

ФАРМАКОГНОСТИЧНІ, ФІТОХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 615.322:(582.684.1+582.998.3).014.24.074

Т. А. ШОСТАК¹, Т. Г. КАЛІНІЮК¹, д-р фарм. наук, проф.,

Л. В. ВРОНСЬКА², канд. хім. наук, доцент

¹ Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

² Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ФЛАВОНОЇДІВ КОМПЛЕКСНОГО ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ ТРАВИ ЗВІРОБОЮ ТА КВІТОК НАГІДОК

Ключові слова: трава звіробою, квітки нагідок, комплексний густий екстракт, флавоноїди, ідентифікація, кількісне визначення

T. A. SHOSTAK¹, T. G. KALYNIUK¹, L. V. VRONSKA²

¹ Danylo Halytsky Lviv National Medical University

² Gorbachevsky Ternopil State Medical University

IDENTIFICATION AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE FLAVONOIDS OF THE COMPLEX DENSE EXTRACT OF ST. JOHN'S WORT HERB AND POT MARIGOLD FLOWERS

Key words: herb of St. John's wort, pot marigold flowers, complex dense extract, flavonoids, identification, quantitative determination

До основних завдань сучасної фармацевтичної науки належить пошук рослин, які можуть бути джерелом біологічно активних речовин (БАР) для подальшого розроблення ефективних лікарських засобів (ЛЗ) на їх основі. Це стосується і рослин, які мають багатовікову історію використання у народній медицині [1]. Саме до таких рослин належать звіробій звичайний (*Hypericum perforatum*) та нагідки лікарські (*Calendula officinalis*).

Звіробій звичайний – багаторічна трав'яниста рослина родини звіробійних (клузієві). Лікувальні властивості трави звіробою пояснюються складом БАР. У лікарській рослинній сировині (ЛРС) є багато флавоноїдів (до 2,49%), серед яких гіперозид, мірицетин, рутин, кверцетин; а також каротин та аскорбінова кислота, які сприяють регенерації тканин, у тому числі слизової оболонки порожнини рота і шкіри. Трава вміщує також ефірну олію (понад 0,1%), вітаміни, дубильні (до 10%) та смолисті речовини (до 17%), які виявляють виражену в'яжучу, антимікробну і протизапальну дію [2–5].

Нагідки лікарські – однорічна, трав'яниста рослина родини айстрових. Фармакологічна дія ЛРС зумовлена наявністю у її складі каротиноїдів (до 3%), ефірної олії (до 0,12%), дубильних (до 7%) та смолистих (до 4%) речовин, аскорбінової кислоти, флавоноїдів (0,33–0,88%). Основними представниками флавоноїдів у квітках нагідок є глікозиди ізорамнетину (0,45%) – ізорамнетин-3-рутинорамнозид, ізорамнетин-3-рутинозид, ізорамнетин-3-глюкозид, які мають широкий спектр біологічної активності, зокрема протизапальну, в'яжучу та ранозагоювальну дію [6].

Таким чином, враховуючи дані літератури щодо біологічної активності флавоноїдів трави звіробою і квіток нагідок та національні фармакопейні вимоги щодо стандартизації цих видів ЛРС, саме флавоноїди слід обрати ідентифікаційними маркерами комплексного густого екстракту цих видів ЛРС [7, 8].

Мета дослідження – вивчення якісного складу флавоноїдів комплексного густого екстракту (КГЕ) трави звіробою та квіток нагідок; розроблення методики визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів в екстракті; вибір ідентифікаційних маркерів і кількісного критерію якості комплексного густого екстракту.

© Колектив авторів, 2017

Матеріали та методи дослідження

Об'єктом дослідження є склад флавоноїдів КГЕ трави звіробою та квіток нагідок (1:10).

Для вивчення якісного складу флавоноїдів і гідроксикоричних кислот та визначення кількісного вмісту флавоноїдів у КГЕ використано тонкошарову хроматографію (ТШХ) та метод абсорбційної спектрофотометрії відповідно.

У дослідженнях методом ТШХ застосовували хроматографічні пластинки Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck, Німеччина), хроматографічну камеру САМАГ, прилад для нанесення проб Linomat 5 (САМАГ, Швейцарія), лампу для перегляду хроматограм в ультрафіолетовому світлі САМАГ. Спектрофотометричні вимірювання здійснено з використанням спектрометра Lambda 25 (Perkin Elmer, США).

