

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ З РОЗРОБЛЕННЯ МЕТОДИК АНАЛІЗУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У БАГАТОКОМПОНЕНТНОМУ ЕКСТРАКТІ РІДКОМУ КОМПЛЕКСНОЇ ДІЇ

**Вступ.** Хвороби органів травлення – одна з найчастіших причин втрати працездатності та розвинення інвалідності. За даними літературних джерел, у кожного сьомого хворого причиною втрати працездатності є патологія органів травлення. Економічний збиток від цих захворювань у 2 рази перевищує такий від серцево-судинних.

**Мета дослідження** – провести експериментальні дослідження з розроблення методик аналізу біологічно активних речовин у багатокомпонентному екстракті рідкому.

**Методи дослідження.** Об'єктами дослідження були експериментальні зразки багатокомпонентного екстракту рідкого. Для ідентифікації біологічно активних речовин у досліджуваному екстракті використовували метод тонкошарової хроматографії, як нерухому фазу застосовували тонкошарові пластинки Silica gel 60 фірми "Merk". Кількісний вміст основних біологічно активних речовин в екстракті визначали методом абсорбційної спектрофотометрії за допомогою спектрофотометра "UV-2600" (Японія).

**Результати й обговорення.** Досліджуваний екстракт складається з 10 рослин, які в значній кількості містять біологічно активні сполуки флавоноїдної будови, серед них нагідок лікарських квітки, хвою польового трава, оману високого кореневища, вероніки лікарської трава, цикорію дикого корені та птериди посівної плоди. Перстачу болотного кореневища багаті на таніни, фенхелю звичайного плоди містять ефірну олію, грицики звичайні – сполуки поліфенольної будови. Методом тонкошарової хроматографії, порівняно з речовинами-маркерами, доведено наявність у багатокомпонентному екстракті рідкому речовин флавоноїдної природи, подібних за будовою до лютеоліну і рутину; кислот поліфенольної структури, подібних за будовою до кислоти хлорогенової; речовин, подібних за будовою до дубильних речовин (катехін) і полісахаридів (фруктоза). Розроблено методики для визначення в рослинному екстракті рідкому кількісного вмісту: речовин флавоноїдної природи в перерахунку на лютеолін (не менше 0,22 %) – спектрофотометричним методом; речовин поліфенольної структури в перерахунку на галову кислоту (не менше 1,04 %) – спектрофотометричним методом; фенольних сполук у перерахунку на пірогалол (не менше 0,032 %) – спектрофотометричним методом.

**Висновки.** У результаті експериментальних досліджень розроблено методики ідентифікації та кількісного визначення вмісту основних біологічно активних речовин у багатокомпонентному екстракті рідкому.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: багатокомпонентний екстракт рідкий; ідентифікація; кількісне визначення.

ВСТУП. Хвороби органів травлення – одна з найчастіших причин втрати працездатності та розвинення інвалідності. За даними літературних джерел, у кожного сьомого хворого причиною втрати працездатності є патологія органів травлення. Економічний збиток від цих захворювань у 2 рази перевищує такий від серцево-судинних [1, 2].

Хронічний неспецифічний виразковий коліт є однією з найбільш складних і актуальних проб-

© О. О. Шмалько, В. К. Яковенко, 2023.

лем сучасної проктології та гастроентерології. Це дифузне запальне захворювання товстої кишки, при якому первинно ушкоджується слизова оболонка прямої кишки з подальшим поширенням процесу в проксимальному напрямі. Медичний аспект проблеми обумовлений невідомістю етіології, недостатньо вивченим патогенезом, непрогнозованим перебігом захворювання, загрозою розвитку тяжких ускладнень, високими показниками післяопераційних ускладнень і летальності при хірургічному їх лікуванні.

