається присутність численних зон з фіолетовою флуоресценцією, які відповідають зокрема кислоті ферулової. Наявність таких зон дозволяє припустити присутність інших фенольних сполук. Тому ще одним кількісним показником якості екстрактів було обрано вміст фенолів. Попередньо були визначені оптимальні наважка і аліквоти для приготування випробовуваних розчинів. Результати визначення суми поліфенолів і вмісту танінів наведені у таблиці.



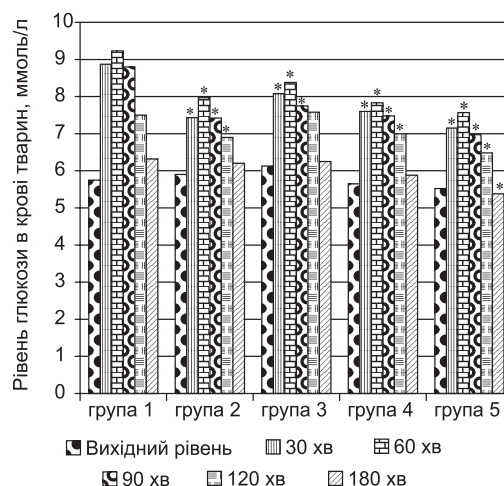
**Рис. 3.** Електронні спектри поглинання в умовах визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів у сухому екстракті стулок квасолі для:

- 1 – стандартного зразка рутину;
- 2 – випробовуваних розчинів зразка сухого екстракту

Отримані результати підтверджують залежність вмісту флавоноїдів і поліфенолів від вмісту спирту етилового в екстрагенті – зростання концентрації спирту сприяє підвищенню вмісту досліджуваних біологічно активних сполук.

Наступним етапом дослідження було вивчення гіпоглікемічної дії екстрактів, отриманих за допомогою екстрагентів із різним вмістом спирту етилового. Результати визначення вмісту глюкози у крові тварин наведені на рис. 4.

Внутрішньошлункове введення глюкози у дозі 3 г/кг спричинило достовірне підвищення концентрації глюкози у тварин 1 групи з максимумом через годину після введення. Концентрація глюкози у крові тварин 2-5 дослідних груп, які за годину до введення глюкози отримали водний сухий екстракт стулок квасолі у дозі 75 мг/кг, також зростала до 60 хв спостереження, залишаючись, однак, впродовж спостереження достовірно нижчою порівняно з тваринами 1 групи. Зважаючи на деякі відмінності вихідного рівня глюкози у тварин всіх груп, було розраховано від-



**Рис. 4.** Динаміка рівня глюкози у крові тварин, які перебували в умовах виконання орального тесту толерантності до глюкози (1 група) і отримували водний розчин сухого екстракту квасолі у дозі 75 мг/кг (2-6 групи); (\* – зміни достовірні порівняно із групою контролю за критеріями Стьюдента при  $p < 0,001$  і Манна-Уїтні при  $p < 0,05$ )

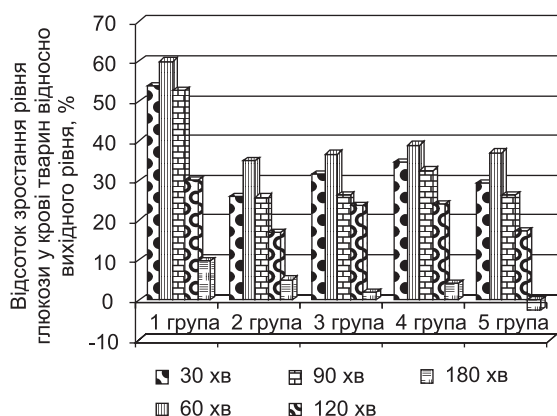
соток зростання (підвищення) рівня глюкози у крові тварин відносно вихідного рівня для кожної групи, зокрема. Такий підхід дозволив більш об'єктивно проаналізувати силу гіпоглікемічної дії екстрактів, отриманих за допомогою екстрагентів із різним вмістом спирту. Результати проведених розрахунків наведені на рис. 5.

Всі досліджувані екстракти достовірно знижують рівень глюкози у крові дослідних тварин в умовах орального тесту толерантності до глюкози. На 30 хв спостереження зниження рівня глюкози у крові тварин 2-5 груп становило відповідно 27,9; 22,0; 19,0 і 24,3 %, на 90 хв – 27,0; 26,4; 20,0 і 26,5 %. Максимальне значення вмісту глюкози у крові тварин дослідних груп, які отримували екстракт, припадає на 60 хв і є нижчим від рівня глюкози у 1 групі (глюкозне навантаження) на: 25; 23,4; 21,1 і 23 % для екстрактів, отриманих за допомогою 40-60 % спирту етилового відповідно. Через 2 і 3 год після глюкозного навантаження концентрація глюкози у крові дослідних тварин продовжувала знижуватись, наближаючись до вихідного рівня.