Під час вивчення якісного складу флавоноїдів КГЕ використовували стандартні зразки речовин: рутин (Sigma), кверцетин (Sigma-Aldrich), хлорогенову (Sigma-Aldrich) та кофейну кислоти (Sigma), розчини яких готували на метанолі шляхом розчинення відповідних точних наважок. Розчини 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру Р у метанолі Р та 50 г/л макроголу 400 у метанолі Р готували відповідно до методик, описаних у ДФУ 2.0 [9].

Використовували реактиви (етилацетат, кислоту мурашину безводну, аміноетиловий ефір дифенілборної кислоти, макрогол 400) кваліфікації чистоти, яка відповідає вимогам ДФУ для відповідних методів аналізу [5].

Результати досліджень та обговорення

КГЕ трави звіробою та квіток нагідок отримували шляхом упарювання настоек звіробою та нагідок, взятих у співвідношенні 1:10.

Ідентифікацію флавоноїдів відповідно до вимог ДФУ 2.0 виконували методом ТШХ (ДФУ 2.0; 2.2.27), використовуючи систему розчинників – мурашина кислота безводна Р–вода Р–етилацетат Р (10:10:80). Під час вибору системи розчинників попередньо було вивчено поведінку БАР екстракту у двох системах, які описано у відповідних монографіях ДФУ на сировину: мурашина кислота безводна Р–вода Р–етилацетат Р (6:9:90) для трави звіробою і мурашина кислота безводна Р–вода Р–етилацетат Р (10:10:80) для квіток нагідок. У разі ідентифікації квіток нагідок ДФУ вимагає виявляти більше неідентифікованих БАР, описуючи їхнє положення на хроматограмі без зазначення назви сполуки. Такий прийом є виправданим у разі стандартизації ЛРС, оскільки хроматографічний профіль за принципом «відбитків пальців» дає змогу об'єктивно і прицезійно встановлювати тотожність сировини і виявляти її відмінності зі спорідненими видами. З огляду на це, саме систему розчинників, яку пропонують у ДФУ для ідентифікації квіток нагідок, було обрано для встановлення тотожності КГЕ трави звіробою та квіток нагідок. У результаті дослідження було підібрано наважку екстракту і об'єм проби для нанесення. Зразок хроматограми, одержаний в умовах дослідження складу флавоноїдів і гідроксикоричних кислот, наведено на рис. 1.

Трава звіробою, за вимогами ДФУ, має містити рутин, псевдогіперіцин і гіперіцин, які виявляються на одержаній хроматограмі зоною з оранжево-жовтою флуоресценцією на рівні зони рутину на хроматограмі розчину порівняння і двома червоними зонами, які розташовуються вище зони кислоти хлорогенової (верхня частина другої третини хроматограми); квітки нагідок, за вимогами ДФУ, мають бути ідентифіковані за присутністю рутину, кислоти хлорогенової, двох неідентифікованих речовин із жовтаво-зеленою флуоресценцією, розташованими у профілі нижче і вище зони рутину, та ще однією неідентифікованою гідроксикоричною кислотою, яка виявляється за блакитною флуоресценцією нижче рівня зони кислоти кофейної. Аналіз хро-

матографічного профілю, одержаного для метанольного розчину густого екстракту, та порівняння положення отриманих зон БАР з описаними в ДФУ для кожного виду сировини, дають змогу стверджувати, що досліджуваний комплексний густий екстракт об'єктивно ідентифікується як такий, що містить флавоноїди, гідроксикоричні кислоти та інші речовини, зокрема псевдогіперіцин і гіперіцин, які присутні в траві звіробою і квітках нагідок.

