

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**  
**НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ1**  
**факультет медико-фармацевтичних технологій**  
**кафедра фармацевтичної хімії**

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

**на тему: «РОЗРОБКА МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ  
КВЕРЦЕТИНУ У СКЛАДІ ТАБЛЕТОК З КВЕРЦЕТИНОМ ТА  
ГУСТИМ ЕКСТРАКТОМ КОРЕНЕПЛОДІВ МОРКВИ ПОСІВНОЇ»**

Виконав: здобувач вищої освіти Фм20(2,6з)-02  
спеціальності 226 Фармація, промислова фармація  
освітньої програми Фармація

Аліна Маковецька

**Керівник:** доцент закладу вищої освіти кафедри  
фармацевтичної хімії, к.фарм.н., доцент

Володимир ГРУДЬКО

**Рецензент:** доцент закладу вищої освіти кафедри медичної  
хімії, к.фарм.н., доцент

Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ

**Харків – 2023 рік**

## ЗМІСТ

<b>ВСТУП</b>	5
<b>РОЗДІЛ 1 ФЛАВОНОЇДИ ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА; КВЕРЦЕТИН: СИНТЕЗ, МЕТОДИ АНАЛІЗУ</b>	7
1.1 Кверцетин і рутин, як його глікозид; біосинтез, будова, функції	10
1.2 Методи виділення і аналізу флаваноїдів	15
<b>РОЗДІЛ 2 КВЕРЦЕТИН; БІОЛОГІЧНА ДІЯ ТА ФАМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ, ПРЕПАРАТИ КВЕРЦЕТИНУ</b>	23
2.1 Кверцетин	23
2.2 Шляхи отримання кверцетину	23
2.3 Сучасні методи визначення кверцетину	24
2.4 Фармакокінетика аглікону флаваноїдів кверцетину	26
2.5 Біологічні та фармакологічні властивості кверцетину	28
<b>РОЗДІЛ 3 РОЗРОБКА МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ КВЕРЦЕТИНУ У СКЛАДІ ТАБЛЕТОК ІЗ ГУСТИМ ЕКСТРАКТОМ КОРНЕПЛОДІВ МОРКВИ ПОСІВНОЇ ТА КВЕРЦЕТИНОМ МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ</b>	32
3.1 Спектрофотометричний метод кількісного визначення АФІ в лікарських засобах	33
3.2 Дослідження спектральних характеристик розчинів кверцетину та модельної суміші, вибір аналітичної смуги вбирання	36
3.3 Визначення вмісту кверцетину в модельній серії експериментальних таблеток	41
3.4 Визначення вмісту кверцетину в модельній серії експериментальних таблеток	44
3.5 Статистична характеристика розробленої методики кількісного визначення кверцетину у складі таблеток з кверцетином, та екстрактом коренеплодів моркви посівної	46
<b>ВИСНОВКИ</b>	48
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b>	50

## АНОТАЦІЯ

У роботі наведені результати дослідження та розробки нових методик контролю якості фармацевтичного інгредієнту – кверцетину у складі таблеток. У результаті було розроблено та запропоновано нову методику кількісного визначення кверцетину у складі експериментального лікарського засобу, яка базується на його спектрофотометричному визначенні на ультрафіолетовій ділянці світла. Наведена методика, у подальшому, дозволить оцінити якість лікарського засобу, а також визначати його стабільність.

Робота складається зі вступу, трьох розділів, висновків, списку використаної літератури. Кількість сторінок роботи складає - 49, на яких наведено таблиць - 3, рисунків - 8, схем - 2 та літературних джерел - 42.

**Ключові слова:** триптофан, методика, якість, спектрофотометрія.

## ANNOTATION

The paper presents the results of research and development of new methods of quality control of the pharmaceutical ingredient - quercetin in the composition of tablets. As a result, a new method of quantitative determination of quercetin in the composition of an experimental medicinal product was developed and proposed, which is based on its spectrophotometric determination in the ultraviolet region of light. In the future, the given technique will allow to evaluate the quality of the medicinal product, as well as to determine its stability.

The work consists of an introduction, three sections, conclusions, and a list of references. The number of pages of the work is 49, on which there are 3 tables, 8 figures, 2 diagrams, and 42 literary sources.

**Key words:** tryptophan, technique, quality, spectrophotometry.

## **ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

БАР – біологічно активні речовини

ВЕРХ – високоефективна хроматографія

ТШХ – тонкошарова хроматографія

ПХ – паперова хроматографія

ГХ – газова хроматографія

ЯМР – ядерно-магнітно-резонансна спектроскопія

ІЧ – інфрачервона спектроскопія

УФ – ультрафіолетова спектроскопія

ВООЗ – всесвітня організація охорони здоров'я

ДФУ – Державна фармакопея України

МКЯ – методи контролю якості

СЗ – фармакопейний стандартний зразок

## ВСТУП

На сьогоднішній день найбільш поширеними стають препарати для лікування системи кровообігу.

На фармацевтичних заводах планують розробити якомога більше лікарських засобів на основі кверцетину, які покращують здоров'я людини і будуть ефективними у лікуванні

До цієї проблеми у сучасному світі підходять край ретельно, фармацевтичні заводи у 21 столітті оснащені всім необхідним щоб зробити життя людей набагато простішим, а самопочуття набагато кращим. Та заслуга в цьому не тільки удосконалених приладів та сучасних технологій, а також і фармацевтичних працівників, які кожного разу піклуються про людей з-за допомогою своїх ідей щодо виготовлення препаратів.

Препарати для покращення кровообігу на сьогоднішній день одні з найпопулярніших на ринку збуту, є такі які складаються з кверцетину

Які саме нам доведеться визначити і якомога більше дізнатися про цю лікарську сировину та ліки на її основі, які грають не малу роль у житті людини.

### **Мета та завдання дослідження**

Метою роботи є фармацевтична розробка та стандартизація нового ефективного лікарського засобу, який виявляє капілярозміцнюючу дію, сприяє знаттю набряку судин, поліпшенню кровообігу на основі фіксованої комбінації кверцетину екстрактом коренеплодів моркви посівної, що сприяє значному зменшенню проявів побічних ефектів.

Для досягнення поставленої мети були вирішені наступні завдання:

- провести аналіз та надати характеристику щодо лікування захворювань кровеносної системи, методичних підходів до створення таблетованих лікарських форм, а також перспектив застосування препаратів, розроблених на основі антиоксидантів з метою зменшення побічних ефектів.

- проаналізувати асортимент фармацевтичного ринку на наявність схожих лікарських засобів.
- розробити методику визначення кількості кверцетину у складі нового комбінованого препарату у таблетках.

*Об'єкт дослідження* – контроль якості таблетованої лікарської форми, до складу якої входить кверцетин.

*Предмет дослідження* – розробка методики кількісного визначення для кверцетину у складі готового лікарського засобу - таблеток з кверцетином та екстрактом коренеплодів моркви посівної, який володіє капіляростабілізуючою дією.

### **Методи дослідження**

Розробити метод кількісного визначення діючої речовини — кверцетину у складі нової таблетованої лікарської форми.

У роботі для проведення контролю якості лікарського засобу був запропонований наступний метод: абсорбційна спектрофотометрія на ультрафіолетовій ділянці спектру.

- **Наукова новизна отриманих результатів**

Задля дослідження було обрано експериментальний лікарський засіб, який потребує подальшої стандартизації. Для цього, в результаті дослідження, розроблено спектрофотометричну методику, яка дозволяє визначити кількість кверцетину у складі лікарського засобу. Наведена методика дозволить не тільки проводити контроль якості, але й контролювати стабільність лікарського препарату.

### **Структура та обсяг кваліфікаційної роботи**

Робота складається із вступу, трьох розділів, загальних висновків та списку використаних літературних джерел.

використаних джерел містить 42 найменування.

## РОЗДІЛ І

### ФЛАВОНОЇДИ ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА; КВЕРЦЕТИН: СИНТЕЗ, МЕТОДИ АНАЛІЗУ

Флавоноїди — це біологічно активні речовини, в основі яких лежить дифенілпропановий фрагмент, із загальною формулою  $C_6—C_3—C_6$ .

Назва походить від латинського слова *flavus* — жовтий, тому що перші виділені флавоноїди мали жовте забарвлення.

#### Будова та класифікація флавоноїдів

Будова. Молекула флавоноїда складається з двох фенольних залишків (кільця А і В), з'єднаних пропановою ланкою, тому їх можна розглядати як похідні фенілпропаноїдів.



- Історія вивчення флаваноїдів почалася у 1814 р., після виділення Шевроле кверцетину із кори дуба, Рігандом у 1854 році було встановлено, що ця речовина має глікозидну природу. Він назвав її агліконом кверцитрином; інтерес до флавоноїдів посилювався після того як угорський біохімік Сент-Дерді у 1936 р з'ясував, що сума флаваноїдів, виділена з лимонної цедри, має Р-вітамінну активність і здатна зміцнювати стінки судин, ще одним кроком до вивчення цих речовин стало відкриття «французького парадоксу», спостерігаючи за жителями середземноморських країн, які вживають переважно жирну та смажену їжу, що є причиною раннього розвитку атеросклерозу, вони мали дуже невелику кількість захворювань та смертності від серцево-судинних захворювань; було доведено, що саме флавоноїди забезпечують цей захист жителям Середземномор'я. Містяться вони саме у вині. Крім того встановлено, що в західних країнах, де рівень життя досить

високий, люди кожного дня вживають від 23 мг до 1–2 г флавоноїдів з їжею; в моркві вони представлені апігенином, лютеоліном, хризином (5,7-дигідроксифлавоон), кемпферолом, кверцетином та їх глікозидами; в основі будови молекул флавоноїдів лежить структура флавоону, що складається з двох бензольних кілець (А і В), які з'єднуються пірановою або пірольною гетероциклічною групою (кільце С), рис. 1.1.

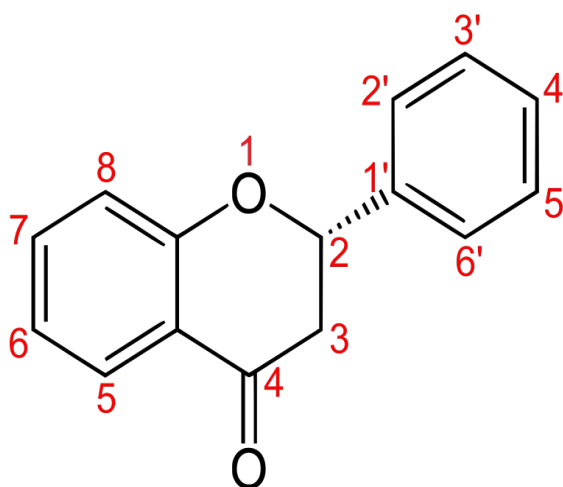
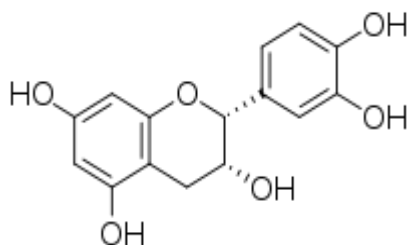
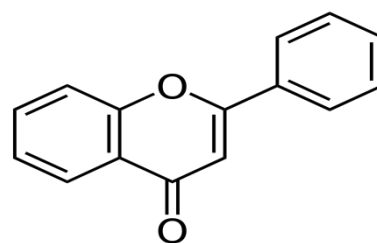


Рисунок 1.1 - Загальна бідова молекули флавоноїдів.

Залежно від наявності чи відсутності С4 карбонільної групи, С2 -С3 подвійного зв'язку, кількості й позицій гідроксильних груп флавоноїди розподіляють на підкласи: катехіни, флавоноли і флавоніни [15,16], рис. 2.2.



катехін



флавоон



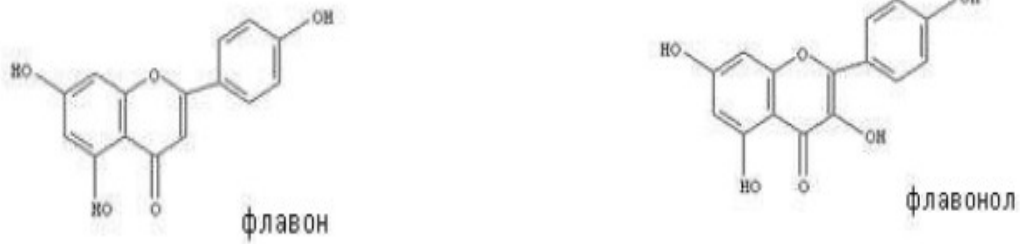


Рисунок 1.2 - Підкласи флавоноїдів.

Поширення, локалізація та біологічні функції флавоноїдів у рослинах.

Флавоноїди містяться мало не у всіх рослинах, зустрічаються в мікроорганізмах та комах.

Найбагатші на вміст флавоноїдів є родини *Fabaceae*, *Polygonaceae*, *Asteraceae*, *Rosaceae*. Накопичуються вони здебільшого в квітках, листі, менше — в стеблах, кореневищах, коренях. Вміст їх коливається від 0,1 до 20 % (наприклад, в пуп'янках софори японської) і змінюється в залежності від фази вегетації рослини. Накопичення максимальної кількості флавоноїдів відбувається під час цвітіння, а потім вміст зменшується. На їх вміст в рослинах впливають зовнішні фактори. Рослини тропічних та високогірних місцевостей містять більше флавоноїдів; тому вважають, що вміст флавоноїдів залежить від інтенсивності сонячного світла та висоти над рівнем моря.

Глікозиди зазвичай містяться у тканинах активного зростання (листі, пуп'янках, квітках), аглікони — у задерев'янілих тканинах (кора, корка).

Флавоноли становлять 40 % від усіх флавоноїдів. Рутин, наприклад, виявлений більше як у 70 видах, які відносяться до 34 родин. Кверцетин зустрічається більше як у 400 видах рослин.

Антоціанідини впливають на колір забарвлення квіток, плодів а також листя. У природі відомо понад 22 аглікони антоціанідинів, але широко розповсюджені лише три з них: дельфінідин, пеларгонідин та ціанідин. Ціанідин забарвлює малину, вишні, червону смородину, яблука; дельфінідин —

гранати, баклажани; пеларгонідин — суниці, плоди пасифлори; ціанідин та дельфінідином — чорну смородину, апельсини.

Аурони і халкони легко виявити в пелюстках квіток — під дією парів амоніаку їх забарвлення змінюється із жовтого на червоний. Їх розповсюдження обмежено дев'ятьма родинами.