Таблиця

#### РЕЗУЛЬТАТИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК У СУХОМУ ЕКСТРАКТІ СТУЛОК КВАСОЛІ (P = 0,95, n = 5)

Концентрація спирту етилового в екстрагенті, %	Вміст флавоноїдів, %	Сума поліфенолів у перерахунку на пірагалол, %	Вміст танінів у перерахунку на пірагалол, %
40	0,562 ± 0,011	1,547 ± 0,028	0,210 ± 0,004
50	0,645 ± 0,010	1,558 ± 0,031	0,213 ± 0,003
60	0,716 ± 0,012	1,565 ± 0,030	0,226 ± 0,003
70	0,729 ± 0,009	1,582 ± 0,029	0,229 ± 0,002



**Рис. 5.** Залежність зростання рівня глюкози (у відсотках відносно вихідного рівня) у крові дослідних тварин, які перебували в умовах виконання орального тесту толерантності до глюкози і отримували сухі екстракти стулок квасолі у дозі 75 мг/кг

Зважаючи на результати ідентифікації флавоноїдів та кількісного визначення флавоноїдів і поліфенолів у сухих екстрактах стулок квасолі, а також на результати визначення гіпоглікемічної дії екстрактів в умовах орального тесту толерантності до глюкози, можна констатувати, що оптимальним екстрагентом є спирт етиловий у концентрації 40-50 %.

## ВИСНОВКИ

1. Для ідентифікації сухого екстракту стулок квасолі методом тонкошарової хроматографії запропоновані активні маркери – рутин, ізокверцитрин і кислота ферулова.
2. Кількісний вміст суми флавоноїдів залежить від концентрації спирту етилового в екстрагенті, використаному для отримання екстракту. Із підвищенням вмісту спирту етилового з 40 до 70 % (об/об) вміст флавоноїдів зростає з 0,562 до 0,729 %, тоді як вміст суми поліфенолів і танінів практично не змінюється.
3. Результати випробування цукрознижувальної активності сухих екстрактів стулок квасолі на моделі орального тесту толерантності до глюкози вказують на гіпоглікемічну дію останніх. Найбільше зниження рівня глюкози в крові дослідних тварин спостерігали у групах, яким вводились сухі екстракти, отримані за допомогою екстрагенту із вмістом спирту етилового 40 і 50 %.
4. Зважаючи на те, що оральний тест толерантності до глюкози виконується на тваринах з нормальним вуглеводним гомеостазом, для подальшого вивчення гіпоглікемічної дії на моделі цукрового діабету при отриманні екстракту необхідно використати обидва «кращі» екстрагенти – із вмістом спирту 40 і 50 % (об/об).