За далеко неповними даними, в Україні показник первинної захворюваності на неспецифічний виразковий коліт становить 8–10 випадків на рік, поширеність – 28–117 на 100 тис. населення [1]. Понад 50 % хворих – особи віком від 20 до 40 років, середній вік на момент захворювання становить 29 років, а поширеність у дітей оцінюють у 3,4 на 100 тис. населення, за рік реєструють 6–8 нових випадків захворювання [2, 3].

Мета дослідження – провести експериментальні дослідження з розроблення методик аналізу біологічно активних речовин (БАР) у багатокомпонентному екстракті рідкому.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Об'єктами дослідження були експериментальні зразки багатокомпонентного екстракту рідкого [4]. Для ідентифікації БАР у досліджуваному екстракті використовували метод тонкошарової хроматографії (ТШХ), як нерухому фазу застосовували тонкошарові пластинки Silica gel 60 фірми "Merk". Кількісний вміст основних БАР в екстракті визначали методом абсорбційної спектрофотометрії за допомогою спектрофотометра "UV-2600" (Японія).

**Методика ідентифікації речовин, подібних за будовою до дубильних речовин і полісахаридів.**

Для ідентифікації БАР, подібних за будовою до дубильних речовин і полісахаридів, використовували метод ТШХ (монографія "Дуба кора" ДФУ) [5]. Екстракт розчиняли в метанолі, як нерухому фазу застосовували тонкошарові пластинки Silica gel 60 фірми "Merk", рухомою фазою слугувала суміш розчинників: вода – кислота мурашина безводна – етилацетат (5:10:85). Маркерами обрали фруктозу і катехін. Коли фронт розчинників пройшов 10 см, хроматограми сушили на повітрі, обробляли розчином анісового альдегіду, нагрівали при температурі 100–105 °С 15 хв і переглядали при денному світлі.

*Випробовуваний розчин:* 0,05 г екстракту розчиняють у метанолі й доводять тим самим розчинником до 5 мл.

*Розчин порівняння:* 2,5 мг катехину Р, 2,5 мг фруктози Р розчиняють у 2,5 мл метанолу Р.

*Пластинка:* ТШХ-пластинка із шаром силікагелю Р.

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

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

*Відстань, яку повинна пройти рухома фаза:* 10 см від лінії старту.

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

*Виявлення:* обробляють анісового альдегіду розчином Р, нагрівають при температурі 100–105 °С протягом 5 хв до проявлення плям. Переглядають при денному світлі.

**Методика визначення методом ТШХ вмісту суми флавоноїдів і кислот гідроксикоричних.**

*Випробовуваний розчин:* 0,05 г екстракту вносять у мірну колбу на 5,0 мл, розчиняють у метанолі й доводять тим самим розчинником до мітки.

*Розчин порівняння:* 1,0 мг рутину, 5,0 мг лютеоліну, 5,0 мг кислоти хлорогенової і 5,0 мг кислоти кавової розчиняють у 10,0 мл метанолу.

*Пластинка:* ТШХ-пластинка із шаром силікагелю Р.

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

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

*Відстань, яку повинна пройти рухома фаза:* 12 см від лінії старту.

*Висушування:* на повітрі, до зникнення запаху розчинника, 30 хв.

*Виявлення:* обробляють 5 % розчином алюмінію хлориду в метанолі, висушують у потоці теплого повітря і переглядають в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм.

**Методика кількісного визначення вмісту суми поліфенольних сполук у перерахунку на кислоту галову.**

*Випробовуваний розчин:* 0,100 г екстракту вносять у мірну колбу на 25,0 мл, доводять об'єм спиртом етиловим до мітки і перемішують.

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

*Компенсаційний розчин:* спирт етиловий.

Оптичну густину випробовуваного розчину та розчину порівняння вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 264 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм.

**Методика кількісного визначення загального вмісту суми фенольних сполук у перерахунку на пірогалол.**

*Випробовуваний розчин:* 0,100 г екстракту вносять у мірну колбу на 20,0 мл, додають 0,1 мл реактиву Фоліна – Чокальтеу, 2,0 мл насиченого розчину натрій карбонату, доводять об'єм водою до мітки та перемішують.