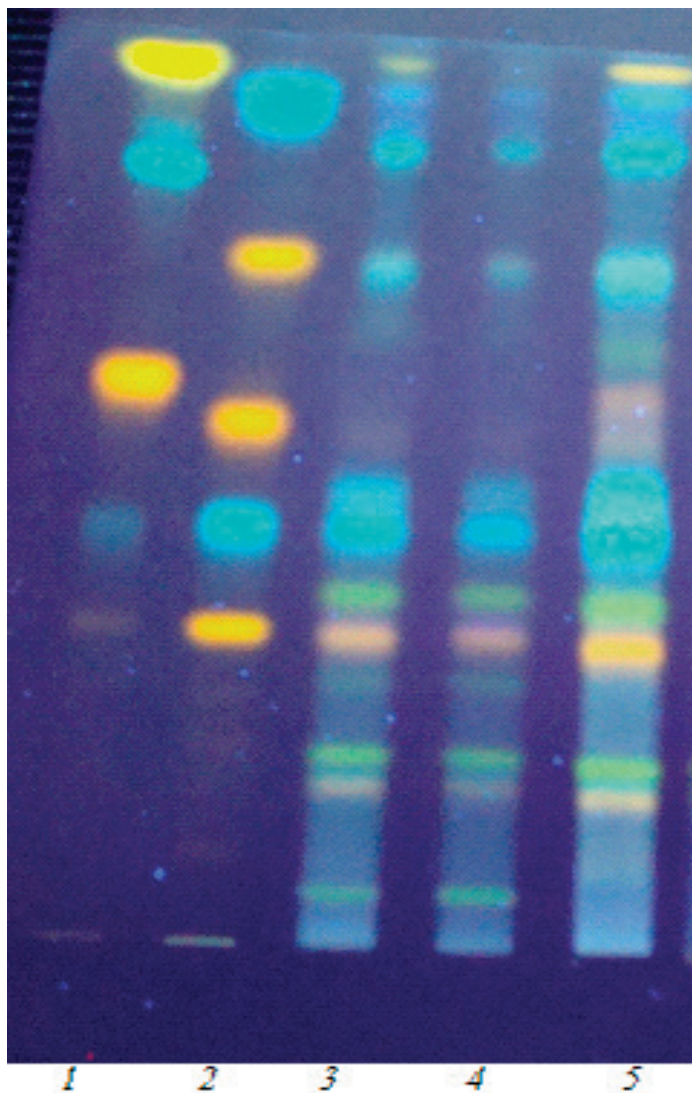


Рис. 1. Хроматограма, отримана в умовах ідентифікації флавоноїдів і гідроксикоричних кислот комплексного густого екстракту трави звіробою та квіток нагідок:

1 – розчин стандартних зразків (рутин, кислота хлорогенова, ізокверцитрин, кислота цикорієва, кверцетин); *2* – розчин стандартних зразків (рутин, кислота хлорогенова, гіперозид, кверцитрин, кислота розмаринова і кислота кофейна); *3–5* – випробовуваний розчин комплексного густого екстракту трави звіробою та квіток нагідок (*3* – 10 мкл, *4* – 5 мкл, *5* – 20 мкл)

У результаті виконаних досліджень було розроблено методику ідентифікації екстракту.

Методика ідентифікації комплексного густого екстракту трави звіробою і квіток нагідок

Випробовуваний розчин. 0,2 г субстанції розчиняють у 10 мл метанолу Р на ультразвуковій бані і фільтрують через фільтр із діаметром пор не більше 0,45 мкм.

Розчин порівняння. По 2,5 мг стандартного зразка рутину (Sigma) і кверцетину (Sigma-Aldrich), по 1 мг кислот хлорогенової (Sigma-Aldrich) і кофейної (Sigma) розчиняють у 10 мл метанолу Р.

На лінію старту хроматографічної пластинки Silica gel F254 зі скляною підложкою наносять 5 мкл розчину порівняння і 20 мкл випробовуваного розчину смугами завдовжки 10 мм. Пластинку сушать на повітрі протягом 10 хв, потім вміщують у камеру зі сумішшю розчинників мурашина кислота безводна Р–вода Р–етилацетат Р (10:10:80) і хроматографують висхідним способом. Коли фронт розчинників пройде 18 см від лінії старту, пластинку виймають із камери, сушать на повітрі протягом 10 хв, потім упродовж 10 хв за температури від 100 °С до 105 °С і обприскують гарячу пластинку розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетиловим ефіром Р у метанолі Р. Сушать на повітрі протягом 10 хв і обприскують пластинку розчином 50 г/л макрогону 400 Р у метанолі Р. Сушать на повітрі упродовж 30 хв і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

На хроматограмі розчину порівняння мають виявлятися (у порядку зростання R_f) чотири зони: рутину – жовто-оранжевої флуоресценції, блакитно-голубої флуоресценції кислот хлорогенової і кофейної, кверцетину – жовто-оранжевої флуоресценції.