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

## ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. IDF Diabetes Atlas. – 7th ed. – Brussels, Belgium : International Diabetes Federation, 2015. – Available at : <http://www.diabetesatlas.org/>
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. 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. – Vol. 26, Issue 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 // Фармакол. і лікарська токсикол. – 2011. – № 2 (21). – С. 37–42.
5. Гіпоглікемічна активність трави портулаку городнього (*Portulaca oleracea* L.) в умовах дексаметазонового цукрового діабету у щурів / А. О. Кініченко, В. С. Клеванова, С. Д. Тржецинський, М. М. Малецький // Фармац. журн. – 2017. – № 2. – С. 68.
6. Ежнед, М. А. Особливості цукрознижувальної дії сухого екстракту з коренів і кореневищ оману високого залежно від дози / М. А. Ежнед, Т. А. Грошовий, О. М. Горшко // Фармац. часопис. – 2015. – № 3. – С. 63–65.
7. Рибак, В. А. Експериментальне дослідження гіпоглікемічної активності рослинних екстрактів / В. А. Рибак, Л. М. Малоштан // Укр. біофарм. журн. – 2013. – № 6 (29). – С. 42–45.
8. Tundis, R. Natural Products as  $\alpha$ -Amylase and  $\alpha$ -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, Issue 4. – P. 315–331. doi: 10.2174/138955710791331007
9. Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя кизилу. Пат. 89735 Україна, МПК А 61 К 36/40 (2006.01), А 61 Р 3/10 (2006.1) / Рибак В. А., Криворучко О. В., Малоштан Л. М., Самойлова В. А., Ковальов В. М. – Заявл.: 16.12.2013 ; опубл.: 25.04.2014. – Бюл. № 8.
10. Курило, Х. І. Порівняльний вплив фармацевтичних засобів на основі козлятника лікарського на біохімічні показники крові тварин з експериментальним цукровим діабетом 2 типу / Х. І. Курило, І. М. Кліщ // Мед. та клін. хімія. – 2017. – Т. 19, № 3. – С. 35–41.
11. Державний реєстр лікарських засобів України [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <http://www.drlez.com.ua/>
12. Kohlmünzer, S. Farmakognozja / S. Kohlmünzer. – Warszawa, 2007. – 595 p.
13. Спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з гіпоглікемічною дією. Пат. 101850 Україна, МПК А 61 К 36/48 (2006.01), А 61 Р 3/10 (2006.1) / Ковальов В. М., Ковальов С. В., Демешко О. В., Дмитрієвський Д. І., Куцаня А. С., Малоштан Л. М. – Заявл.: 08.12.2014 ; опубл.: 12.10.2015. – Бюл. № 19.
14. Oonsivilai, R. Extraction Condition of Phaseolus vulgaris / R. Oonsivilai, J. Manatwiyangkool, A. Oonsivilai // Intern. J. of Nutrition and Food Engineering. – 2011. – Vol. 12, Issue 12. – P. 869–872.
15. Barret, M. L. A proprietary alpha-amylase inhibitor from white bean (*Phaseolus vulgaris*) : a review of clinical studies on weight loss and glycemic control / M. L. Barret, J. K. Udani // Nutrition J. – 2011. – Vol. 10, Issue 1. doi: 10.1186/1475-2891-10-24
16. The efficacy of Phaseolus vulgaris as a weight-loss supplement: a systematic review and meta-analysis of randomised clinical trials / I. Onakpoya, S. Aldaas, R. Terry, E. Ernst // British J. of Nutrition. – 2011. – Vol. 106, Issue 02. – P. 196–202. doi: 10.1017/S0007114511001516

17. Рибак, В. А. Вплив тривалого застосування густого екстракту квасолі на показники вуглеводного обміну у щурів з метаболічним синдромом на тлі ожиріння / В. А. Рибак, Л. М. Малоштан // Фармакол. та лікарська токсикол. – 2014. – № 4–5. – С. 80–84.
18. Вронська, Л. В. Дослідження зі стандартизації стулок плодів квасолі за вмістом флавоноїдів / Л. В. Вронська // Фармац. часопис. – 2013. – № 4. – С. 82–87.
19. Вронська, Л. В. Обґрунтування вибору екстрагенту біологічно активних речовин стулок квасолі звичайної / Л. В. Вронська // Sci. Rise. – 2015. – № 12/4 (17). – С. 47–53.
20. Vronska, L. V. Development of phenolic compounds chromatographic identification in bilberry shoots / L. V. Vronska, M. B. Chubka, A. Ye. Demyd // Фармац. часопис. – 2015. – № 3. – С. 28–33. doi: 10.11603/2312-0967.2015.3.4951
21. Державна фармакопея України : в 3-х т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – X. : Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів, 2015. – Т. 1. – 1128 с.
22. Медична статистика [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <http://medstatistic.ru>
23. Effect of aqueous extract of Phaseolus Vulgaris L. (Red Kidney Beans) on alloxan-induced diabetic wistar rats / C. D. Luca, A. Olatunde, H. Tijjani, I. A. Olisa-Enewe // Int. J. of Sci. Invention Today. – 2013. – Vol. 2, Issue 4. – P. 292–301.
24. Porcine pancreatic alpha-amylase inhibition by the kidney bean (Phaseolus vulgaris) inhibitor ( $\alpha$ -AI1) and structural changes in the  $\alpha$ -amylase inhibitor complex / M. Santimone, R. Koukiekolo, Y. Moreau et al. // Biochim. Biophys. Acta. – 2004. – Vol. 1696, Issue 2. – P. 181–190. doi: 10.1016/j.bbapap.2003.11.001
25. Variation of seed  $\alpha$ -amylase inhibitors in the common bean / M. Ishimoto, K. Suzuki et al. // Theor. Appl. Genet. – 1995. – Vol. 90, Issue 3–4. – P. 425–429. doi: 10.1007/bf00221985
26. Антонюк, В. О. Лектини та їх сировинні джерела / В. О. Антонюк. – Л. : Кварт, 2005. – 554 с.
27. Проапоптотичні властивості сумарного препарату фітогемаглютиніну та його окремих ізолектинів у культурі клітин людини 4BL / Т. О. Кочубей, О. В. Максимчук, Л. Л. Мацевич та ін. // Укр. біохім. журн. – 2014. – № 86 (4). – С. 103–109.