*Розчин порівняння:* 0,020 г пірогалолу вносять у мірну колбу на 50,0 мл, розчиняють у 25,0 мл води та доводять розчин тим самим розчинником до мітки. У мірну колбу на 20,0 мл вносять 0,1 мл отриманого розчину, додають 0,1 мл реактиву Фоліна – Чокальтеу, 2,0 мл насиченого розчину натрій карбонату, доводять об'єм водою до мітки та перемішують.

*Компенсаційний розчин:* вода.

Оптичну густина випробовуваного розчину та розчину порівняння вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 710 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм.

**Методика кількісного визначення вмісту речовин флавоноїдної будови в перерахунку на лютеолін.**

*Випробовуваний розчин:* 0,100 г екстракту вносять у мірну колбу на 5,0 мл, додають 1,0 мл розчину (20 г/л) алюміній хлориду в метанолі, доводять об'єм 5 % (об/об) розчином кислоти оцтової льодяної в метанолі до мітки та перемішують.

*Розчин порівняння:* 0,100 г лютеоліну вносять у мірну колбу на 100,0 мл, розчиняють у 50,0 мл метанолу та доводять розчин тим самим розчинником до мітки. У мірну колбу на 25,0 мл вносять 2,0 мл отриманого розчину, додають 1,0 мл розчину (20 г/л) алюміній хлориду в метанолі, доводять об'єм 5 % (об/об) розчином кислоти оцтової льодяної в метанолі до мітки та перемішують.

*Компенсаційний розчин:* 0,1 мл відповідного екстракту доводять 5 % (об/об) розчином кис-

лоти оцтової льодяної в метанолі до об'єму 5,0 мл.

Оптичну густина випробовуваного розчину вимірюють через 30 хв після приготування при довжині хвилі 407 нм відносно компенсаційного розчину.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Досліджуваний екстракт складається з 10 рослин, які в значній кількості містять біологічно активні сполуки флавоноїдної будови, серед них нагідок лікарських квітки та хвощу польового трава [5], оману високого кореневища [6], вероніки лікарської трава [7], цикорію дикого корені [8], петрушки посівної плоди [9]. Перстачу болотного кореневища багаті на вміст танінів, фенхелю звичайного плоди містять ефірну олію [5], грицики звичайні – сполуки поліфенольної будови [10].

Послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння наведено на рисунку 1. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть проявлятися й інші зони.

Отримані результати свідчать про наявність у досліджуваному екстракті речовин, подібних за будовою до дубильних речовин і полісахаридів.

Флавоноїди і кислоти гідроксикоричні визначали методом ТШХ у системі розчинників бутанол – кислота оцтова льодяна – вода (4:1:2) з наступним детектуванням 5 % розчином алюміній хлориду в метанолі. Хроматограми переглядали в УФ-світлі до і після проявлення реактивом. Послідовність зон на хроматограмах