Якщо флавоноїди розчиняються в клітинному соці рослин і знаходяться в хлоропластах клітин, то халкони і аурони череди трироздільної — в молочниках. Флавоноли і флаволи містяться в епідермісі. Ізофлавоноїди переважно накопичуються в підземних органах та в насінні.

Флавоноїди є типовими рослинними барвниками, що відіграють роль фільтрів у рослинах і захищають їх тканини від ультрафіолетового проміння, запобігають руйнуванню хлорофілу. Знайшла підтвердження гіпотеза про участь флавоноїдів у процесах дихання рослин, бо стало відомо, що вони разом з аскорбіновою кислотою витрачаються в ензиматичних процесах окислення та відновлення, виконуючи антиоксидантну функцію. Доведено також, що флавоноїди впливають на ріст і розвиток рослин, беруть участь у процесі запліднення, але механізм дії тут не з'ясований. Наприклад, рутин має здатність пригнічувати запліднення.

### 1.1 Кверцетин і рутин, як його глікозид; біосинтез, будова, функції

Серед флавоноїдів, найбільше використання мають рутин і кверцетин. Вони, як і інші флавоноїди, сприяють підвищенню еластичності кровоносних судин, знешкодженню важких металів, має протипухлинну та протирадіаційну дію, нетоксичні і не спричиняють побічної дії.

Рутин впливає на секреторну й антитоксичну функції печінки, стимулює секрецію жовчі, захищає печінкову паренхіму від негативної дії чотирехлористого вуглецю, бензолу, хлороформу, хініну, етанолу та інших токсичних сполук [6].

Виробництво рутину було збільшено після другої світової війни. На сьогоднішній день, його світове виробництво становить 200 т, із яких 120 т виробляє Японія, близько 50 т – США.

Рутин – флавоновий глюкозид кверцетину, сполученого із дисахаридом рутинозою ( $\alpha$ -L-рамнопіранозил-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-глюкопіранози), рис. 1.3.

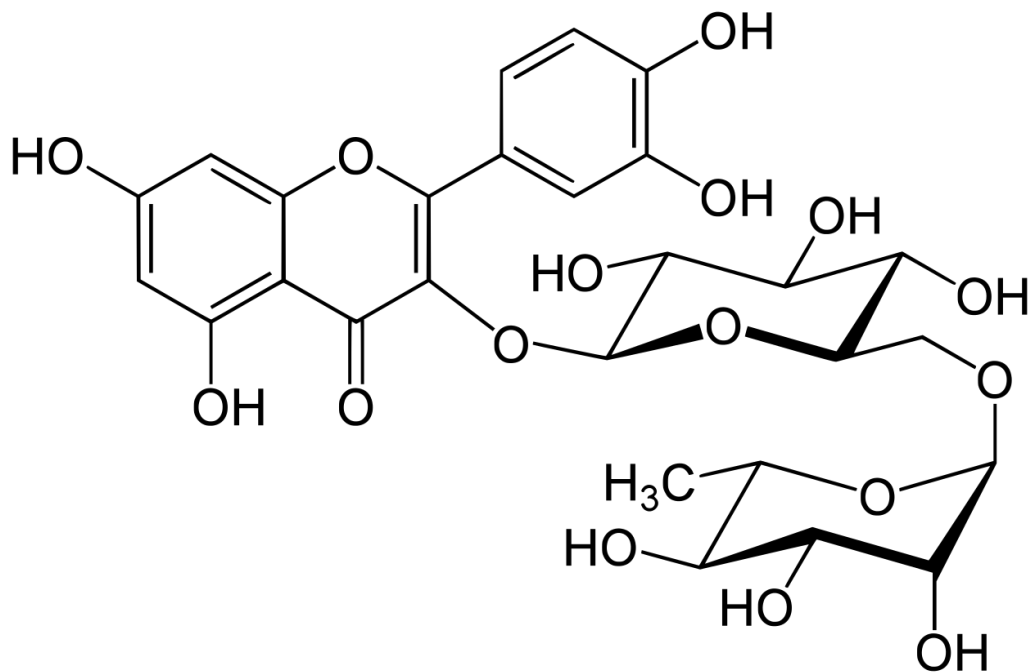


Рисунок 1.3 - Флавоновий глюкозид – рутин.

Рутин може взаємодіяти із катіонами, поставляючи поживні речовини з ґрунту до клітин рослин. У людському організмі, він приєднується до іону заліза  $Fe^{2+}$ , запобігаючи його зв'язуванню з перекисом водню, які призводять до утворення високореактивних вільних радикалів, які можуть шкодити клітині. Рутин підвищує активність вітаміну С, запобігає окисненню гормону інсуліну, стабілізує речовини сполучної тканини, тобто інгібує такий фермент як гіалуромідаза, зменшує ламкість капілярів та лікує, може застосовуватись для профілактики та лікування цинги.

Добування кверцетину і рутину починається з утворення ароматичного остова майбутньої молекули за шикіматним шляхом з конденсації

фосфоенолпірувату (ФЕП) і еритрозо-4-фосфату. Продуктом злиття молекул попередників є 7-фосфо-3-дезокс D-арабіногептулозонова кислота, яка, у свою чергу, замикаючись у кільце, перетворюється на 3-дегідрохінну кислоту.

Наступним етапом є дегідратація та утворення 3-дегідрошикімової кислоти з подальшим перетворенням у шикімову кислоту – сполуку, що дала назву всьому циклу.

Подальші перетворення спрямовані на збільшення кількості подвійних зв'язків у циклі: фосфорилування шикімату, приєднання ще однієї молекули ФЕП із подальшим дефосфорилуванням.

Усі ці реакції призводять до утворення наступного проміжного продукту – хоризмової кислоти, з якої через виникнення префенової кислоти може утворитися L-триптофан, який є попередником усіх індольних сполук, або L-фенілаланін – амінокис- -триптофан, який є попередником усіх індольних сполук, або L-фенілаланін – амінокис- L-фенілаланін – амінокис- -фенілаланін – амінокислота, з появою якої спряжені всі подальші реакції синтезу рослинних флавоноїдів. Тобто відбувається розділення шикіматного шляху на дві гілки, третя гілка відокремлюється у випадку утворення з L-фенілаланіну іншої амінокислоти – L-тирозину.

Формуванням цих двох незамінних для людського організму амінокислот завершується шикіматний шлях, який як джерело вказаних амінокислот є важливою ланкою первинного метаболізму рослинної клітини.

Всі подальші реакції пов'язані з перетворенням єдиного попередника – амінокислоти L-феніла, рис. 1.4.

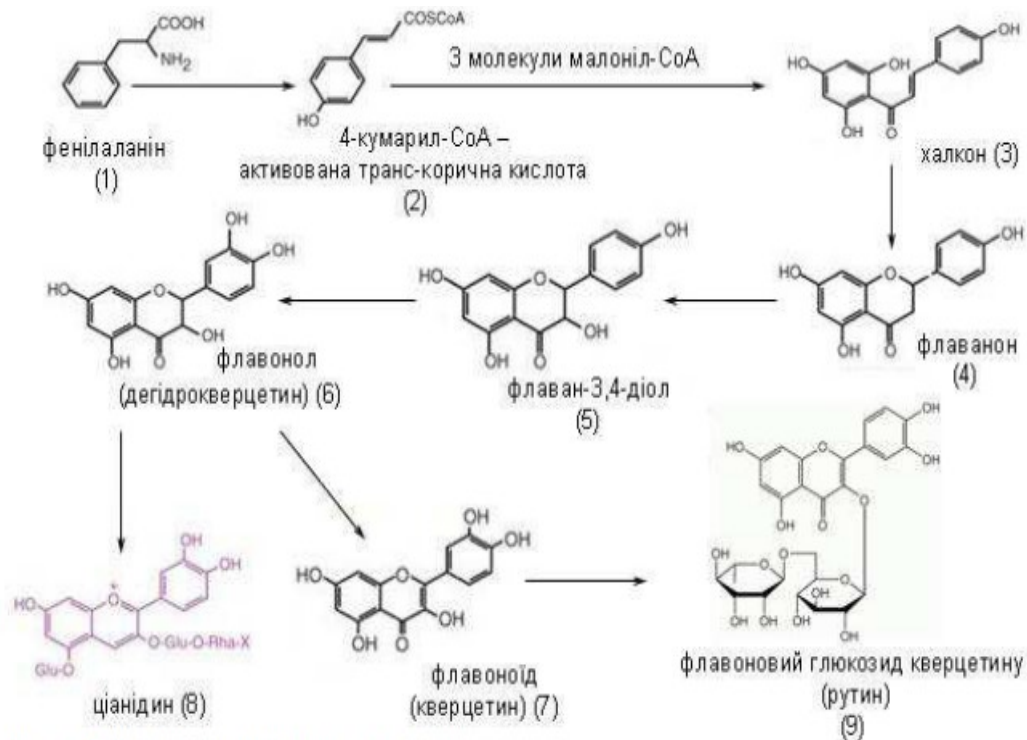


Рисунок 1.4 - Схема синтезу кверцетину та рутину.

На першому етапі перетворення відбувається дезамінування амінокислотопередника (1) за допомогою ферменту фенілаланін-аміак-ліази (ФАЛ) з утворенням транскоричної кислоти (2).

Далі транскорична кислота в процесі парагідроксилування перетворюється на *p*-кумарову кислоту. Пара-кумарова кислота вважається найпростішою фенольною сполукою, що синтезується рослинами. Вона вступає у різні реакції і може бути основою для синтезу багатьох класів фенолів. Укорочення бічного ланцюга цієї сполуки приводить до утворення ацетофенонів, фенілоцтових та фенілкарбонових кислот. Відновлення бічного ланцюга з подальшою полімеризацією призводить до появи полімерного фенолу лігніну. Приєднання до пара-кумарової кислоти додаткової гідроксильної групи призводить до спонтанної циклізації та утворення кумаринів.

Ще одним відгалудженням у комплексі перетворень паракумарової кислоти є утворення флавоноїдів. Пара-кумарова кислота, активуючись коензимом А, вступає в реакцію з трьома молекулами активованої маленової

кислоти. При цьому до бічного аліфатичного ланцюга відбувається приєднання трьох ацетатних фрагментів, після чого, при участі ферменту халконсинтази, їх внутрішньомолекулярне замкнення, утворює друге бензольне кільце. Спочатку утворюється халкон (3), який має друге незамкнене кільце, а потім за участі відповідної ізомерази він перетворюється на ізомерн – флаванон (4). Таким чином вуглеводневий скелет флавоноїдів має подвійне біогенетичне походження чим і відрізняється від інших фенольних сполук. Одне з кілець формується за шикіма́тним шляхом – продукт вторинних перетворень амінокислоти L-фенілаланіну. Друге – утворюється як результат кондеціонування трьох ацетатних залишків, що є продуктом вуглеводневого обміну.

Наступним етапом синтезу рутину є окисно-відновні реакції, у результаті яких флаванон (наргінін) перетворюється на представника іншого класу фенольних сполук – флавонол (дегідрокверцетин) (6), а далі утворюється флавоноїд кверцетин (7).

Дегідрокверцетин – основа, яка приєднуючи різноманітні цукрові залишки може стати попередником непластидних пігментів антоціанів (8) або інших флавоноїдів. Глікозид кверцетин (9) утворюється тоді, коли до аглікону (молекула кверцетину) приєднується залишок глюкози.

У літературі широко описані антиоксидантні властивості рутину і кверцетину.

Їх антиоксидантна властивість обумовлена нейтралізацією вільних радикалів (-ОН та -O<sub>2</sub>) – активних форм кисню (АФК). Рутин, дякуючи можливості проникати через ліпідний шар клітини, знищує продукти пероксидації в клітині, захищає біліпідний шар клітинних мембран [22,24].

Крім того, високий антиоксидантний потенціал рутину обумовлений здатністю підвищувати активність ферментів власного антиоксидантного захисту організму.

Використання розчинної форми препарату рутину хворими на інфаркт міокарда характеризується покращенням їхнього загального стану,

нормалізацією серцевого викиду та вираженим антиаритмічним ефектом [22,23,24].

Рутин зменшує відмирання тканин при обмороженні, підсилює захисні властивості організму людей, що працюють із рентгенівськими променями та радіоактивними речовинами. Виявляючи свої антиоксидантні властивості, рутин збільшує плинність ліпідів мембран, що зумовлює до зменшення проникності судин при променевого ураженні.

Рутин, впливаючи на організм в першу чергу забезпечує захист судин, зменшення проникності і крихкості капілярів, захищає від утворення набряків і венозних кровотеч, знижує високий кров'яний тиск, перешкоджає розвиткові судинних ускладнень та атеросклерозу, цукрового діабету, розширює коронарні судини, поліпшує скорочуваність міокарда, а отже, й насосну функцію серцевого м'яза, сприяє зниженню рівня холестерину, діє як сечогінний засіб, має противірусні, бактерицидні, фунгіцидні, властивості та виявляє гепатопротекторну, жовчогінну дію і полегшує біль при кишкових коліках [24]

Препарат рутин на сьогоднішній день у фармації виробляється переважно з листя рути пахучої (*Ruta graveolens* L.), із зеленої маси гречки та бруньок квітів софори японської (*Sophora japonica*), родина бобових (*Leguminosae*).

## 1.2 Методи виділення і аналізу флаваноїдів

Зазвичай при екстракції флаваноїдів з рослин застосовують етиловий або метиловий спирт, що розчиняють усі флаваноїди та поряд з цим витягують велику кількість баластових речовин.

При виділенні флаваноїдів часто проводять послідовні екстракції сировини різними органічними розчинниками з дедалі більшою полярністю, наприклад петролейним, ефіром, ефіром, хлороформом та потім спиртом. Проведення форекстракції дозволяє видалити з сировини баластові речовини (смоли, хлорофіл, каротиноїди), вуглеводні та одержувати очищені спиртові або ефірні

розчини флавоноїдів. При згущенні останніх виділяється суміш флавоноїдів. В даний час їх виділення із суміші успішно проводиться методом хроматографії на папері, на поліамідних смолах, силікагелі

Для виділення флавоноїдів рослинний матеріал екстрагують одним із нижчих спиртів. Екстракт упарюють, додаючи до залишку гарячу воду і видаляючи неполярні сполуки (хлорофіл, жирні і ефірні олії та ін.) після охолодження, з водної фази хлороформом або чотиріхлористим вуглецем. Флавоноїди з водної фази послідовно витягують етиловим ефіром (аглікони), етилацетатом (в основному монозиди) і бутанолом (біозиди, тріозиди і т.д.)