## REFERENCES

1. *IDF Diabetes Atlas, 7-th edition*. (2015). Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 144. Available at: <http://www.diabetesatlas.org/>
2. Chaudhury, A., Duvoor, C., Reddy Dendi, V. S., Kraleti, S., Chada, A., Ravilla, R., Mirza, W. (2017). Clinical Review of Antidiabetic Drugs: Implications for Type 2 Diabetes Mellitus Management. *Frontiers in Endocrinology*, 8. doi: 10.3389/fendo.2017.00006
3. Yeh, G. Y., Eisenberg, D. M., Kaptschuk, T. J., Phillips, R. S. (2003). Systematic Review of Herbs and Dietary Supplements for Glycemic Control in Diabetes. *Diabetes Care*, 26 (4), 1277–1294. doi: 10.2337/diacare.26.4.1277
4. Derymedvid, L. V., Bukhtiarova, I. P. (2011). *Farmakolohiia i likarska toksykolohiia*, 2 (21), 37–42.
5. Kinichenko, A. O., Klevanova, V. S., Trzhetsynskyi, S. D., Maletskyi, M. M. (2017). *Farmatsevtichnyi zhurnal*, 2, 68.
6. Ezhned, M. A., Hroshovyi, T. A., Horoshko, O. M. (2015). *Farmatsevtichnyi chasopys*, 3, 63–65.
7. Rybak, V. A., Maloshtan, L. M. (2013). *Ukrainskyi biofarmatsevtichnyi zhurnal*, 6 (29), 42–45.
8. Tundis, R., Loizzo, M. R., Menichini, F. (2010). Natural Products as  $\alpha$ -Amylase and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors and their Hypoglycaemic Potential in the Treatment of Diabetes: An Update. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 10 (4), 315–331. doi: 10.2174/138955710791331007
9. Rybak, V. A., Kryvoruchko, O. V., Maloshtan, L. M., Samoilo, V. A., Kovalov, V. M. (2014). Likuvально-profilaktychnyi zasib iz hipohlikemichnoiu diieiu z lystia kyzyly. *Pat. 89735 Ukraine, MPK A61K 36/40 (2006.01), A61P 3/10 (2006.1)*; declared 16.12.2013; published 25.04.2014, № 8.
10. Kurylo, Kh. I., Klishch, I. M. (2017). *Medychna ta klinichna khimiia*, 19 (3), 35–41.
11. *Derzhavnyi reiestr likarskykh zasobiv Ukrainy*. Available at: <http://www.drlz.com.ua/>
12. Kohlmünzer, S. (2007). *Farmakognozja*. Warszawa, 595.
13. Kovalov, V. M., Kovalov, S. V., Demeshko, O. V., Dmytriievskyi, D. I., Kutsanian, A. S., Maloshtan, L. M. (2015). Sposib oderzhannia kompleksu biolohichno aktyvnykh rechovyn z hipohlikemichnoiu diieiu. *Pat. 101850 Ukraine, MPK A61K 36/48 (2006.01), A61P 3/10 (2006.1)*; declared 08.12.2014; published 12.10.2015, № 19.
14. Oonsivilai R., Manatwiyangkool, J., Oonsivilai, A. (2011) Extraction Condition of Phaseolus vulgaris. *International Journal of Nutrition and Food Engineering*, 12 (12), 869–872.
15. Barrett, M. L., Udani, J. K. (2011). A proprietary alpha-amylase inhibitor from white bean (Phaseolus vulgaris): A review of clinical studies on weight loss and glycemic control. *Nutrition Journal*, 10 (1). doi: 10.1186/1475-2891-10-24
16. Onakpoya, I., Aldaas, S., Terry, R., Ernst, E. (2011). The efficacy of Phaseolus vulgaris as a weight-loss supplement: a systematic review and meta-analysis of randomised clinical trials. *British Journal of Nutrition*, 106 (02), 196–202. doi: 10.1017/s0007114511001516
17. Rybak, V. A., Maloshtan, L. M. (2014). *Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia*, 4–5, 80–84.
18. Vronska, L. V. (2013). *Farmatsevtichnyi chasopys*, 4, 82–87.
19. Vronska, L. V. (2015). *ScienceRise*, 12/4 (17), 47–53.
20. Vronska, L.V., Chubka, M. B., Demyd, A. Ye. (2015). Development of phenolic compounds chromatographic identification in bilberry shoots. *Farmatsevtichnyi chasopys*, 3, 28–33. doi: 10.11603/2312-0967.2015.3.4951
21. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy: v 3 t.* (2015). Kharkiv: Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv, 1, 1128.
22. *Medychna statystyka*. Available at: <http://medstatistic.ru>
23. Luca, C. D., Olatunde, A., Tijjani, H., Olisa-Enewe, I. A. (2013). Effect of aqueous extract of Phaseolus Vulgaris L. (Red Kidney Beans) on alloxan-induced diabetic wistar rats. *Int. J. of Science Invention Today*, 2 (4), 292–301.
24. Santimone, M., Koukiekolo, R., Moreau, Y., Le Berre, V., Rougé, P., Marchis-Mouren, G., Desseaux, V. (2004). Porcine pancreatic  $\alpha$ -amylase inhibition by the kidney bean (Phaseolus vulgaris) inhibitor ( $\alpha$ -AI1) and structural changes in the  $\alpha$ -amylase inhibitor complex. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Proteins and Proteomics*, 1696 (2), 181–190. doi: 10.1016/j.bbapap.2003.11.001
25. Ishimoto, M., Suzuki, K., Iwanaga, M., Kikuchi, F., Kitamura, K. (1995). Variation of seed  $\alpha$ -amylase inhibitors in the common bean. *Theoretical and Applied Genetics*, 90 (3–4). doi: 10.1007/bf00221985
26. Antoniuk, V. O. (2005). *Lektyny ta yikh syrovynni dzherela*. Lviv: Kwart, 554.
27. Kochubei, T. O., Maksymchuk, O. V., Matsevych, L. L. et al. (2014). *Ukrainskyi biokhimichnyi zhurnal*, 86 (4), 103–109.