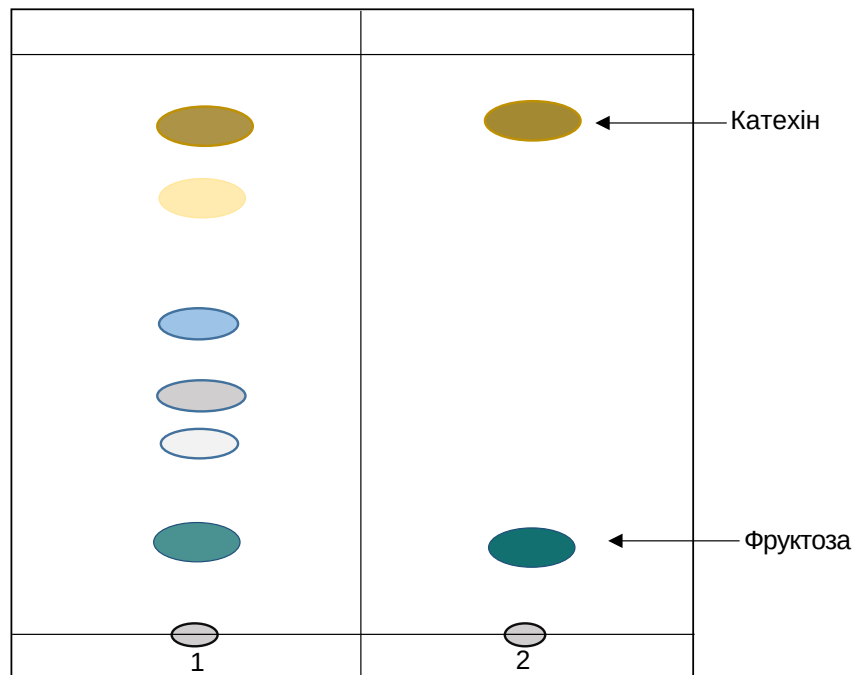


Рис. 1. Схема тонкошарової хроматограми визначення речовин, подібних за будовою до дубильних речовин і полісахаридів: 1 – експериментальний зразок екстракту рідкого; 2 – стандартні зразки фруктози та катехіну.

випробовуваного розчину та розчину порівняння наведено на рисунку 2. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть проявлятися й інші зони.

На хроматограмі досліджуваного екстракту проявляються такі зони: жовтаво-зеленкувата флуоресціююча зона на рівні зони розташування лютеоліну, блакитна флуоресціююча зона на рівні зони розміщення кислоти хлорогенової. У досліджуваному екстракті проявляються додаткові зони вище і нижче рівня зон розчину порівняння.

Для визначення БАР екстракту рідкого вивчали характер абсорбційного спектра погли-

нання в ділянці довжин хвиль від 220 до 400 нм (рис. 3).

Встановили, що абсорбційний спектр поглинання розчину досліджуваного екстракту в спирті етиловому характеризується наявністю плеча в ділянці довжин хвиль 263–266 нм і максимуму при довжині хвилі 320 нм. Наявність плеча може свідчити про вміст у зразку речовин поліфенольної природи, подібних за будовою до кислоти галової (рис. 3), максимум якої за цих умов спостерігали при довжині хвилі 264 нм. Максимум поглинання при довжині хвилі 320 нм може бути зумовлений наявністю у досліджуваному екстракті кислот гідроксикоричних.