На хроматограмі випробовуваного розчину мають виявлятися:

– дві жовто-оранжеві флуоресціюючі зони на рівні зон рутину і кверцетину на хроматограмі розчину порівняння;

– три зони блакитно-голубої флуоресценції, з яких одна – на рівні кислоти хлорогенової на хроматограмі розчину порівняння, а друга і третя – на рівні і нижче рівня зони кислоти кофейної на хроматограмі розчину порівняння;

– дві жовтаво-зелені флуоресціюючі зони, розташовані нижче і вище зони рутину на хроматограмі розчину порівняння;

– дві слабкі зони червоної флуоресценції вище зони кислоти хлорогенової на хроматограмі розчину порівняння.

Можуть виявлятися інші зони жовто-оранжевої, блакитно-голубої і жовтаво-зеленої флуоресценції (інші флавоноїди і фенолкарбонові кислоти).

Нижче наведено послідовність зон на хроматограмах розчину порівняння і випробовуваного розчину (рис. 2).

Кількісним показником якості ЛРС звіробою, гармонізованим із вимогами Європейської фармакопеї, є вміст суми гіперіцинів із критерієм – не менше 0,08% у перерахунку на гіперіцин. ДФУ, в зв'язку із відмінностями видів застосовуваної національними виробниками сировини, ввела національну частину до монографії «Звіробій», якою дозволила застосування крім *Hypericum perforatum* L. ще *Hypericum maculatum* Crantz або їх суміш. Через останнє, кількісним показником якості вже «Звіробою трави», згідно з національним доповненням, було визначено вміст суми флавоноїдів – не менше 1,2% у перерахунку на гіперозид і суху сировину. Для ЛРС «Нагідок квітки» фармакопейним кількісним показником якості є вміст суми флавоноїдів із критерієм – не менше 0,4% у перерахунку на гіперозид. Зважаючи на результати вивчення якісного складу флавоноїдів у досліджуваному КГЕ і фармакопейні вимоги до відповідних видів сировини, а також здійснюючи стандартизацію у ланцюзі ЛРС – екстракт, кількісним показником якості було вирішено обрати суму флавоноїдів. Серед методик визначення суми флавоноїдів вибір було зупинено на спектрофотометричному визначенні, якому передуює гідроліз глікозидних форм цих

БАР до агліконів, вилучення агліконів з їх наступним комплексоутворенням з алюміній хлоридом та кінцевим спектрофотометруванням одержаної забарвленої сполуки.

Під час розроблення методики кількісного визначення було підібрано масу наважки КГЕ, достатню для отримання оптимальних значень абсорбції випробовуваного розчину. Інші етапи пробопідготовки було витримано у межах фармакопейних методик визначення суми флавоноїдів для трави звіробою і квіток нагідок.

Верхня частина пластинки	
Кверцетин: оранжево-жовта флуоресціуюча зона	оранжево-жовта флуоресціуюча зона (<i>кверцетин</i>)
Кофейна кислота: блакитна флуоресціуюча зона	блакитна флуоресціуюча зона (<i>кофейна кислота</i>) блакитна флуоресціуюча зона
	слабка червона флуоресціуюча зона (<i>гіперіцин</i>) слабка червона флуоресціуюча зона (<i>псевдогіперіцин</i>)
Хлорогенова кислота: блакитна флуоресціуюча зона	інтенс. блакитна флуоресціуюча зона (<i>хлорогенова кислота</i>)
	жовтаво-зелена флуоресціуюча зона
Рутин: оранжево-жовта флуоресціуюча зона	інтенс. оранжево-жовта флуоресціуюча зона (<i>рутин</i>)
	жовтаво-зелена флуоресціуюча зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

Рис. 2. Схема хроматограми в умовах ідентифікації флавоноїдів і фенолкарбонових кислот КГЕ трави звіробою та квіток нагідок після оброблення розчином дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру Р у метанолі й розчином макроголу 400 Р у метанолі Р за перегляду в УФ-світлі з довжиною хвилі 365 нм

Методика кількісного визначення суми флавоноїдів у КГЕ трави звіробою та квіток нагідок

Вихідний розчин. 0,2 г КГЕ вміщували у круглодонну колбу об'ємом 100 мл, додавали 1,0 мл розчину 5 г/л гексаметилентетраміну Р, 20 мл ацетону Р і 7,0 мл кислоти хлористоводневої Р1. Одержану суміш кип'ятили зі зворотним холодильником впродовж 30 хв, охолоджували і кількісно, за допомогою двох порцій по 8 мл ацетону Р, переносили у мірну колбу ємністю 50 мл і доводили ацетоном Р до мітки.