Для розділення компонентів кожної фракції використовують колонкову хроматографію на силікагелі, поліамідному сорбенті чи целюлозі. Для елюювання використовують суміш хлороформу з метиловим спиртом, з поступовим підвищенням концентрації останнього, спирто-водні суміші із зростаючою концентрацією спирту, якщо сорбентом служить поліамід, або 5-30% - ний оцтової кислоти у разі целюлози.

Для виділення окремих флавоноїдів існують специфічні методи. Так виділення рутину із насіння моркви посівної проводять гарячою водою. При охолодженні водних витягів рутин випадає в осад, його відфільтровують та очищають перекристалізацією зі спирту

Для того, щоб ідентифікувати флавоноїди використовують їх фізико-хімічні властивості:

- температуру плавлення;
- величина питомого обертання ( $[\alpha]_D$  глікозидів);
- порівняння УФ-, ІЧ-, мас-, ЯМР-спектрів зі спектрами стандартних зразків.

УФ-спектр флавоноїдів характеризується наявністю, як правило, двох максимумів поглинання. Положення максимумів та їх інтенсивність характерні для різних груп флавоноїдів. Флавонолові глікозиди похідні кверцетину (рутин) мають два максимуми поглинання при 258 і 361 нм та «плече» при 266 нм, рис. 1.5.



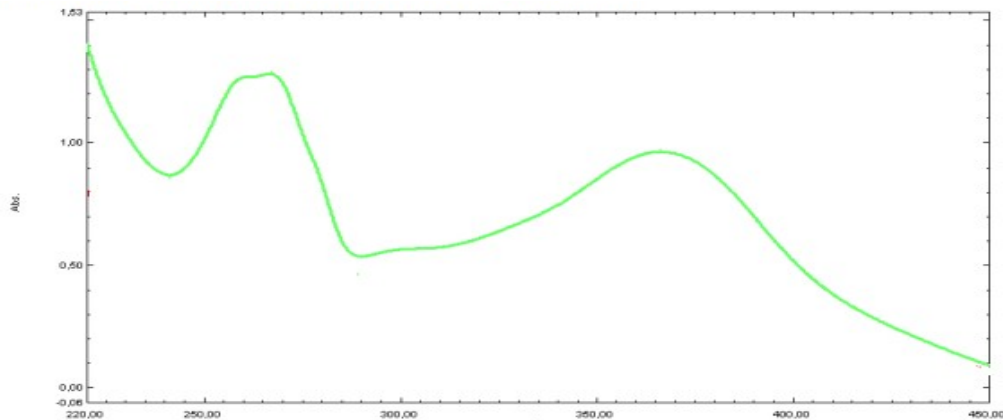


Рисунок 1.5 - УФ спектр рутину.

УФ-спектроскопія успішно використовується для встановлення розташування вільних ОН-груп у молекулі флавоноїду шляхом додавання різних реактивів (ацетату натрію, метилату натрію, борної кислоти з ацетатом натрію, хлористого алюмінію і т.д.). При додаванні цих реактивів відбувається зсув максимумів поглинання (батохромний зсув), характерний для гідроксильних груп у різних положеннях.

Абсорбційні УФ-спектри розчинів флавоноїдів у спирті на ділянці 220-400 нм мають максимуми поглинання у рутозида – при 258 нм і 362,5 нм, у кверцетину – при 255 нм та 375 нм, а у дигідрокверцетину мінімум поглинання – при 247 нм, максимум – при 290 нм і плече - при 325 нм. Встановлюють також значення питомих показників поглинання спиртових розчинів. У рутозида при  $\lambda = 362,5$  нм він має бути в межах від 300 до 330; у дигідрокверцетину за довжини хвилі 290 нм він має бути  $630 \pm 60$ .

В ІЧ-спектрі флавоноїдів є смуги поглинання, характерні для різних угруповань. Важливою для ідентифікації флавоноїдів є так звана область «відбитків пальців» 800-1200 нм. Збіг смуг зазначених угруповань та області «відбитка пальців» є надійною ознакою ідентичності речовин, рис. 1.6.

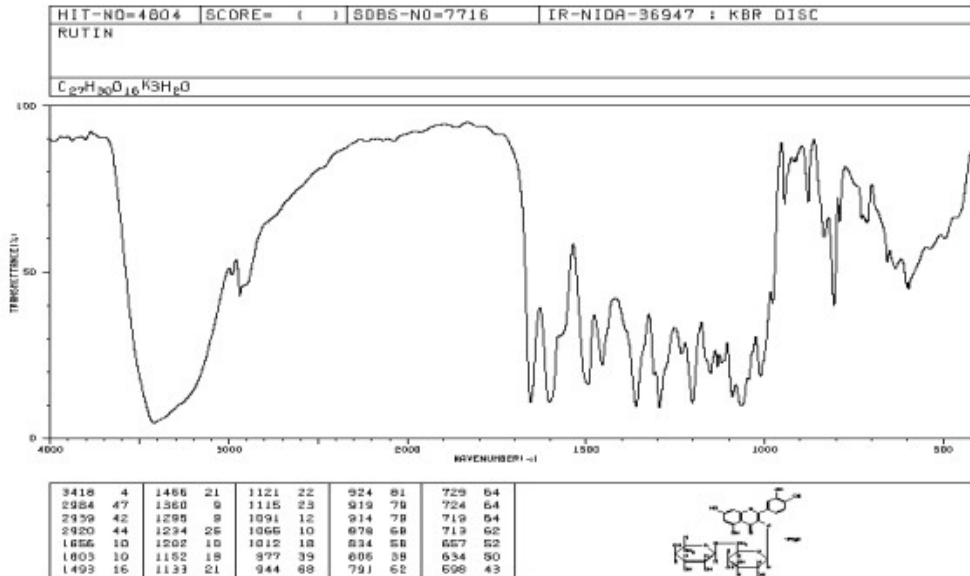


Рисунок 1.6 - ІЧ – спектр рутина

ЯМР-спектроскопія дозволяє встановити структуру молекул флавоноїдів, їх конформаційну будову та розподіл електронної щільності. У поєднанні з УФ- і ІЧ-спектроскопією дає дуже цінну інформацію про структуру флавоноїдів.

Внаслідок низької розчинності глікозидів в малополярних і неполярних розчинниках, що використовуються для отримання спектрів, вони в більшості випадків досліджуються у вигляді ацетильних або триметилсилілових похідних.

За допомогою ПМР-спектрів можна не тільки швидко і точно встановити положення заступників у кільцях А і В флавоноїду, але і розшифрувати будову вуглеводного компонента, визначити конфігурацію глікозидного зв'язку, природу і конформацію

Якісний склад сировини визначали за допомогою хімічних реакцій та хроматографічних методів дослідження:

Для попередньої індексації флавоноїдів використовують **паперову хроматографію (ПХ)** і **хроматографію в тонкому шарі сорбенту (ТШХ)**.

Для проведення дослідження використовують хроматографічні пластинки марки «Sorbfil», на які наносили водно-спиртові витяжки листя та коренеплодів моркви та стандартні зразки флавоноїдів. Пластинки поміщали у хроматографічні камери та хроматографували у рухомій фазі хлороформ-

етанол-вода у відношенні:26:16:3. Хроматограми обробляли розчином калію гідроксиду та 5 % етанольним розчином алюмінію хлориду.

В УФ-світлі, якщо довжина хвилі 360 нм флавоноїди флуоресціюють таким чином:

- флавони, флавонол-3-глікозиди, флаванони, халкони проявляються коричневим і темно-коричневими кольорами;
- флавоноли та їх глікозиди — флуоресціюють жовтими, жовто-зеленими кольорами;
- аурони — коричневими;
- ізофлавиони — не мають прояву;
- птерокарпани — світло-блакитними;
- куместани — яскраво-блакитними, бірюзовими.

Після закінчення хроматограми проявляють хромогенними реактивами, які використовують для якісних кольорових реакцій: пари аміаку, анілінфталатні реактиви, 0,2 % етанольний розчин бромкрезолового зеленого, 5 % етанольний розчин алюмінію хлориду, розчин калію гідроксиду, кислота сульфанілова діазотована, 10 % розчин кислоти фосфорно-молібденової, 3 – 1 % етанольний розчин п-диметиламінобензальдегіду, розчин ваніліну в 20 % розчині кислоти сірчаної, розчин феруму (III) хлориду.

Для хроматографування використовують хроматографічний папір марки «Filtrak» (FN 1, 3, 7, 14), пластинки «Sorbfil»-ПТСХ-А-УФ [26].

При використанні паперової хроматографії найчастіше використовуються такі системи:

- н-бутанол, насичений водою
- н-бутанол-оцтова кислота-вода (4:1:5)
- оцтова кислота 15%
- н-бутанол-піридин-вода (6:3:1);
- н-бутанол-кислота оцтова льодяна-вода (4:1:5),
- н-бутанол-кислота оцтова льодяна-вода (4:1:2);
- хлороформ-етанол-вода (26:16:3)

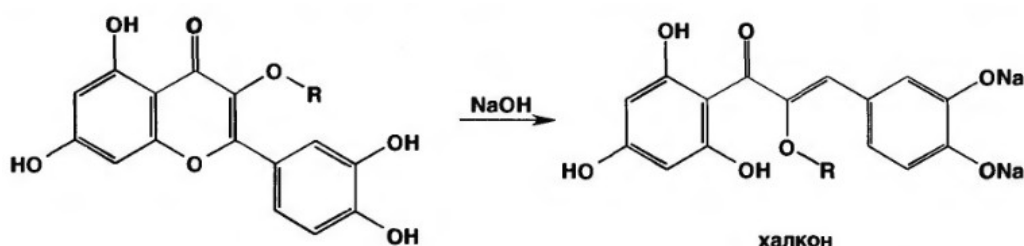
- нацетон-н-бутанол-вода (7:2:1);
- етилацетат-кислота мурашина-вода (3:1:1).
- етилацетат-кислота оцтова-кислота мурашина-вода (100:11:11:25);
- етилацетат-кислота мурашина-вода (10:2:3);

При використанні хроматографії в тонкому шарі сорбенту частіше всього використовуються такі системи:

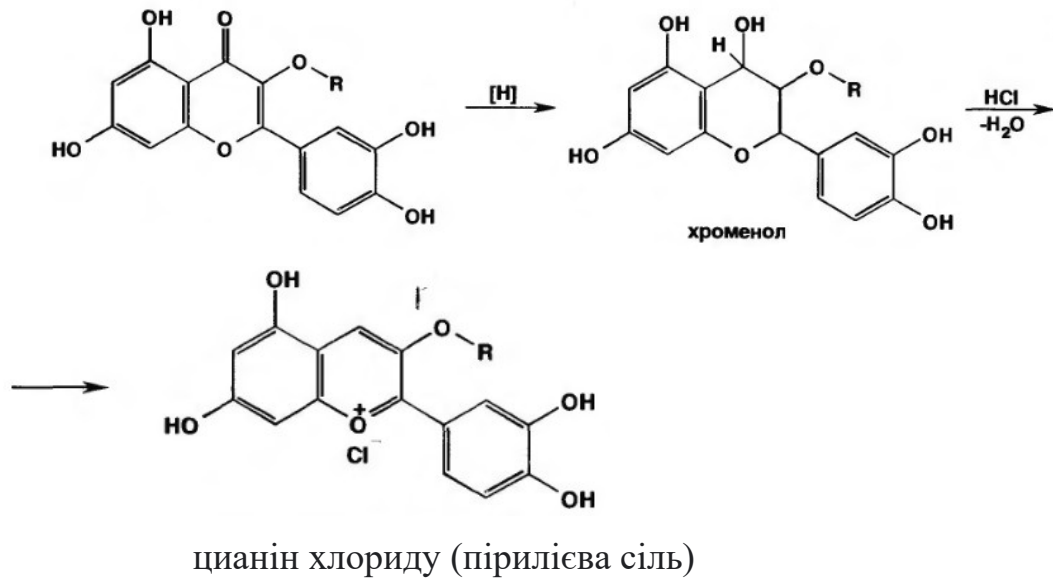
- Хлороформ – метанол 9:1
- Хлороформ-етанол- вода 26: 16: 2
- Бензол – оцтова к-та 5:2
- Етилацетат-мурашина кислота – вода 70:15:17
- Етилацетат – оцтова кислота 8:2
- Метанол-кислота оцтова – вода 18:1:1.

Визначення та вивчення кількісного вмісту флавоноїдів проводять, використовуючи метод **високоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ)** на хроматографі, який обладнаний діодноматричним детектором Shimadzu HPLC-system, ser. 20.

Для ідентифікації флаваноїдів і зокрема кверцетину використовують реакцію з розчином гідроксиду натрію (виникає жовто-оранжеве забарвлення). Забарвлення зумовлене перетворенням флаваноїду на халкон із розкриттям піранового циклу:



Інша кольорова реакція (ціанідінова проба) протікає при дії на флаваноїди й кверцетин порошком магнію чи цинку і концентрованої хлористоводневої кислоти у спиртовому середовищі (виникає червоне забарвлення). Ця реакція ґрунтується на утворенні пірилієвих солей при відновленні воднем флавоноїдів:



Флавоноїди містить у молекулі активні фенольні радикали та карбонильне угруповання, приймають участь у різноманітних метаболічних процесах, що обумовлює їх біологічну активність. До важливіших видів фармакологічної дії належать:

а) Р-вітамінна і сполучена з нею здатність пригнічувати окислення аскорбінової кислоти і адреналіну; тобто біофлавоноїди позитивно впливають на стан капілярних судин: підвищується стійкість капілярів, а також збільшується їх еластичність та пропускна здатність;

б) діуретична, яка притаманна як чистим флавоноїдам, так і ЛРС;

в) стимулююча серцеву активність і гіпотензивна (наприклад, *Crataegus*);

г) спазмолітична, між іншим на гладенькі м'язи кровоносних судин;

д) антиоксидантна, протирадіаційна.