**Відомості про авторів**

Вронська Л. В., канд. хім. наук, доцент кафедри фармації ННІ післядипломної освіти, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України». E-mail: vronska\_liudmyla@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7223-6966>  
Дуб А. І., магістр фармації, здобувач кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України». E-mail: dub\_aih@tdmu.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6945-2422>  
Клиш І. М., д-р біол. наук, професор кафедри функціональної і лабораторної діагностики, проректор з наукової роботи, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України». E-mail: klishch@tdmu.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6226-4296>  
Демид А. Є., канд. хім. наук, доцент кафедри загальної хімії, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України». E-mail: demyd@tdmu.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8275-1307>

**Information about authors:**

Vronska L., Cand. of Chem. Sci., Associate Professor Department of Pharmacy, Postgraduate Education Institute, I. Horbachevsky Ternopil State Medical University. E-mail: vronska\_liudmyla@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7223-6966>  
Dub A., Master of Pharmacy, the search engineer of the Department of Management and Economics of Pharmacy with the technology of medicines, I. Horbachevsky Ternopil State Medical University. E-mail: dub\_aih@tdmu.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6945-2422>  
Klishch I., Doctor of Biol. Sci., Professor of the Department of Functional and Laboratory Diagnostics, Vice-Rector for Research, I. Horbachevsky Ternopil State Medical University. E-mail: klishch@tdmu.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6226-4296>  
Demyd A., Cand. of Chem. Sci., Associate Professor, Department of General Chemistry, I. Horbachevsky Ternopil State Medical University. E-mail: demyd@tdmu.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8275-1307>

**Сведения об авторах:**

Вронська Л. В., канд. хім. наук, доцент кафедри фармації інститута последипломного образования, ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МЗ Украины». E-mail: vronska\_liudmyla@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7223-6966>  
Дуб А. И., магистр фармации, соискатель кафедры управления и экономики фармации с технологией лекарств, ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МЗ Украины». E-mail: dub\_aih@tdmu.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6945-2422>  
Клиш И. Н., д-р биол. наук, профессор кафедры функциональной и лабораторной диагностики, проректор по научной работе, ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МЗ Украины». E-mail: klishch@tdmu.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6226-4296>  
Демид А. Е., канд. хім. наук, доцент кафедры общей химии, ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МЗ Украины». E-mail: demyd@tdmu.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8275-1307>

Рекомендована д. фарм. н., професором В. М. Ковальовим

Надійшла до редакції 02.04.2018 р.