20,0 мл одержаного розчину вміщували у ділільну лійку ємністю 100 мл, додава-

ли 20 мл води Р, 15 мл етилацетату Р і струшували протягом 5 хв. Після розділення шарів нижній (водний) шар зливали у хімічний стакан об'ємом 100 мл, а верхній (етилацетатний) збирали у конічну колбу об'ємом 100 мл. Водну фракцію вміщували знову в ділильну лійку, а екстракцію повторювали ще три рази порціями по 10 мл етилацетату Р, струшуючи щоразу впродовж 5 хв.

Об'єднані етилацетатні витяги кількісно, за допомогою 25 мл води Р, вміщували у ділильну лійку і струшували 2 рази з водою Р, по 25 мл і 50 мл відповідно впродовж 2 хв. Фільтрували через фільтр «біла стрічка» з 10 г натрію сульфату безводного Р у мірну колбу ємністю 50 мл (фільтр із натрію сульфатом безводним Р попередньо змочували етилацетатом Р), ділильну лійку і фільтр промивали 5 мл етилацетату Р і доводили об'єм розчину етилацетатом Р до 50,0 мл.

Випробовуваний розчин. До 10,0 мл вихідного розчину додавали 1,0 мл реактиву алюмінію хлориду Р і доводили розчином 5%-ї (об/об) оцтової кислоти льодяної Р у метанолі Р до об'єму 25,0 мл.

Компенсаційний розчин. 10,0 мл вихідного розчину доводили розчином 5%-ї (об/об) оцтової кислоти льодяної Р у метанолі Р до об'єму 25,0 мл.

Оптичну густину випробовуваного розчину вимірювали через 30 хв після приготування за довжини хвилі 425 ± 5 нм (рис. 3).

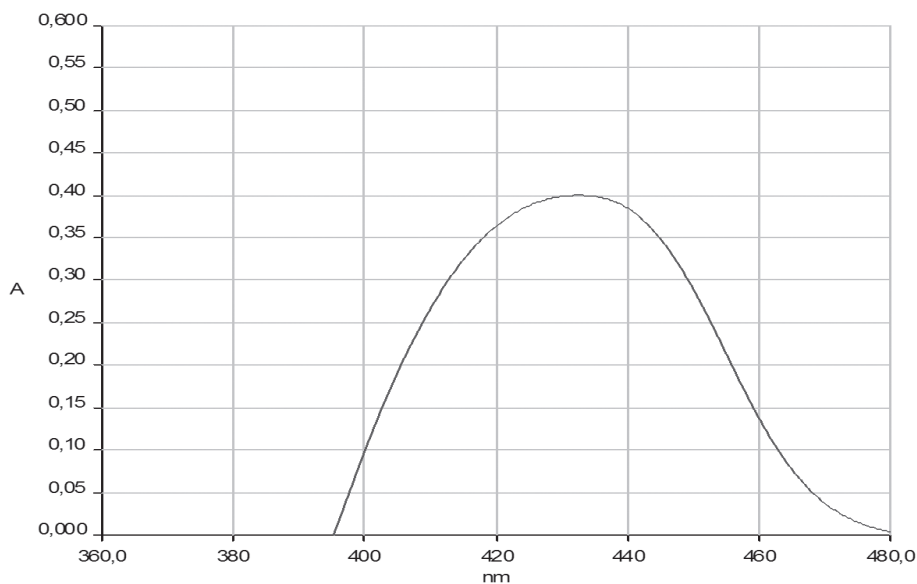


Рис. 3. Електронний спектр поглинання, отриманий в умовах кількісного визначення флавоноїдів у КГЕ трави звіробою та квіток нагідок

У розрахунках вмісту флавоноїдів використовували питомий показник поглинання гіперозиду, що дорівнює 500 [9].