Науковцями доведений також вплив флавоноїдів на травний тракт і печінку, противираzkова, протипухлинна, ранозагоювальна, маткова дія тощо. Має місце залежність фармакологічної дії від класу флавоноїдів. Так, характерною властивістю ізофлавонів є естрогенна дія. Катехіни виявляють в'язучу і протизапальну дію на слизові оболонки. Флавоїди викликають

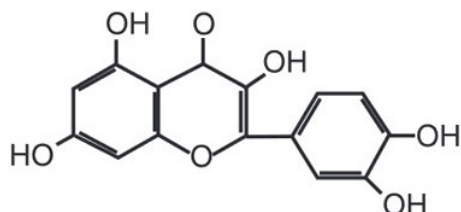
спазмолітичний, гіпотензивний, бактерицидний, матковий ефект. Спазмолітичну дію зумовлюють також халкони, флаванони (ліквіритин), флавоноли (квертецин, рутин), флавони (апігенін). Виявлено помірну протипухлину даю лейкоантоіанідинів: пеларгонідину, дельфінідину, ціанідину.

Всі природні флавоноїди мають малу токсичність, що поряд з широким спектром біологічної дії робить їх привабливими для створення нових фітопрепаратів [1; 2; 22; 23; 24].

## РОЗДІЛ 2

## КВЕРЦЕТИН; БІОЛОГІЧНА ДІЯ ТА ФАМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ, ПРЕПАРАТИ КВЕРЦЕТИНУ

## 2.1 Кверцетин

**Кверцетин****Quercetin**

Назва за міжнародною класифікацією (IUPAC) кверцетину – 3,3',4',5,7-пентагідроксифлаванон (або його синонім 3,3',4',5,7-пентагідрокси-2-фенілхром-мен-4-он).

Синоніми: софоретін, мелетін.

Брутто-формула:  $C_{15}H_{10}O_7$

Молекулярна маса: 302,24

Температура плавлення ( $^{\circ}C$ ): 313-314

Кверцетин є агліконом, у якого відсутній приєднаний цукор. Це жовтий або лимонно-жовтий дрібнокристалічний порошок без ніякого запаху. Розчинний у спирті та розчинах лугів, практично не розчинний чи мало розчинний у воді й хлороформі.

## 2.2 Шляхи отримання кверцетину

Кверцетин добувають з рутину шляхом його гідролізу (схема 1.2).

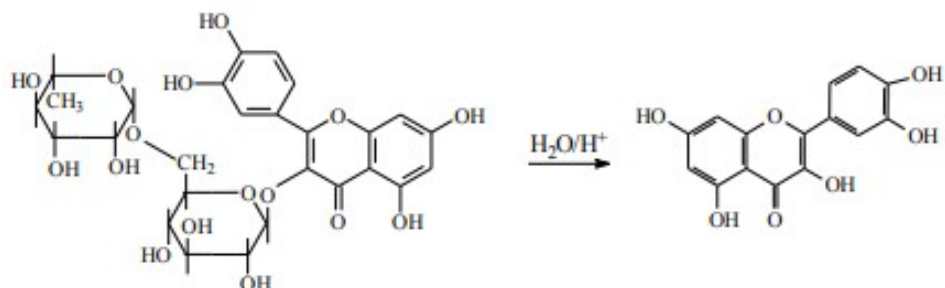


Схема 2.1 - Одержання кверцетину кислотним гідролізом рутину.

Найбільший вихід кверцетину спостерігається при гідролізі водневим розчином 5% сульфатної кислоти [4].

Також можливий спосіб добування кверцетину, що включає такі стадії: розчинення рутину у спиртовому розчині й гідроліз під дією каталізатора для отримання кверцетину, глюкози та рамнози. Цей новий недорогий "зелений" спосіб одержання кверцетину має ряд переваг, оскільки кислота у вихідному процесі замінюється каталізатором, відтак не утворюється відпрацьована кислотна рідина, а процес приготування є екологічно чистим для навколишнього середовища [5].

В літературі описано одержання кверцетину із подрібненої деревини модрина сибірської в умовах автогідролізу у присутності натрію сульфіту (схема 2.2) [6]:

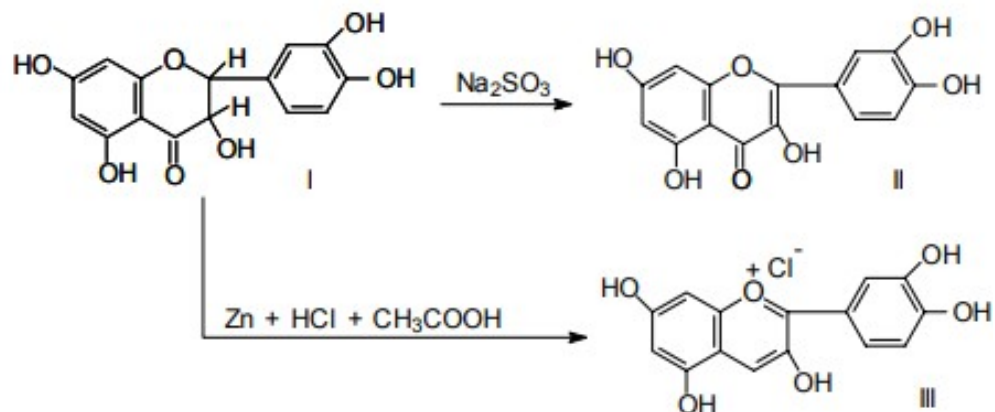


Схема 2.2 - Схема перетворення дигідрокверцетину (I) на кверцетин (II) чи цианідинхлорид (III).

### 2.3 Сучасні методи визначення кверцетину.

Крім загальних методів аналізу, характерних для усіх флавоноїдів, для підтвердження якості кверцетину науковій літературі описані також й інші сучасні методи.

Вченими розроблено селективний, швидкий та чутливий метод рідинної хроматографії з детекцією тандемною мас-спектрометрією для визначення кверцетину чи його метаболітів із різними фізико-хімічними властивостями. Зазначений метод дозволяє здійснювати водночас визначення кверцетину та



його метаболітів із невеликої проби біологічних зразків (50 мкл). Завдяки швидкій і підготовці зразків шляхом осадження білку метод було застосовано до аналізу зразків плазми, взятих у результаті фармакокінетичних досліджень [7].

Також створено чутливий, швидкий та надійний метод ультрависокоєфективної рідинної хроматографії-тандемної мас-спектрометрії (UHPLC-MS/MS) для одночасного виявлення кверцетину, куркуміну, тетрагідрокуркуміну та пеоніфлорину у плазмі піддослідних тварин за допомогою тинідазолу як внутрішнього стандарту (ІС). Для підготовчої обробки плазми використовували метод рідинно-рідинної екстракції етилацетатом. Рідиннохроматографічне розділення проводили на колонці C18 шляхом ізократичного елюювання із використанням ацетонітрилу та 0,1% водного розчину кислоти мурашиної (80:20, об/об) як рухомої фази зі швидкістю потоку 0,3 мл/хв [8].

Для якісного та кількісного аналізу кверцетину та рутину в суміші, а саме у модельних розчинах косметичних лосьонів, було розроблено методику хроматографічного аналізу (ТШХ). Доведено, що оптимальними проявниками для водних чи спиртових розчинів цих речовин є  $AlCl_3$  та  $ZrOCl_2$ . Підібрано елюент - систему розчинників бутанол : оцтова кислота : вода (4:1:5), рН 5,5 – 7,5. Зазначена методика визначення флавоноїдів дозволяє широко застосовувати її у косметичній а також харчовій промисловостях [9].

Для ідентифікації кверцетину в продуктах харчування (зелений чай, кава, яблука, виноградний сік, червоне вино) розроблено сорбенти на основі полімерів із молекулярним імпринтом (МІР) [10-13].

Також для виявлення кверцетину складі яблучного соку пропонується метод адсорбційної вольтамперометрії на катодно попередньо обробленому алмазному електроді, легованому бором [14].

#### 2.4 Фармакокінетика аглікону флаваноїдів кверцетину

Фармакокінетика, а також метаболізм флаваноїдів докладно досліджувалися впродовж останніх 15 років. Флаваноїди, зокрема й кверцетин, містяться в рослинах переважно у вигляді глікозидів, а не вільних агліконів. Всмоктування глікозидів відбувається у тонкому кишечнику. При пероральному введенні кожен флаваноїд характеризується різним ступенем всмоктування (0-60%). Період напіввиведення флаваноїдів триває від 2 до 28 годин. Показано, що для кверцетину саме глікозидна форма характеризується найбільшим ступенем всмоктування із тонкого кишечника. Всмоктування кверцетину може відбуватися двома паралельними шляхами. Одним є можливе його деглікозилювання й далі всмоктування шляхом дифузії. З іншого боку, є відомості про зв'язування глікозиду кверцетину з переносником глюкози, що дуже полегшує його перенесення крізь мембрану епітеліоцитів кишкового [15-17].

Всмоктування кверцетину дуже залежить від типу дієти, якої дотримується пацієнт. Всмоктування як аглікону, так і глікозидів кверцетину істотно підвищується за дієти, що містить 17% жирів, проти дієти, що містить лишень 3% жирів [18].

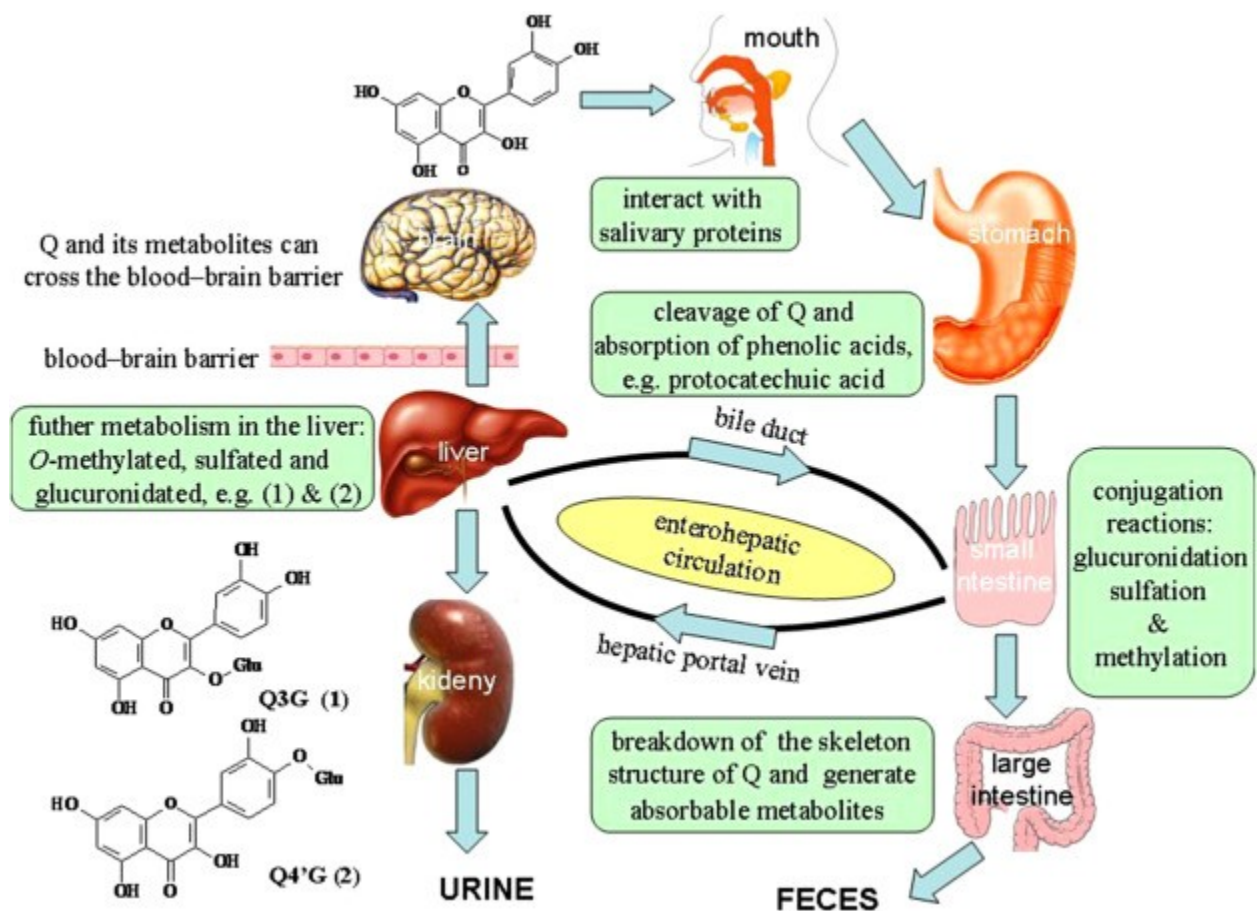
Дані про параметри фармакокінетики кверцетину при пероральному та внутрішньовенному введенні дуже суперечливі. Зокрема, період напіврозпаду кверцетину за умов внутрішньовенного введення складає  $24 \pm 07$  години. Об'єм розподілу в стаціонарному стані за внутрішньовенного введення становить  $92 \pm 6,2$  л.

Після всмоктування у тонкому кишечнику кверцетин крізь порталну систему транспортується до печінки, де проходить перша фаза його метаболізму. Під час другої фази метаболізму флаваноїди зазнають глюкуронідної або сульфатної кон'югації із утворенням глюкуронідів чи естерів сульфатної кислоти, а в ряді випадків – і О-метилування. Кверцетин та його метаболіти поширюються у різних тканинах організму. Доведено, що

домінантним плазмовим метаболітом кверцетину є кверцетин-3-глюкуронід. У плазмі кверцетин міцно зв'язується із альбуміном.

Багато досліджень вказують на те, що бромелаїн, протеолітичний фермент, який міститься у ананасі та інших тропічних рослинах, посилює абсорбцію кверцетину. Біологічні ефекти бромелаїну значною мірою подібні до ефектів кверцетину. Зокрема, бромелаїн, як і кверцетин, має антигістамінний та протизапальний ефект. Ці фактори обумовлюють суттєвий синергізм у дії кверцетину та бромелаїну, який вже знайшов своє клінічне застосування [19].

Кверцетин, що метаболізується в організмі людини (наприклад, у ротовій порожнині, тонкому кишковому, печінці, нирках), зазнає глюкуронізації, сульфатації чи метилювання. Під час приготування та зберігання харчових продуктів багато факторів, таких як температура, рН, іони металів, можуть вплинути на хімічну стабільність (включаючи окиснення та деградацію) кверцетину [20]:



## 2.5 Біологічні та фармакологічні властивості кверцетину

Кверцетин проявляє виражену антиоксидантну дію, що реактивує сульфгідрильні сполуки та аскорбінову кислоту, а також глутатіон і токоферолі, запобігає окисненню адреналіну в токсичний адренохром.