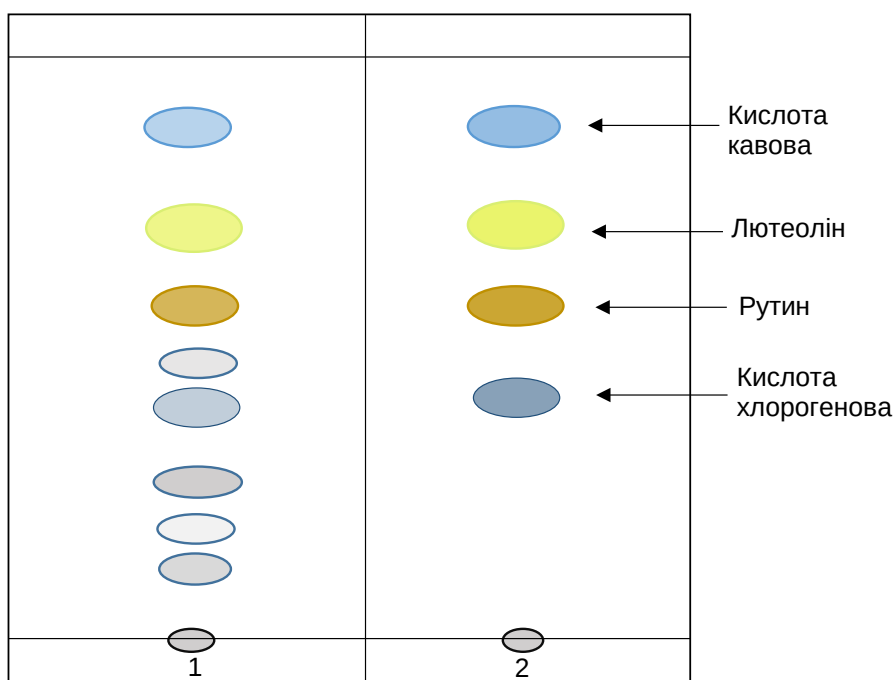


Рис. 2. Схема тонкошарової хроматограми визначення суми флавоноїдів і кислот гідроксикоричних: 1 – експериментальний зразок екстракту рідкого; 2 – стандартні зразки кислоти хлорогенової, рутину, лютеоліну, кислоти кавової.

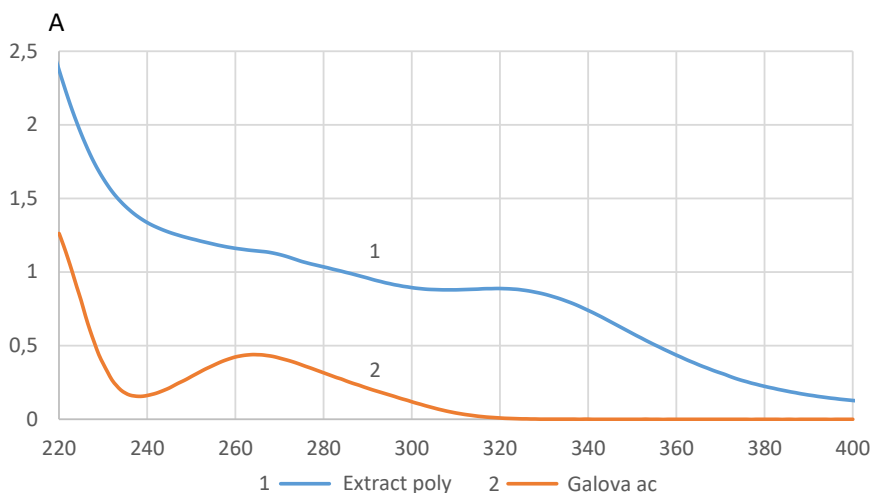


Рис. 3. Абсорбційний спектр поглинання спиртового розчину досліджуваного екстракту: 1 – експериментальний зразок екстракту рідкого; 2 – стандартний зразок кислоти галової.

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

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

де  $A$  – оптична густина випробовуваного розчину;

$A_0$  – оптична густина розчину стандартного зразка кислоти галової;

$m_0$  – маса наважки стандартного зразка кислоти галової, г;

$m_H$  – маса наважки екстракту, взята для аналізу, мл.

Відтворюваність методики встановлювали на шести зразках розробленого екстракту рідкого. Отримані метрологічні характеристики методики наведено в таблиці 1.

Таким чином, кількість речовин поліфенольної будови в перерахунку на кислоту галову становить 1,04 %.

Наявність танінів підтверджували за допомогою реакції взаємодії з реактивом Фоліна – Чокальтеу (фосфорно-молібденово-вольфрамовий реактив) за методикою, описаною в літературі [11]. Встановили, що під час проведення випробування за наявності насиченого розчину натрій карбонату утворюється забарвлений у

синій колір продукт реакції з максимумом поглинання при довжині хвилі 710 нм, що відповідає максимуму поглинання 0,002 % розчину пірогалолу за цих умов (рис. 4).

Загальний вміст фенольних сполук ( $X$ , %) у перерахунку на пірогалол обчислюють за формулою:

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

де  $A$  – оптична густина випробовуваного розчину;

$A_0$  – оптична густина розчину пірогалолу;

$V_n$  – об'єм піпетки розчину пірогалолу;

$m_0$  – маса наважки пірогалолу, г;

$m_H$  – маса наважки екстракту, взята для аналізу, мл.

Результати кількісного визначення суми фенольних сполук у перерахунку на пірогалол і метрологічні характеристики середнього результату шести зразків екстракту рідкого наведено в таблиці 2.