Вміст флавоноїдів (X) у перерахунку на гіперозид і суху субстанцію, у відсотках, розраховували за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 62,5}{m \cdot W}$$

де A – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 425 нм;

m – маса наважки КГЕ у грамах;

W – вміст сухого залишку КГЕ, у відсотках.

Результати визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів у КГЕ трави звіробою та квіток нагідок наведено у таблиці.

Результати визначення суми флавоноїдів у КГЕ трави звіробою та квіток нагідок (1:10)

Серія екстракту	Маса наважки, г	Сухий залишок, %	Вміст суми флавоноїдів (у перерахунку на гіперозид), %
1	0,2046	81,38 ± 0,15	1,66 ± 0,01
2	0,2012	80,96 ± 0,17	1,65 ± 0,02
3	0,2005	82,05 ± 0,13	1,75 ± 0,01
4	0,2049	83,02 ± 0,12	1,69 ± 0,01
5	0,2051	81,05 ± 0,15	1,68 ± 0,02

Результати аналізу п'яти різних серій екстракту, одержаних шляхом упарювання відповідно різних настоек звіробою та нагідок, узятих у співвідношенні 1:10, дають змогу у разі стандартизації КГЕ запропонувати кількісний критерій якості – вміст суми флавоноїдів не менше 1,50% у перерахунку на гіперозид і суху субстанцію.

В и с н о в к и

1. Розроблено методики ідентифікації БАР та кількісного визначення флавоноїдів у комплексному густому екстракті трави звіробою та квіток нагідок.

2. Ідентифікацію комплексного густого екстракту трави звіробою і квіток нагідок запропоновано здійснювати методом ТШХ. Наявність БАР трави звіробою у КГЕ доводиться присутністю на хроматограмі випробовуваного розчину зон, характерних для рутину, кверцетину, псевдогіперіцину і гіперіцину. Наявність БАР квіток нагідок у КГЕ ідентифікується шляхом зазначення забарвлення і положення зон в одержаному для випробовуваного розчину хроматографічному профілі: гідроксикоричних кислот – хлорогенової і кофейної; двох зон жовтаво-зеленої флуоресценції – неідентифікованих, але характеристичних для квіток нагідок речовин, гідно з вимогами ДФУ; блакитної флуоресціюючої зони, розташованої нижче рівня зони кислоти кофейної на хроматограмі розчину порівняння, що відповідає неідентифікованій гідроксикоричній кислоті, характеристичній для квіток нагідок, згідно з вимогами ДФУ.

3. Для контролю технології КГЕ, якості екстракту та нормування його вмісту у лікарських формах запропоновано визначати вміст суми флавоноїдів спектрофотометричним методом. На п'яти серіях екстракту встановлено, що критерієм якості можна вважати вміст флавоноїдів не менше 1,5% у перерахунку на гіперозид і суху субстанцію.

С п и с о к в и к о р и с т а н о ї л і т е р а т у р и

1. Лікарські рослини. Енциклопедичний довідник (За ред. А. М. Гродзінського). – К.: УРЕ, 1991. – 544 с.

2. Волошин О. І., Васюк В. Л., Волошина Л. О. Звіробій звичайний (*Hypericum perforatum*): нові погляди на застосування препаратів із нього в сучасних умовах (огляд літератури) // Фітотерапія. Часопис. – 2005. – № 4. – С. 21–26.

3. Кобзар А. Фармакогнозія в медицині: навч. посібник. – К.: Медицина, 2007. – 544 с.

4. Cibotaru N., Benea A., Soroca I. Comparative analisys of the total degree of flavonoids and polyphenols in different products of *Hypericum perforatum* / Inter. sci. symposium «Conservation of plant diversity». Chisinau, Republic of Moldova, 2017. – P. 72.

5. Коновалова О. Ю. Ботаніко-фармакогностичне дослідження видів звіробою при інтродукції в Україні: монографія. – К.: Блудчий, 2011. – 240 с.

6. Самылина И. А., Теремина И. А. Сравнительное изучение настоек календулы // Фармація. – 2005. – № 6. – С. 6–8.

7. Гудзенко А. В., Цуркан О. О., Ковальчук Т. В., Курапова Т. М. Визначення вмісту ізорамнетину в препаратах нагідок лікарських. Тези доп. 4 Нац. з'їзду фармакологів України. Київ, 10–12 жовтня // Фармакол. лікарська токсикол. – 2011. – № 5. – С. 85.