Кверцетин перешкоджає ушкоджуючій дії вільних радикалів, гальмує процеси перекисного окислення ліпідів клітинних мембран і ліпопротеїнів плазми крові, поліпшує внутрішньотканинне дихання. Також він є природним інгібітором гіалуронідази – ферменту, який підвищує проникність судинної стінки; проявляє капілярзахисну дію (зменшує проникність та ламкість капілярів); поліпшує мікроциркуляцію. Вплив кверцетину на рецепторний апарат тромбоцитів веде до зниження активності тромбоксанів, знижує тромбогенний потенціал кров'яних тілець.

Доклінічні та клінічні дослідження підтвердили наступ біологічні властивості кверцетину:

- зниження проникності капілярів та підсилення резистентності судинної стінки, розширення дрібних судин, зниження тонуусу гладенької мускулатури, спазмолітичну дію, гальмування передчасного старіння клітин за рахунок активації систем репарації ДНК та антиоксидантної протекції;
- підвищення тонуусу кровоносних судин (артерій, вен, капілярів), антиоксидантний та мембраностабілізуючий вплив на сполучну тканину судин, зниження їх проникності [21,22];
- блокування виробітку гістаміну а також серотоніну (які є медіаторами алергічного запалення), купірування набряків при сінній лихоманці й інших алергічних станах;
- протиатеросклеротичну ефект (ефективніший, ніж у вітаміну Е, який ліквідує потенційну загрозу гіперхолестеринемії для серцево-судинної системи, знижує інтенсивність накопичення ліпопротеїнів низької щільності на стінках судин; доведено, що адекватне надходження

кверцетину під час харчування (до 50 мг) значно знижує ризик виникнення судинних патологій);

- покращення функціонування міокарду за рахунок інтенсифікації енергетичного забезпечення кардіоміоцитів, антиоксидантного ефекту та поліпшення кровообігу; профілактики підвищення коагуляційного потенціалу крові; зниження ризику тромбоутворення; пригнічення синтезу тромбоксану; нормалізацію серцевого ритму;
- загальну нормалізацію кров'яного тиску при нейроциркуляторній дистонії, ішемічній хворобі серця, стенокардії [23,24];
- імуностимулюючий ефект (підвищує активність фагоцитів, Т- та В-лімфоцитів; активізує продукцію антитіл, що зменшує прояви вторинного імунодефіциту, захворюваність на ГРВІ; сприяє адаптації до гіпоксії дітей, які часто хворіють на респіраторні захворювання;
- інгібування ліпоксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти; пригнічення продукції лейкотрієнів, що призводить до зниження ризику розвитку запальних процесів;
- ранозагоювальний ефект при пародонтозі, ерозивно-виразкових захворюваннях слизової оболонки ротової порожнини та верхніх відділів травного шляху, гнійно-запальних патологіях м'яких тканин, спричинених прийомом НПЗЗ; вплив на процеси ремоделювання кісткової тканини;
- онкопротекторний ефект за рахунок зниження патологічного впливу кисневих радикалів на генетичний апарат. Тривалий прийом кверцетину попереджує загострення хронічних захворювань та виникнення гострих респіраторних ВІ, сприяє активації імунної системи. Проявляє потужний антистресовий ефект, сприяє розслабленню мускулатури бронхів. Крім того, лікування кверцетином поліпшує стійкість капілярів органів-мішеней до пошкоджувальної дії гіперглікемії та чутливість тканин до інсуліну у хворих на цукровий діабет [25-29].

Кверцетин випускається у вигляді жувальних таблеток, гранул, а також входить у склад комбінованих лікарських препаратів, таких як Корвітін,

Ліпофлавіон та ін. На теперішній час на ринку представлено різні дієтичні добавки з кверцетином (комплекс з кверцетином, лізоферрин, кверцетин, цинк+D+C+кверцетин, супер кверцетин та ін).

Показаннями до застосування кверцетину в медичній практиці є такі патологічні стани:

1. Патології серцево-судинної системи: під час комплексної терапії ішемічної хвороби серця (при нестабільній стенокардії), за гострої фази інфаркту міокарду (вводить внутрішньовенно крапельно задля попередження виникнення фібриляції та інших порушень ритму), гіпертонічної хвороби, атеросклерозу, тромбофлебиту; порушення проникності судин та патологій периферичного кровообігу.

2. Хвороби органів дихання: бронхолегеневі захворювання, у тому числі. гостра пневмонія, хронічне обструктивне захворювання легенів, бронхіальна астма (інфекційна форма) у стадії загострення.

3. Хвороби шлунково-кишкового тракту: довготривалі кишкові дисфункції невстановленої етіології; ерозивний та атрофічний гастрити; виразкова хвороба шлунка та дванадцятипалої кишки.

4. Патології ендокринної системи: захворювання, зумовлені порушеннями функцій залоз внутрішньої секреції (гіпофізу, підшлункової, щитовидної, надниркових залоз, статевих залоз, тощо).

5. Порушення обміну речовин.

6. Офтальмологічні захворювання: катаракта; ретинальні кровотечі; прогресуюча міопія.

7. Патологічно підвищена ламкість та проникність капілярів при гіпертонії, атеросклерозі, ревматизмі, гематологічних, інфекційних та інших захворюваннях; пошкодження капілярів при лікуванні антикоагулянтами, як допоміжний та профілактичний засіб при судинних ускладненнях атеросклерозу (інфаркт міокарду, інсульт, ретинопатія) [30,31].

## ВИСНОВКИ

Здійснено огляд літературних джерел що стосуються хімічних властивостей та методів аналізу флавоноїдів і зокрема кверцетину. Також проведено пошук літературних джерел що стосуються кверцетину, а саме його синтезу, методів аналізу біологічної ролі та фармакологічних властивостей. Встановлено, що за рахунок своєї активності, кверцетин належить до перспективних активних фармакологічних інгредієнтів (АФІ) для створення нових лікарських засобів, однак потребує поліпшення біофармацевтичної доступності.

### Розділ III

## РОЗРОБКА МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ КВЕРЦЕТИНУ У СКЛАДІ ТАБЛЕТОК ІЗ ГУСТИМ ЕКСТРАКТОМ КОРНЕПЛОДІВ МОРКВИ ПОСІВНОЇ ТА КВЕРЦЕТИНОМ МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ

На кафедрі заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету проводиться робота зі створення експериментального препарату для лікування захворювань системи кровообігу. Планується розробити таблетки, до складу яких увійдуть густий екстракт коренеплодів моркви посівної та тверда дисперсія аглікону з групи флаваноїдів кверцетину. Введення кверцетину до складу лікарської форми у вигляді твердої дисперсії дозволяє значно підвищити його біодоступність.

Пропонується такий склад лікарської форми:

<i>Твердої дисперсії кверцетину</i>	<i>0,63 г</i>
<i>(вміст кверцетину</i>	<i>0,025 г)</i>
<i>Екстракту моркви густого порошкового</i>	<i>0,3 г</i>
<i>Допоміжних речовин до отримання таблетки масою 1,00 г</i>	

Наступне впровадження лікарського засобу у промисловий випуск вимагає розробки контрольної-аналітичної нормативної документації, яка б регламентувала перевірку якості таблеток під час виробництва, транспортування і зберігання. РКЯ включає в себе вимоги з підтвердження ідентичності, перевірки дотримання фармако-технологічних параметрів - розпадання, стійкість до стирання, розчинність. Обов'язковою умовою є створення методик кількісного визначення АФІ. Розробка методики кількісного



визначення однієї з діючих речовин лікарського засобу — аглікону біофлаваноїдів кверцетину у складі таблеток з кверцетином та густим екстрактом коренеплодів моркви посівної і є матеріалом цієї кваліфікаційної роботи.

### 3.1 Спектрофотометричний метод кількісного визначення АФІ в лікарських засобах

Спектральні методи аналізу ґрунтуються на вибірковій абсорбції аналізованою речовиною електромагнітного випромінювання і служить для дослідження будови, ідентифікації та кількісного аналізу світлопоглинаючих сполук.

Під час проведення кількісного визначення речовини методом абсорбційної спектроскопії доцільно використовувати смуги поглинання, що відповідають таким умовам:

- 1) смуга має бути по можливості вільною від накладення смуг вбирання інших компонентів аналізованої системи;
- 2) обрана смуга мусить мати достатньо високий показник поглинання ( $\chi$ ) для індивідуальної аналізованої сполуки;
- 3) обрана смуга повинна бути достатньо широкою максимумі, що дозволяє мінімізувати апаратну помилку градування.

Такі смуги називають аналітичними.

Визначення, що пов'язані з вимірюванням поглинання світла, ґрунтуються на двох законах. Закон Бугера-Ламберта пов'язує поглинання з товщиною шару речовини, що поглинає й виражається співвідношенням:

$$\frac{J}{J_0} = 10^{-kb};$$

$$\lg \frac{J_0}{J} = kb,$$

де  $J_0$  – інтенсивність випромінювання, що потрапляє на речовину;

$J$  – інтенсивність випромінювання, яке пройшло крізь шар речовини;

$b$  – товщина шару речовини в сантиметрах;

$k$  – показник поглинання – величина зворотна такій товщині шару, проходячи крізь який, потік випромінювання послаблюється у 10 разів.

Закон Бера співвідносить поглинання із концентрацією поглинаючої речовини та, як правило, застосовується для розчинів:

$$k = \chi c,$$

де  $c$  – концентрація розчину;

$\chi$  - показник поглинання розчину, концентрація якого дорівнює 1;

У практичній роботі зазвичай застосовують об'єднаний закон Бугера-Ламберта-Бера у вигляді:

$$\lg \frac{J_0}{J} = \chi c b,$$

Величина  $\lg \frac{J_0}{J}$  називають оптичною густиною і позначають як  $A$ .

Для визначення концентрації розчинів спектрофотометричним шляхом застосовують закон Бугера-Ламберта-Бера у формі:

$$c = \frac{1}{\chi b} \cdot A$$

Інколи можуть спостерігатися відхилення від закону Бугера-Ламберта-Бера, пов'язані процесами дисоціації, асоціації чи комплексоутворення.

Показник поглинання  $\chi$  обраховують на підставі вимірної оптичної густини  $A$  для розчинів з відомою концентрацією за формулою:

$$\chi = \frac{1}{cb} \cdot A$$

Концентрація  $c$  може бути представлена в грамах на 100 мл розчину (%) або у моль/л. Залежно від цього визначають питомий чи молярний показник поглинання.

Молярний показник поглинання  $\epsilon$  є оптичною густиною одномолярного розчину речовини за товщини шару у 1 см; питомий показник поглинання ( $A_{1\text{см}}^{1\%}$ ) – оптичну густину розчину, що містить 1 г речовини в 100 мл розчину при такій самій товщині шару [1].

Основним недоліком визначення концентрації розчину за питомим показником поглинання є той факт, що різні спектрофотометри можуть давати певні відхилення величини поглинання для одного і того ж розчину стандартного зразка.

Такого недоліку позбавлений метод із використанням стандартного зразка речовини, що досліджується.

Розрахунок кількісного вмісту індивідуальної речовини у відсотках при застосуванні СЗ проводиться за формулою:

$$C = \frac{A_x \cdot C_0 \cdot b \cdot 100}{A_0 \cdot a},$$

де  $A_x$  – оптична густина випробовуваного розчину;

$A_0$  – оптична густина розчину стандартного зразка;

$C_0$  – концентрація розчину стандартного зразка, г/мл;

$b$  – розведення;

$a$  – маса наважки речовини, г.

Якщо кількісні вимірювання виконуються достатньо часто, може бути доцільним використати калібрувальний графік, отриманий для відповідного стандартного зразка. Такі графіки застосовують, коли для випробовуваної

речовини поглинання пропорційне концентрації в межах 75-125% від остаточної концентрації, використовуваної в кількісному визначенні

### 3.2 Дослідження спектральних характеристик розчинів кверцетину та модельної суміші, вибір аналітичної смуги вбирання

Запропонована для аналізу лікарська форма є складною фармако-технологічною системою, до пропису якої малорозчинний аглікон флаваноїдів кверцетин входить у вигляді твердою дисперсії у відповідних солюбілізуючих допоміжних речовинах. Це дозволяє значно збільшити його біодоступність, але дещо ускладнює аналіз. Густий екстракт коренеплодів моркви посівної також вводитьься до складу препарату посадженим на допоміжні речовини. Все це призводить до великої кількості допоміжних речовин у складі таблетки і середня маса таблетки становить 1 грам. Застосування кверцетину у вигляді твердої дисперсії у гідрофільній допоміжній речовині потребуватиме розчинення у воді (бо лишень там розчиняється основа) з наступним концентруванням речовини шляхом екстракції. Тому як розчинник для вивчення спектральних характеристик кверцетину ми обрали етилацетат.

#### *Приготування розчину стандартного зразка кверцетину:*

0,0250 г стандартного зразка кверцетину вмістили у мірну колбу ємністю 50 мл, додали 30 мл етилацетату, перемішали до розчинення, довели до позначки тим самим розчинником і перемішали. Аліквоту отриманого розчину перенесли у мірну колбу ємністю 20 мл, довели до позначки етилацетатом і ретельно перемішали.

Адсорбційний спектр досліджуваного розчину СЗ кверцетину знімали на спектрофотометрі Evolution 60 S в межах від 230 до 450 нм в кюветах з товщиною шару 10 мм. Як контрольний розчин використовували етилацетат.

Отримані результати представлені на рис. 3.1. Як видно з даних, наведених на рис. 3.1, абсорбційний спектр розчину кверцетину в етилацетаті має складний характер. В області 230 — 250 нм спостерігається “шум”, спричинений поглинанням розчинника — етилацетату. На ділянці 240 — 280 нм розташована інтегрована смуга поглинання, притаманна ароматичним молекулам. Вона має максимум при 255 нм і виразне плече в області 262 — 272 нм. На ділянці 280 — 320 нм спостерігається похиле плато, характерне для спектрів поглинання флаваноїдів. Широка, потужна смуга вбирання флаваноїдної хромафорної системи займає ділянку 320 — 400 нм і має інтенсивний але достатньо похилий максимум при 370 нм. Цей максимум знаходиться доволі далеко від поглинання ароматичних хромафорів і тому є достатньо специфічним, позбавленим впливу інших компонентів системи, він високоінтенсивний, водночас приріст і падіння поглинання в точці поблизу максимуму є незначним, що знижує вплив похибки градування спектрофотометрів. Таким чином смуга вбирання розчину кверцетину в етилацетаті має всі характеристики аналітичної смуги поглинання і може бути застосована для кількісного визначення кверцетину.