Таким чином, кількість фенольних сполук у перерахунку на пірогалол становить 0,032 %.

Для визначення речовин флавоноїдної будови проводили реакцію взаємодії досліджуваного екстракту з метанольним розчином алюміній (III) хлориду в оцтовокислому середовищі.

Таблиця 1 – Метрологічні характеристики кількісного визначення поліфенольних сполук в екстракті рідкому в перерахунку на кислоту галову,  $P(t, v) = 2,5706$

Кількість знайдених БАР у перерахунку на кислоту галову, %	$x_{\text{сер}}$	$S^2$	$S$	$S_{x_{\text{сер}}}$	$\Delta x$	$\varepsilon$ , %
1,024	1,041	0,000136	0,011645	0,004754	0,0299	2,87
1,033						
1,039						
1,055						
1,043						
1,052						

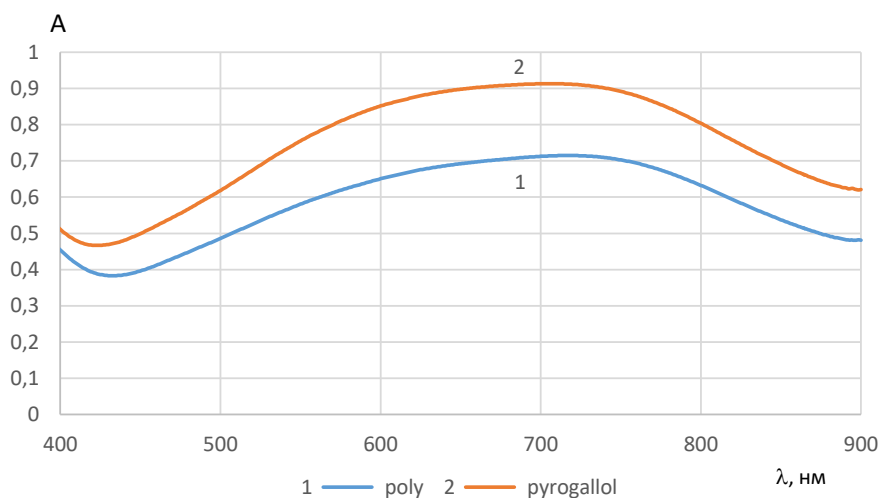


Рис. 4. Абсорбційні спектри поглинання забарвленого розчину екстракту і 0,0002 % розчину пірогалолу після реакції з реактивом Фоліна – Чокальтеу: 1 – експериментальний зразок екстракту рідкого; 2 – стандартний зразок пірогалолу.

Таблиця 2 – Метрологічні характеристики кількісного визначення суми фенольних сполук у перерахунку на пірогалол в екстракті рідкому,  $P(t, v) = 2,5706$

Кількість знайдених БАР у перерахунку на пірогалол, %	$x_{\text{сер}}$	$S^2$	$S$	$S_{x_{\text{сер}}}$	$\Delta x$	$\epsilon, \%$
0,032	0,032	0,0000004	0,000632	0,000258	0,0016	5,08
0,031						
0,032						
0,033						
0,032						
0,032						

Встановили, що абсорбційний спектр поглинання забарвленого продукту реакції в ділянці від 370 до 450 нм характеризуються наявністю доволі пологового максимуму поглинання при довжині хвилі 396 нм, який збігається з максимумом поглинання продукту взаємодії лютеоліну з алюміній хлоридом (рис. 5).

Вміст суми флавоноїдів ( $X, \%$ ) у перерахунку на лютеолін обчислюють за формулою:

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

де  $A$  – оптична густина випробовуваного розчину;

$A_0$  – оптична густина розчину стандартного зразка лютеоліну;

$m_0$  – маса наважки лютеоліну, г;

$m_H$  – маса наважки екстракту, взята для аналізу, мл.

Результати кількісного визначення суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін і метрологічні характеристики середнього результату шести зразків екстракту рідкого наведено в таблиці 3.