8. Гудзенко А. В. Розробка підходів до стандартизації квіток нагідок лікарських у багатокомпонентних лікарських сумішах // Фітотерапія. Часопис. – 2011. – № 1. – С. 80–83.

9. Державна фармакопея України. В 3 т. / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. – Т. 3. – С. 398–402, 327–330.

Надійшла до редакції 29 серпня 2017 року.

Т. А. Шостак¹, Т. Г. Калинюк¹, Л. В. Вронська²

¹ Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого

² Тернопольский государственный медицинский университет

имени И. Я. Горбачевского

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ КОМПЛЕКСНОГО ГУСТОГО ЭКСТРАКТА ТРАВЫ ЗВЕРОБОЯ И ЦВЕТКОВ КАЛЕНДУЛЫ

Ключевые слова: трава зверобоя, цветки календулы, комплексный густой экстракт, флавоноиды, идентификация, количественное определение

АННОТАЦИЯ

Зверобой продырявленный (*Hypericum perforatum*) и ноготки лекарственные (*Calendula officinalis*) богаты такими биологически активными веществами как каротин, аскорбиновая кислота, эфирные масла, витамины, дубильные и смолистые вещества, а также флавоноиды с выраженной ранозаживляющей и противовоспалительной активностью.

Цель исследования – изучение качественного состава флавоноидов комплексного густого экстракта травы зверобоя и цветков календулы; разработка методики определения количественного содержания суммы флавоноидов в экстракте; выбор идентификационных маркеров и количественного критерия качества комплексного густого экстракта

Объектом этого исследования был состав биологически активных веществ комплексного густого экстракта травы зверобоя и цветков календулы (1:10). Внедрение новой растительной субстанции в медицинскую практику требует разработки методики ее идентификации и количественного определения. Для идентификации биологически активных веществ в исследуемом экстракте использован метод тонкослойной хроматографии, а для количественного определения содержания флавоноидов предложен метод абсорбционной спектрофотометрии.

В результате проведенных исследований были выбраны характерные вещества – идентификационные маркеры экстракта, выбор которых согласован с требованиями ГФУ по качеству травы зверобоя и цветков календулы, указано положение и окраска зон в хроматографическом профиле испытуемого раствора экстракта. Такой подход позволит объективно идентифицировать экстракт как субстанцию и как действующее вещество в составе лекарственной формы. Критерием количественной стандартизации комплексного густого экстракта предложено содержание суммы флавоноидов не менее 1,5% в пересчете на гиперозид и сухую субстанцию.

T. A. Shostak¹, T. G. Kalyniuk¹, L.V. Vronska²

¹ Danylo Halytsky Lviv National Medical University

² Gorbachevsky Ternopil State Medical University

IDENTIFICATION AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE FLAVONOIDS OF THE COMPLEX DENSE EXTRACT OF ST. JOHN'S WORT HERB AND POT MARIGOLD FLOWERS

Key words: herb of St. John's wort, pot marigold flowers, complex dense extract, flavonoids, identification, quantitative determination

ABSTRACT

Common Saint-John's wort (*Hypericum perforatum*) and pot marigold (*Calendula officinalis*) are rich in such biologically active substances (BAS) as carotene, ascorbic acid, essential oils, vitamins, tannin and resinous substances, as well as flavonoids that bear evident wound healing properties and antiulcerous properties.

The object of this study was BAR composition of the complex dense herb extract of St. John's wort and flowers of marigolds (1:10). In order to introduce a new herbal substance into medical practice, it is necessary to develop methods for its identification and quantification.

The TLC [thin layer chromatography] method was used to identify the BAR in the extract under study, and the method of absorption spectrophotometry was proposed for quantification of the content of flavonoids.

As a result of the conducted research, there were selected characteristic substances - identification markers of the extract, the choice of which was in accordance with the requirements of the SPF on the quality of the herb of St. John's wort and the flowers of pot marigold, and there was indicated the position and coloring of the zones in the chromatographic profile of the tested extract solution. Such approach will enable objective identification of the extract as a substance and as an active pharmaceutical ingredient in the formulation.

The criterion for quantitative standardization of the complex dense extract is the content of the amount of flavonoids not less than 1.5% in terms of hyperoside and dry substance.

Електронна адреса для листування з авторами: t_shostak8@ukr.net