А

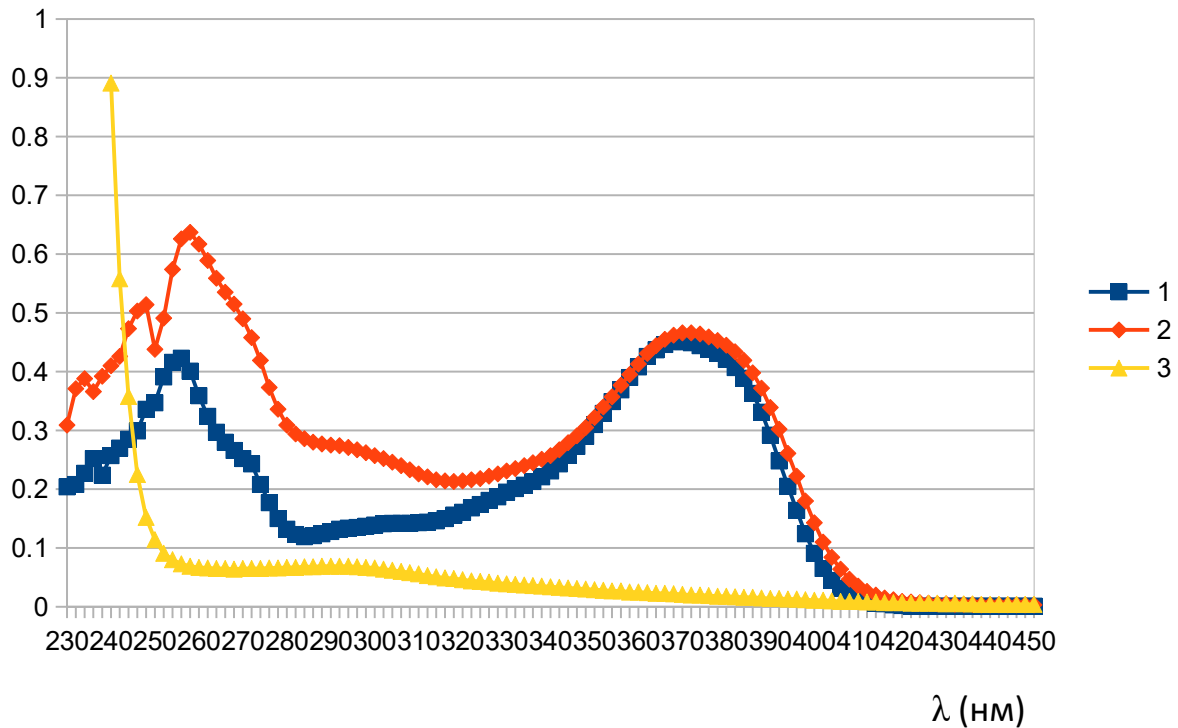


Рисунок 3.1 - Абсорбційні спектри розчину кверцетину в етилацетаті (1), етилацетатного екстракту водного розчину модельної суміші (2) та водного залишку розчину модельної суміші після екстракції кверцетину етилацетатом (3).

Для перевірки твердження про можливість проведення кількісного визначення кверцетину методом прямої однохвильової однокомпонентної абсорбційної спектрофотометрії етилацетатного розчину у смузі з  $\lambda_{\max} = 370$  нм ми дослідили модельну суміш, приготовлену для таблетування експериментальних таблеток.

Аналізована модельна суміш є дуже дрібнодисперсним порошком жовтого кольору, тому, сподіваючись на його дрібнодисперсність ми спробували проекстрагувати кверцетин безпосередньо з порошку. Наважку порошку проекстрагували при нагріванні етилацетатом і отриманий екстракт дослідили спектрофотометрично. Отриманий спектр нагадував спектр розчину

кверцетину в етилацетаті і також мав смугу вбирання з максимумом при 370 нм, але інтенсивність поглинання була дуже низькою. Результати експерименту можна пояснити тим, що для створення твердої дисперсії кверцетині використовуються допоміжні речовини, які є гідрофільними, добре розчиняються у воді але не розчиняються і навіть не набухають в етилацетаті. В розчин перейшли лишень частинки кверцетину, які знаходилися на поверхні твердої дисперсії; не дивлячись на дрібнодисперсність частинки твердої дисперсії не випустили в розчин, не віддали молекули кверцетину, які знаходилися в їх глибині.

Таким чином єдиним шляхом вивільнення кверцетину зі складу твердої дисперсії є її розчинення у воді.

#### ***Приготування досліджуваного екстракту кверцетину:***

0,0100 г порошку модельної суміші таблеток з кверцетином і густим екстрактом моркви посівної вмістили в конічну колбу ємністю 250 мл, додали 100,0 мл дистильованої води, нагрівали на водяному огрівнику і переміщували при температурі близько 60°C впродовж 15 хвилин. Після охолодження отриману суспензію профільтрували в ділільну лійку ємністю 250 мл, колбу і фільтр промили 10 мл етилацетату, який також вмістили в ділільну лійку і інтенсивно струшуючи впродовж 2 хв провели екстракцію. Суміші дали розшаруватися впродовж 15 хв відділили верхній шар білої стійкої емульсії і помістили його в ділільну лійку ємністю 50 мл. Екстракцію повторили ще тричі порціями по 5 мл, збираючи емульсію в ту саму ділільну лійку. Ділільну лійку з емульсією залишили розшаруватися на ніч. Після повного розшарування етилацетатний шар профільтрували через паперовий фільтр, що містив 2 г безводного натрію сульфатув мірну колбу ємністю 25 мл, довели через той самий фільтр етилацетатом до позначки і перемішали. 2,5 мл отриманого розчину вмістили до мірної колби ємністю 50 мл, довели до позначки етилацетатом і перемішали.

Адсорбційний спектр досліджуваного екстракту кверцетину знімали на спектрофотометрі Evolution 60 S в межах від 230 до 450 нм в кюветах з товщиною шару 10 мм. Як контрольний розчин використовували етилацетат.

Отримані результати представлені на рис. 3.1. Як видно з даних, наведених на рис. 3.1, абсорбційний спектр досліджуваного екстракту за характером дуже схожий зі спектром розчину СЗ кверцетину; певні відмінності спостерігаються на ділянці короткохвильової смуги поглинання. Оскільки ця смуга є сумою поглинання кверцетину і фенольних сполук густого екстракту коренеплодів моркви посівної, відбувається незначний батохромний зсув і максимум цієї смуги тепер припадає на 258 нм. У спектрі кверцетину максимум “ароматичної” смуги вбирання за своєю інтенсивністю дещо поступався “флаваноїдному” максимуму (0,423 проти 0,451). У спектрі екстракту сумарний “ароматичний” максимум за інтенсивністю вбирання в 1,37 рази перевищує “флаваноїдний” максимум. Плато в області 280 — 320 нм також значно збільшило інтенсивність поглинання, що може бути пояснено наявністю оксикоричних кислот у складі густого екстракту коренеплодів моркви посівної. Разом з тим, смуга вбирання, яка відповідає за поглинання електромагнітного випромінювання флаваноїдним хромофором молекули кверцетину не змінила свого положення, її максимум розташований так само при 370 нм, він є таким самим широким і похилим, що говорить про можливість кількісного визначення вмісту кверцетину у етилацетатному екстракті методом прямої однохвильової однокомпонентної спектрофотометрії з наступним перерахунком на вміст в одній таблетці за методом стандарту.

З метою перевірки повноти екстракції кверцетину ми дослідили абсорбційний спектр водного залишку. Адсорбційний спектр водного залишку після екстракції етилацетатом кверцетину з водного розчину модельної суміші порошку таблеток з твердою дисперсією кверцетину і густим екстрактом коренеплодів моркви посівної знімали на спектрофотометрі Evolution 60 S в межах від 230 до 450 нм в кюветах з товщиною шару 10 мм. Як контрольний



розчин використовували дистильовану воду. Отримані результати представлені на рисунку 3.1.

Як видно з даних, наведених на рисунку 3.1, водний залишок після екстракції етилацетатом кверцетину з водного розчину модельної суміші порошку таблеток з твердою дисперсією кверцетину і густим екстрактом коренеплодів моркви посівної не поглинає електромагнітне випромінювання на ділянці 245 — 450 нм, що підтверджує повноту екстракції кверцетину за запропонованою методикою.

### 3.3 Перевірка підпорядкування поглинання електромагнітного випромінювання розчинів кверцетину в етилацетаті закону світлопоглинання Бугера-Ламберта-Бера

Відомо, що одним з засадничих факторів, що зумовлюють можливість використання абсорбційної спектроскопії для кількісного визначення світловбираючої речовини є підпорядкованість абсорбції електромагнітного випромінювання законові Бугера-Ламберта-Бера. Справа у тім, що через ряд фізико-хімічних факторів, наприклад явище асоціації, поглинання світла речовиною може не залежати прямопропорційно від справжньої реальної концентрації розчину. Таке відхилення може призводити до реєстрації неправильних результатів кількісного визначення. Тому кількісне визначення проводять лише в межах таких концентрацій, де залежність між поглинанням та концентрацією є прямопропорційною.

Зазвичай перевірка підлягання законові Бугера-Ламберта-Бера полягає у побудові графіка залежності оптичної густини розчину, що досліджується, від концентрації в цьому розчині аналізованої речовини. Вирахований з отриманих даних показник поглинання ( $\varepsilon$  або  $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ ) при цьому має бути величиною постійною (трохи змінюючись від помилок у приготуванні та вимірюванні

розчину). За теорією такий графік мав би починатися з точки перетину осей і рівномірно зростати під певним кутом. Практично, залежно від речовини, найчастіше дуже малі чи великі концентрації розчинів показують відхилення від прямолінійної залежності між абсорбцією світла й концентрацією розчину, що знову ж таки, найкраще видно за відхиленням показника поглинання від середнього значення.

#### ***Приготування вихідного розчину:***

0,0250 г СЗ кверцетину вмістили в мірну колбу ємністю 50 мл, додали 30 мл етилацетату, перемішали до розчинення, довели до позначки тим самим розчинником і перемішали.

#### ***Приготування випробуваного розчину і побудова градуювального графіку:***

В мірну колбу ємністю 20 мл вміщували 0,1 мл, 0,2 мл, 0,3 мл, 0,4 мл, 0,5 мл вихідного розчину СЗ кверцетину, доводили до позначки етилацетатом і перемішували. Оптичну густину випробуваного розчину СЗ кверцетину вимірювали на спектрофотометрі Evolution 60 S за довжини хвилі 370 нм в кюветах з товщиною шару 10 мм. Як контрольний розчин використовували етилацетат.

За отриманими даними побудували графік залежності оптичної густини від концентрації розчину у відсотках, представлений на рис. 3.2, та розрахували питомі показники поглинання, наведені у таблиці 3.1.

A

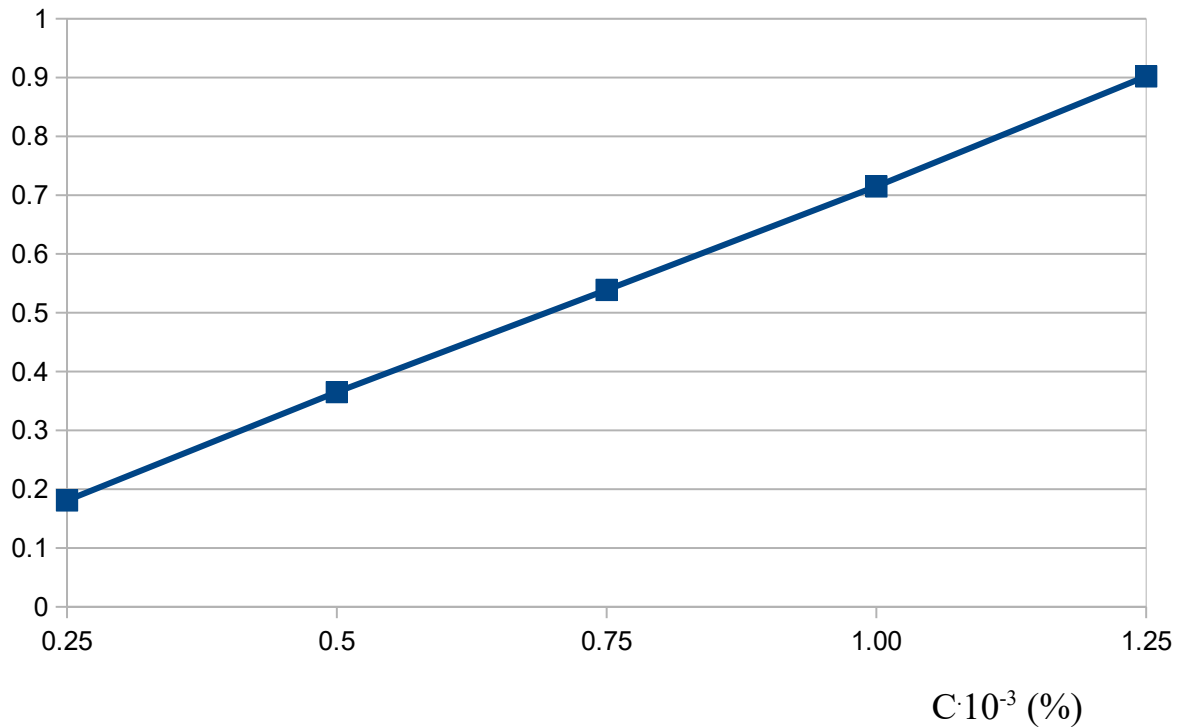


Рисунок 3.2 - Графік залежності оптичної густини розчинів кверцетину в етилацетаті від концентрації розчинів у відсотках.

**Залежність оптичної густини і питомого показника поглинання від концентрації розчинів кверцетину в етилацетаті у відсотках**

Таблиця 3.1

V, мл	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
$C \cdot 10^{-3}, \%$	0,25	0,50	0,75	1,00	1,25
A	0,181	0,365	0,539	0,715	0,902
$A_{1\text{см}}^{1\%}$	724	730	719	715	722

Як свідчать з дані рис. 3.2 і табл. 3.1 оптична густина етилацетатних розчинів кверцетину підпорядковується закономі Бугера-Ламберта-Бера на всьому діапазоні досліджених концентрацій від 0,25 до  $1,25 \cdot 10^{-3}$  відсотка. Питомий показник поглинання при цьому в середньому складає  $722 \pm 2,15$ .