Таким чином, кількість флавоноїдів, подібних за будовою до лютеоліну, становить 0,22 %.

**ВИСНОВКИ.** 1. Методом тонкошарової хроматографії, порівняно з речовинами-маркерами, доведено наявність у багатокомпонентному екстракті рідкому кислот поліфенольної структури, подібних за будовою до кислоти хлорогенової; речовин флавоноїдної природи, подібних

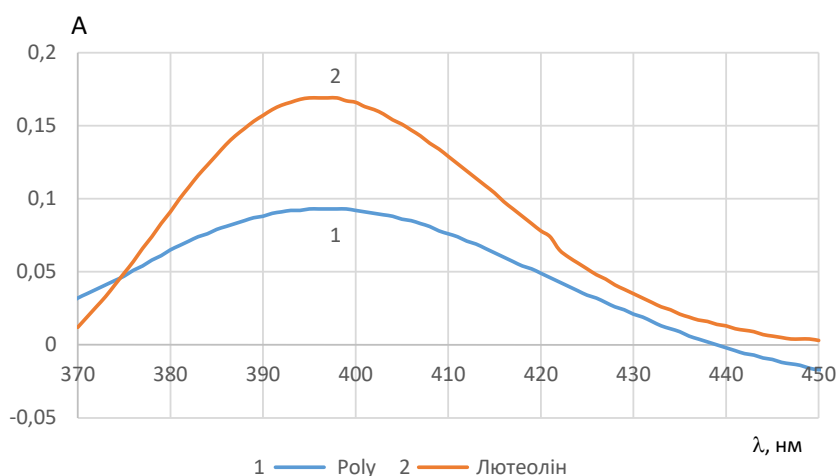


Рис. 5. Абсорбційні спектри поглинання після реакції з розчином алюміній хлориду в оцтовокислом середовищі: 1 – експериментальний зразок екстракту; 2 – стандартний зразок лютеоліну.

Таблиця 3 – Метрологічні характеристики кількісного визначення суми флавоноїдів у екстракті рідкому в перерахунку на лютеолін,  $P(t, v) = 2,5706$

Кількість знайдених БАР у перерахунку на лютеолін, %	$x_{\text{сер}}$	$S^2$	$S$	$S_{x_{\text{сер}}}$	$\Delta x$	$\epsilon, \%$
0,219	0,221	0,00000897	0,002994	0,001222	0,0076	3,47
0,225						
0,223						
0,225						
0,218						
0,221						

за будовою до лютеоліну і рутину; речовин, подібних за будовою до дубильних речовин (катехін) і полісахаридів (фруктоза).

2. Розроблено методики для визначення в рослинному екстракті рідкому кількісного вмісту

речовин поліфенольної структури в перерахунку на кислоту галову, речовин флавоноїдної природи в перерахунку на лютеолін, вмісту фенольних сполук у перерахунку на пірогалол – спектрофотометричним методом.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Горобець А. О. Неспецифічний виразковий коліт у дітей / А. О. Горобець // Перинатологія і педіатрія. – 2015. – № 1. – С. 74–80.

2. Shmalko O. O. Marketing substantiation of Introduction of a new Herbal medicine for the Treatment of Inflammatory bowel diseases into the Pharmaceutical market of Ukraine / O. O. Shmalko, I. V. Pestun, L. I. Vyshnevskaya // Research J. Pharm. and Tech. – 2020. – No. 13 (11). – P. 5431–5437. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2020.00948.8>

3. Гольмамедов Ф. І. Перспективи сучасної фізичної реабілітації хворих на неспецифічний виразковий коліт / Ф. І. Гольмамедов, М. І. Томашевський, А. М. Ярош // Педагогіка, психологія та медико-біологічні проблеми фізичного виховання і спорту : наук. моногр. / за ред. С. С. Єрмакова. – 2008. – Харків : ХДАДМ. – С. 229–242.