### 3.4 Визначення вмісту кверцетину в модельній серії експериментальних таблеток

В результаті проведених досліджень пропонується така методика кількісного визначення вмісту кверцетину у таблетках із кверцетином та густим екстрактом екстрактом коренеплодів моркви посівної:

#### *Приготування досліджуваного екстракту -*

Близько 0,010 г порошку розтетрих модельних таблеток з кверцетином і густим екстрактом моркви посівної вміщали в конічну колбу ємністю 250 мл, додавали 100,0 мл дистильованої води, нагрівали на водяному огрівнику і перемішували при температурі близько 60°C впродовж 15 хвилин. Після охолодження отриману суспензію фільтрують крізь невеличкий паперовий фільтр у ділільну лійку ємністю 250 мл, колбу і фільтр промивають 10 мл етилацетату, який також вміщують у ділільну лійку та інтенсивно струшують впродовж 2 хв. Суміші дають розшаруватися впродовж 15 хв відділяють верхній шар білої стійкої емульсії і поміщають його в ділільну лійку ємністю 50 мл. Екстракцію повторюють ще тричі порціями по 5 мл, збираючи емульсію в ту саму ділільну лійку. Ділільну лійку з емульсією залишають розшаруватися до наступного дня. Після повного розшарування етилацетатний шар фільтрують крізь паперовий фільтр, що містить 2 г безводного натрію сульфатув мірну колбу ємністю 25 мл, доводять через той самий фільтр етилацетатом до позначки і перемішують. 2,5 мл отриманого розчину вміщують до мірної колби ємністю 50 мл, доводять до позначки етилацетатом і перемішують.

Оптичну густину досліджуваного екстракту кверцетину вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 370 нм в кюветах з товщиною шару 10 мм. Як контрольний розчин використовують етилацетат.

Вміст кверцетину в одній таблетці, в міліграмах, розраховують за формулою:

$$X_{\text{мг}} = \frac{A \cdot V_1 \cdot V_3 \cdot m_{\text{ст}} \cdot V_{2\text{ст}} \cdot m_{\text{сер}} \cdot 1000}{A_{\text{ст}} \cdot m_{\text{н}} \cdot V_2 \cdot V_{1\text{ст}} \cdot V_{3\text{ст}}}$$

де:  $A$  — оптична густина досліджуваного екстракту;

$A_{\text{ст}}$  — оптична густина розчину стандартного зразка;

$m_{\text{н}}$  — маса наважки порошку розтертих таблеток;

$m_{\text{ст}}$  — маса наважки стандартного зразка кверцетину;

$m_{\text{сер}}$  — середня маса таблетки;

$V_1$  — об'єм мірної колби, в яку збирали етилацетатні екстракти;

$V_2$  — об'єм аліквоти для приготування досліджуваного розчину;

$V_3$  — об'єм мірної колби для другого розведення;

$V_{1\text{ст}}$  — об'єм мірної колби для першого розведення стандартного зразка;

$V_{2\text{ст}}$  — об'єм аліквоти для приготування розчину стандартного зразка;

$V_{3\text{ст}}$  — об'єм мірної колби для другого розведення стандартного зразка.

3.5 Статистична характеристика розробленої методики кількісного визначення кверцетину у складі таблеток з кверцетином, та екстрактом коренеплодів моркви посівної

З метою отримання статистичної характеристики розробленої нами спектрофотометричної методики кількісного визначення кверцетину у складі таблеток з кверцетином, та густим екстрактом коренеплодів моркви посівної нами було проведено аналіз експериментальної серії таблеток із застосуванням розробленої методики. Результати проведеного експерименту представлено в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

№ п/п	1	2	3	4	5	6
$m_n$	0,1003	0,0978	0,0989	0,1006	0,0984	0,0995
A	0,367	0,352	0,341	0,524	0,387	0,358
X мг	25,08	24,68	23,65	26,34	25,12	24,66

**Примітки:**  $A_{cm} = 0,365$ ;  $m_{cm} = 0,0250$  г;  $m_{сер} = 1,000$ .

Отримані результати аналізу піддано статистичній обробці, результати якої наведено в таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

#### Метрологічні характеристики середнього результату

Знайдено кверцетину, мг	$X_{ср.}$ , мг	$S^2$	S	$P_1$ , %	t(p,f)	$\Delta X_{ср.}$	$\epsilon_{ср.}$ , %
25,08	24,92	0,764	0,87408	95	2,015	0,3745	1,503
24,68							
23,65							
26,34							

25,12							
24,66							

Примітки:

$X_{\text{ср.}}$ , г — середнє значення визначення;

$S^2$  - дисперсія;

$S$ , - стандартне відхилення (окремого визначення);

$P$  – надійність;

$t(P,f)$  – критерій Ст'юдента;

$\Delta X_{\text{ср}}$  – довірчий інтервал середнього визначення;

$\epsilon_{\text{ср}} \%$ - відносна невизначеність середнього визначення, %.

Аналіз даних, наведених у таблиці 3.3 показує, що середній вміст кверцетину в одній експериментальній таблетці становить  $24,92 \pm 0,3745$  мг. Невизначеність середнього результату складає 1,5 %.

## ВИСНОВКИ

1. Проведено огляд літератури з питань методів добування, способів ідентифікації, перевірки чистоти і визначення кількісного вмісту кверцетину. Розглянуто його фармакологічну активність, застосування у медичній практиці та лікарські препарати кверцетину, а також хімічний склад та біологічну активність моркви посівної. Встановлено, що кверцетин є перспективним активним фармацевтичним інгредієнтом для розробок лікарських засобів на його основі.

2. Досліджено абсорбційний спектр розчину кверцетину у етилацетаті. Встановлено, що спектр поглинання розчину кверцетину має широку, інтенсивну смугу вбирання з максимумом при 370 нм, яка може бути використана як аналітична смуга вбирання для кількісного визначення кверцетину методом однохвильової однокомпонентної абсорбційної спектрофотометрії.

3. Розроблено методику пробопідготовки, яка дозволяє вилучити кверцетин із твердої дисперсії, у вигляді якої він вводиться до складу таблеток. Екстракція біологічно активних речовин відбувається повністю, оскільки водний залишок після екстракції не поглинає електромагнітного випромінювання на ділянці 245 — 450 нм.

4. Вивчення абсорбційного спектру етилацетатного екстракту розчину модельної суміші порошку таблеток з кверцетином та густим екстрактом коренеплодів моркви посівної показало, що хоча спектр має певні відмінності на коротко- і середньохвильовій ділянках де поглинають фенольні сполуки, зокрема і оксикоричні кислоти, довгохвильова смуга змін не зазнає, що дозволяє проводити кількісне визначення кверцетину у складі таблеток за поглинанням у максимумі при 370 нм.

5. Вивчення підпорядкування електромагнітного випромінювання основному законові світлопоглинання показало, що оптична густина етилацетатних розчинів кверцетину підпорядковується законові Бугера-



Ламберта-Бера на всьому діапазоні досліджених концентрацій від 0,25 до  $1,25 \cdot 10^{-3}$  відсотка. Питомий показник поглинання при цьому в середньому складає  $722 \pm 2,15$ .

6. Розроблено методику кількісного визначення вмісту кверцетину у складі таблеток з кверцетином і густим екстрактом коренеплодів моркви посівної методом однокомпонентної однохвильової абсорбційної спектрофотометрії з розрахунком за методом стандарту.

7. За розробленою методикою проведено кількісне визначення вмісту кверцетину у складі експериментальної серії таблеток. Статистична обробка результатів проведеного визначення показала, що середній вміст кверцетину в одній експериментальній таблетці становить  $24,92 \pm 0,3745$  мг. Методика є достатньо точною - невизначеність середнього результату складає 1,5 %.

8. Розроблена методика буде використана під час створення МКЯ на таблетки з кверцетином і густим екстрактом коренеплодів моркви посівної.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Фармацевтична хімія : підручник для студ. вищих фармацев. навч. закладів і фармацев. ф-тів вищих мед. навч. закладів III–IV рівнів акред. / за заг. ред. проф. Безуглого П. О. Вид. 3-тє, випр., доопрац. Вінниця : Нова Книга, 2017. 456 с.
2. Беликов В.Г. Фармацевтическая химия : учебное пособие / В. Г. Беликов. изд. 2-е. Москва : Медпресс-информ. 2008. С. 395-397.
3. Арзамасцев А.П. Фармацевтическая химия : учебное пособие для вузов / под ред. А.П. Арзамасцева. Москва, 2004. 662 с.
4. Каримова Э. Р., Балтина Л. А., Абдуллин М. И. Получение кверцетина кислотным гидролизом рутина // Вестник Башкирского университета. 2016. Т. 21. №1. С. 78-80.
5. Витамины и витаминоподобные вещества.  
<https://biopax.ru/articles/kvertsetin/>
6. Кузнецов Б.Н., Левданский В.А., Кузнецова С.А., Полежаева Н.И., Левданский А.В. Получение кверцетина из древесины лиственницы сибирской в условиях «взрывного» автогидролиза в присутствии сернистокислого натрия // Химия растительного сырья. 2003. №4. С. 37–41.
7. Pilařová V., Plachká K., Chrenková L. et al. Simultaneous determination of quercetin and its metabolites in rat plasma by using ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry // Talanta. 2018. Vol. 185. P. 71-79.
8. Yu W., Wen D., Cai D. et al. Simultaneous determination of curcumin, tetrahydrocurcumin, quercetin, and paeoniflorin by UHPLC-MS/MS in rat plasma and its application to a pharmacokinetic study // Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. 2019. Vol. 172. P. 58-66.
9. Дуда О., Степневська Я., Вашкевич О. Ідентифікація та кількісне визначення біофлавоноїдів методами паперової та тонко-шарової

- хроматографії // Хімія та хімічні технології : матеріали II Міжнародної конференції молодих вчених ССТ-2011, 24–26 листопада 2011 року, Україна, Львів / Національний університет "Львівська політехніка". Львів : Видавництво Львівської політехніки, 2011. С. 120–121.
10. Dramou P., Itatahine A., Fizir M. et al. Preparation of novel molecularly imprinted magnetic graphene oxide and their application for quercetin determination // *Journal of Chromatography B*. 2019. Vol. 1124. P. 273-283.
  11. Cheng Y., Nie J., Li J. et al. Synthesis and characterization of core-shell magnetic molecularly imprinted polymers for selective recognition and determination of quercetin in apple samples // *Food chemistry*. 2019. Vol. 287. P. 100-106.
  12. Rahimi M., Bahar S., Heydari R., Amininasab S. M. Determination of quercetin using a molecularly imprinted polymer as solid-phase microextraction sorbent and high-performance liquid chromatography // *Microchemical Journal*. 2019. Vol. 148. P. 433-441.
  13. Xu S., Chen L., Ma L. Fluorometric determination of quercetin by using graphitic carbon nitride nanoparticles modified with a molecularly imprinted polymer // *Microchimica Acta*. 2018. Vol. 185(10). P. 1-9.
  14. Abdullah A. A., Yardım Y., Şentürk Z. The performance of cathodically pretreated boron-doped diamond electrode in cationic surfactant media for enhancing the adsorptive stripping voltammetric determination of catechol-containing flavonoid quercetin in apple juice // *Talanta*. 2018. Vol. 187. P. 156-164.
  15. Роговский В.С., Матюшин А.И., Шимановский Н.Л. и др. Антипролиферативная и антиоксидантная активность новых производных дигидрокверцетина // *Эксперим. и клин. фармакология*. 2010. Т. 73, №9. С. 39–42.
  16. Otsuka H. Histochemical and functional characteristics of metachromatic cells in the nasal epithelium in allergic rhinitis. Studies of nasal scrapings and their dispersed cells // *J. Allergy Clin. Immunol.* 1995. Vol. 96. P. 528–536.

17. Day A.J., Canada F.J., Diaz J.C. et al. Dietary flavonoid and isoflavonoid glucosides are hydrolyzed by the lactase site of lactase phlorizine hydrolase // FEBS Lett. 2000. Vol. 468. P. 166–170.
18. Lesser S., Cermak R., Wolfram S. Bioavailability of quercetin in pigs is influenced by the dietary fat content // J. Nutr. 2004. Vol. 134 (6). P. 1508–1511.
19. Роговский В.С., Матюшин А.И., Шимановский Н.Л. Перспективы применения препаратов кверцетина для профилактики и лечения атеросклероза // Гострі та невідкладні стани у практиці лікаря. 2014. №2-3(39).
20. Wang W., Sun C., Mao L. et al. The biological activities, chemical stability, metabolism and delivery systems of quercetin: A review // Trends in Food Science & Technology. 2016. Vol. 56. P. 21-38.
21. Baghel S. S., Shrivastava N., Baghel R. S., Agrawal P., Rajput S. A review of quercetin: antioxidant and anticancer properties // World J Pharm Pharmaceutical Sci. 2012. Vol. 1(1). P. 146-160.
22. Bentz A.B. A Review of quercetin: chemistry, antioxidant properties, and bioavailability // Journal of young investigators. 2017.
23. Larson A. J., Symons J. D., Jalili T. Therapeutic potential of quercetin to decrease blood pressure: review of efficacy and mechanisms // Advances in nutrition. 2012. Vol. 3(1). P. 39-46.
24. Islam M. S., Quispe C., Hossain R. et al. Neuropharmacological effects of quercetin: a literature-based review // Frontiers in Pharmacology. 2021. Vol. 12.
25. Rauf A., Imran M., Khan I. A. et al. Anticancer potential of quercetin: A comprehensive review // Phytotherapy Research. 2018. Vol.32(11). P. 2109-2130.
26. Maalik A., Khan F. A., Mumtaz A. et al. Pharmacological applications of quercetin and its derivatives: a short review // Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 2014. Vol. 13(9). P. 1561-1566.

27. Флавоноид кверцетин – мощное оружие против комплекса болезней цивилизации. Природная медицина 2013. №1 (13). С. 6-9.
28. Nathiya S., Durga M., Devasena T. Quercetin, encapsulated quercetin and its application—A review // *Analgesia*. 2014. Vol. 10(11). P. 20-26.
29. Bule M., Abdurahman A., Nikfar S., Abdollahi M., Amini M. Antidiabetic effect of quercetin: A systematic review and meta-analysis of animal studies // *Food and chemical toxicology*. 2019. Vol. 125. P. 494-502.
30. <https://www.liveinternet.ru/users/3218222/post226606013>
31. Компендіум. <https://compendium.com.ua/info/173208/kvertin/>
32. Ковалевська І. В., Рубан О. А. Сучасні напрямки підвищення біодоступності активних фармацевтичних інгредієнтів : метод. рек. Харків : НФаУ, 2018. 36 с.
33. Ковалевська І. В., Рубан О. А. Тверді дисперсії у технології лікарських засобів : метод. рек. Харків : НФаУ, 2018. 34 с.
34. Флавоноїди.  
<https://cnc.nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2020/03/%D0%A4%D0%BB%D0%B0%D0%B2%D0%BE%D0%BD%D0%BE%D1%97%D0%B4%D0%B8.pdf>
35. Настанова з клінічних досліджень. Лікарські засоби. Дослідження біодоступності та біоеквівалентності (Настанова 42–7.1:2005). Київ : Міністерство охорони здоров'я України, 2005.
36. Applications of solid dispersions / B. Yadav et al. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2015. Vol. 7 (2). P. 965–978.
37. Arunachalam A., Kathikeyan M., Konam K. Solid dispersion: a Review. *Curr Pharm Re*. 2010. Vol. 1. P. 82–90.
38. Andrews G. P., AbuDiak O. A., Jones D. S. Physicochemical characterization of hot melt extruded bicalutamide-polyvinylpyrrolidone solid dispersions. *J Pharm Sci*. 2010. Vol. 99. P. 1322–35.
39. Фармацевтична енциклопедія.  
<https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/2140/tverdi-dispersni>

40. LaFontaine J. S., McGinity J. W., Williams R. O. Challenges and Strategies in Thermal Processing of Amorphous Solid Dispersions: A Review. *AAPS PharmSciTech*. 2016. Vol. 17 (1). P. 43–55. doi:10.1208/s12249-015-0393-y
41. Фармацевтичний аналіз : навч. посіб. для студ. вищ. фармац. навч. закл. / П. О. Безуглий, В. А. Георгіянц, І. С. Гриценко та ін.; за заг. ред. В. А. Георгіянц. Харків : НФаУ : Золоті сторінки, 2013. 552 с.
42. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Х. : Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 3. 732 с.

**Національний фармацевтичний університет**

Факультет фармацевтичний

Кафедра фармацевтичної хімії

Ступінь вищої освіти другий магістерський

Спеціальність 226 Фармація, промислова фармація

Освітня програма Фармація

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

**Завідувачка кафедри  
фармацевтичної хімії**

\_\_\_\_\_

Вікторія ГЕОРГІЯНЦ

“24” серпня 2022 року

**ЗАВДАННЯ**

**НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ**

**Аліни МАКОВЕЦЬКОЇ**

1. Тема кваліфікаційної роботи: «Розробка методики кількісного визначення кверцетину у складі таблеток з кверцетином та густим екстрактом коренеплодів моркви посівної», керівник кваліфікаційної роботи: Володимир ГРУДЬКО, к.фарм.н., доцент,

затверджений наказом НФаУ від “01 \_\_\_\_\_” \_\_\_\_\_ листопада 2022 року № 239

2. Строк подання здобувачем вищої освіти кваліфікаційної роботи: грудень 2021 р.

3. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: кверцетин, загальна характеристика та методи аналізу; шляхи отримання, сучасні методи аналізу та фармакологічні властивості кверцетину.

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): розглянути та узагальнити дані наукової літератури щодо фізико-хімічних властивостей та методів аналізу, характерних для кверцетину; узагальнити дані наукової літератури щодо способів синтезу, фармацевтичних та фармакологічних властивостей кверцетину; вивчити спектральні характеристики розчинів кверцетину, підібрати аналітичну смугу вбирання; визначити границі підпорядкування світлопоглинання розчинів закону Бугера-Ламберта-Бера; вивчити вплив допоміжних речовин, на спектральні характеристики розчинів, розробити методику кількісного визначення кверцетину у складі таблеток.

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень): 3 таблиці, 8 рисунків, 2 схеми.

6. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи:

Розділ	Ім'я, ПРІЗВИЩЕ, посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	Володимир ГРУДЬКО, доцент закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії		
2	Володимир ГРУДЬКО, доцент закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії		
3	Володимир ГРУДЬКО, доцент закладу		



	вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії		
--	---	--	--

7. Дата видачі завдання: 24 серпня 2022 року

### КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів кваліфікаційної роботи	Примітка
1	Узагальнення літературних джерел щодо методів добування, аналізу, фармакологічної активності та застосування у медицині кверцетину. Написання огляду літератури	Вересень 2022	<b>виконано</b>
2	Дослідження спектральних характеристик кверцетину і водорозчинних компонентів екстракту коренеплодів моркви посівної, вибір аналітичної смуги вбирання	Жовтень 2022	<b>виконано</b>
3	Здійснення експериментальної частини, написання 3 розділу	Листопад 2022	<b>виконано</b>
4	Написання висновків та оформлення кваліфікаційної роботи	Грудень 2022	<b>виконано</b>

Здобувач вищої освіти

\_\_\_\_\_ Аліна МАКОВЕЦЬКА

Керівник кваліфікаційної роботи

\_\_\_\_\_ Володимир ГРУДЬКО

**ВИТЯГ З НАКАЗУ № 239**  
**по Національному фармацевтичному університету**  
**від 01 листопада 2022 року**

Затвердити тему, керівника та рецензента кваліфікаційної роботи здобувачу вищої освіти заочної форми навчання факультету медико-фармацевтичних технологій НФаУ 2023 року випуску:

№ з/п	Прізвище, ім'я по батькові здобувача вищої освіти	Тема кваліфікаційної роботи (українською мовою)	Тема кваліфікаційної роботи (англійською мовою)	Керівник кваліфікаційної роботи	Рецензент кваліфікаційної роботи
1.	Маковецька Аліна Володимирівна	Розробка методики кількісного визначення кверцетину у складі таблеток з кверцетином та густим екстрактом коренеплодів моркви посівної.	Development of the methodology for the quantitative determination of quercetin as part of tablets with quercetin and a thick extract of carrot root crops	доц. Грудько В.О.	доц. Подольській І.М.

**ПІДСТАВА:** службова записка завідувача кафедри про затвердження теми кваліфікаційної роботи, керівника та рецензента.

З оригіналом згідно:

Декан факультету медико-фармацевтичних технологій  О.І. Набока



**ВИСНОВОК**

**Комісії з академічної доброчесності про проведену експертизу  
щодо академічного плагіату у кваліфікаційній роботі  
здобувача вищої освіти**

№ 111351 від «3» лютого 2023 р.

Проаналізувавши випускну кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти заочної форми навчання Маковецької Аліни Володимирівни, 3 курсу, \_\_\_\_\_ групи, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, на тему: «Розробка методики кількісного визначення кверцетину у складі таблеток з кверцетином та густим екстрактом коренеплодів моркви посівної/ Development of the methodology for the quantitative determination of quercetin as part of tablets with quercetin and a thick extract of carrot root crops», Комісія з академічної доброчесності дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (компіляції).

**Голова комісії,  
професор**



**Інна ВЛАДИМИРОВА**

**7%**

**21%**

*Φ A 2.2.1-32-353*

**ВІДГУК**

**наукового керівника на кваліфікаційну роботу другого (магістерського) ступеня вищої освіти спеціальності 226 Фармація, промислова фармація**

**Аліни МАКОВЕЦЬКОЇ**

**на тему: «Розробка методики кількісного визначення кверцетину у складі таблеток з кверцетином та густим екстрактом коренеплодів моркви посівної»**

**Актуальність теми.** Сучасні лікарські засоби відрізняються наявністю новітніх систем доставки активного фармацевтичного інгредієнту, зокрема твердих дисперсій, які мають ряд переваг, таких як підвищення біодоступності, прискорення фармакологічного ефекту, зменшення побічних дій та ін., але можуть ускладнювати фармацевтичний аналіз препарату. Тому, розробка методики визначення одного з інгредієнтів — кверцетину, введеного у препарат у складі новоствореної дисперсії є актуальною темою даної кваліфікаційної роботи.

**Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість.** Отримані результати дослідження будуть використані при розробці МКЯ на таблетки з кверцетином та густим екстрактом коренеплодів моркви посівної.

**Оцінка роботи.** Робота виконана на сучасному рівні. Використані здобувачем вищої освіти методи досліджень відповідають поставленим завданням і сучасним вимогам. Об'єм експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних дозволили Аліні Маковецькій вирішити всі поставлені перед нею задачі. Кваліфікаційна робота викладена послідовно, грамотно, висновки сформульовані коректно і цілком логічно витікають зі змісту роботи.

**Загальний висновок та рекомендації про допуск до захисту.** Кваліфікаційна робота Аліни МАКОВЕЦЬКОЇ може бути рекомендована до захисту в Екзаменаційній комісії НФаУ.

Науковий керівник

\_\_\_\_\_ Володимир ГРУДЬКО

07 грудня 2022 р.

***Ф А 2.2.1-32-356***

**РЕЦЕНЗІЯ**

**на кваліфікаційну роботу другого (магістерського) ступеня вищої освіти спеціальності 226 Фармація, промислова фармація**

**Аліни МАКОВЕЦЬКОЇ**

**на тему: «Розробка методики кількісного визначення кверцетину у складі таблеток з кверцетином та густим екстрактом коренеплодів моркви посівної»**

**Актуальність теми.** Розробка нових лікарських засобів, удосконалення існуючих препаратів є актуальною тематикою. Дана кваліфікаційна робота висвітлює міжкафедральну співпрацю, а саме результати розробки методики кількісного визначення кверцетину у складі таблеток з густим екстрактом коренеплодів моркви посівної, що буде використано для подальшої розробки МКЯ на препарат при впровадженні у виробництво.

**Теоретичний рівень роботи.** Кваліфікаційна робота виконана на високому теоретичному рівні із застосуванням сучасних теоретичних підходів до аналізу сучасної наукової літератури та сучасних фізико-хімічних методів аналізу для проведення експериментальних досліджень досліджуваної речовини.

**Пропозиції автора по темі дослідження.** Аліна МАКОВЕЦЬКА здійснила огляд літератури щодо загальної характеристики кверцетину, і запропонувала використати пряму спектрофотометрію етилацетатного екстракту для кількісного визначення кверцетину у складі таблеток.

**Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість.** Розроблена методика кількісного визначення кверцетину буде використана при складанні МКЯ на аналізовані таблетки.

**Недоліки роботи.** Принципових зауважень щодо змісту роботи немає.

**Загальний висновок і оцінка роботи.** Об'єм проведених теоретичних та експериментальних досліджень, а також сучасні методи, що застосовуються для контролю якості АФІ дозволили Аліні МАКОВЕЦЬКІЙ вирішити всі поставлені перед нею завдання. Рецензована робота відповідає вимогам до кваліфікаційних робіт магістерського ступеня. Кваліфікаційна робота Аліни МАКОВЕЦЬКОЇ може бути рекомендована до захисту в Екзаменаційній комісії НФаУ.

Рецензент  
ПОДОЛЬСЬКИЙ

доц. Ілля

14 грудня 2022 р.

**Ф А2.2.1-38-287**

**ВИТЯГ З ПРОТОКОЛУ № 6**



**засідання кафедри фармацевтичної хімії  
Національного фармацевтичного університету**

від 20 грудня 2022 р.

**ПРИСУТНІ:**

Георгіянець В.А. зав.каф., проф., Власов С.В. проф., Абу Шарк Амжад Ібрагим М. доц., Бевз Н.Ю. доц., Гарна Н.В. доц., Грудько В.О. доц., Головченко О.С. доц., Горохова О.В. доц., Гриненко В.В. доц., Колісник О.В. доц., Сидоренко Л.В. доц., Северіна А.І. доц., Григорів Г.В. асис.


**ПОРЯДОК ДЕННИЙ:** заслухати звіт про стан виконання кваліфікаційних робіт.

**СЛУХАЛИ:** доповідь здобувача вищої освіти Аліни МАКОВЕЦЬКОЇ студентки факультету медико-фармацевтичних технологій на тему «Розробка методики кількісного визначення кверцетину у складі таблеток з кверцетином та густим екстрактом коренеплодів *Моркви посівної*», керівник доцент закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії, к.ф.н. Володимир ГРУДЬКО.

**УХВАЛИЛИ:** рекомендувати кваліфікаційну роботу Аліни МАКОВЕЦЬКОЇ до офіційного захисту в ЕК.

**Голова**

Зав. кафедри, доктор фарм. наук, проф.



(підпис)

Вікторія ГЕОРГІЯНЦ

**Секретар**

канд. фарм. наук, доц.



Олена КОЛІСНИК

**Ф А 2.2.1-32-042**

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**ПОДАННЯ**  
**ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ**  
**ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ**

Направляється здобувач вищої освіти Аліна МАКОВЕЦЬКА до захисту кваліфікаційної роботи

за галузю знань 22 Охорона здоров'я

спеціальністю 226 Фармація

освітньою програмою Фармація

на тему: «Розробка методики кількісного визначення кверцетину у складі таблеток з кверцетином та густим екстрактом коренеплодів моркви посівної»

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету \_\_\_\_\_ / Ольга НАБОКА /

**Висновок керівника кваліфікаційної роботи**

Здобувач вищої освіти Аліна МАКОВЕЦЬКА виконала роботу на сучасному рівні. За період виконання кваліфікаційної роботи проявила високий рівень теоретичної підготовки. Протягом експериментальних досліджень продемонструвала якісні практичні навички з виконання спектрофотометричного методу аналізу. Кваліфікаційна робота викладена послідовно, грамотно, висновки сформульовані коректно і цілком логічно витікають зі змісту роботи. Кваліфікаційна робота Аліни МАКОВЕЦЬКОЇ може бути рекомендована до захисту в Експериментальній комісії.

Керівник кваліфікаційної роботи

Володимир ГРУДЬКО

07 грудня 2022 року

### **Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу**

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Аліна МАКОВЕЦЬКА допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Завідувачка кафедри фармацевтичної хімії

Вікторія ГЕОРГІЯНЦ

20 грудня 2022 року

Кваліфікаційну роботу захищено

у Екзаменаційній комісії

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2023 р.

З оцінкою \_\_\_\_\_

Голова Екзаменаційної комісії,

доктор фармацевтичних наук, професор

\_\_\_\_\_ /Олег ШПИЧАК/