4. Шмалько О. О. Обґрунтування складу та технології отримання у лабораторних умовах екстракту сухого комплексної дії / О. О. Шмалько, В. К. Яковенко // Вісн. фармації. – 2023. – № 2 (106). – С. 43–50. <https://doi.org/10.24959/nphj.23.124>.

5. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. – Харків : Державне підприємство “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”, 2015. – Т. 1. – 1128 с.

6. The Analysis of Flavonoids from *Inula helenium* L. Flowers and Leaves / Nan Monica, L. Vlase, Eșianu Sigrid, M. Tămaș // Acta Medica Marisensis. – 2015. – 57, No. 3. – P. 319–323.

7. Investigation of phenolic compounds of the herbs of *Veronica Genus* / Ivanna Milian, Svitlana Marchyshyn, Solomiia Kozachok, Nazar Yavorivskiy // The Pharma Innovation Journal. – 2016. – No. 5 (7). – P. 41–46.

8. Determination of biologically active substances in taproot of common chicory (*Cichorium intybus* L.) / Panteley Denev, Nadezhda Petkova1, Ivan Ivanov [et al.] // Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies. – 2014. – XVIII. – P. 124–129.

9. Jamaluddeen Mohammed Abubakar. Phytochemical and GCMS analysis on the ethanol extract of *Foeniculum Vulgare* and *Petroselinum crispum* leaves / Jamaluddeen Mohammed Abubakar, Great Iruoghene Edo, Nur Paşaoğlulari Aydinlik // Int. J. Chem. Technol. – 2021. – No. 5 (2). – P. 117–124. <https://doi.org/10.32571/ijct.911711>

10. Evaluation of nutritional, phytochemical, antioxidant and cytotoxic potential of *Capsella bursa-pastoris*, a wild vegetable from potohar region of Pakistan / Iqra Riaz, Yamin Bibi, Nabeela Ahmad [et al.] // Kuwait J. Sci. – 2021. – No. 48 (3). – P. 1–11.

11. Aiyegroro O. A. Preliminary phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of aqueous extract of *Helichrysum longifolium* DC / O. A. Aiyegroro, A. I. Okoh // BMC Compl. and Alt. Med. – 2010. – № 10:21. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-10-21>.

#### REFERENCES

1. Gorobets, A.O. (2015). Nonspecific ulcerative colitis in children. *Perinatology and Pediatrics*, (1), 74-80 [in Ukrainian].

2. Shmalko, O.O., Pestun, I.V., Vyshnevskaya, L.I. (2020). Marketing substantiation of Introduction of a new Herbal medicine for the Treatment of Inflammatory bowel diseases into the Pharmaceutical market of Ukraine. *Research J. Pharm. and Tech.*, 13(11), 5431-5437. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2020.00948.8>

3. Gylmamedov, F.I., Tomashevskiy, M.I., & Iarosh, A.M. (2008). *Prospects of modern physical rehabilitation of patients with non-specific ulcerative colitis. Pedagogy, psychology and medico-biological problems of physical education and sports: scientific monograph*. Yermako-va, S.S. (Ed.). Kharkiv: KDADM (XXPI), (6): 229-242 [in Ukrainian].

4. Shmalko, O.O., Iakovenko, V.K. (2023). Substantiation of the composition and technology of obtaining in laboratory conditions of dry extract of complex action.

*News of Pharmacy*, 2 (106), 43-50 <https://doi.org/10.24959/nphj.23.124> [in Ukrainian]

5. *State Pharmacopoeia of Ukraine: in 3 volumes. SE “Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center for the Quality of Medicinal Products”*. 2<sup>nd</sup> edition Kharkiv: State Enterprise “Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center for the Quality of Medicinal Products”. – 2015. – Vol. 1. [in Ukrainian].

6. Nan Monica, Vlase L., Eșianu Sigrid, Tămaș M. (2015). The Analysis of Flavonoids from *Inula helenium* L. Flowers and Leaves. *Acta Medica Marisensis*, 57, 3, 319-323.

7. Ivanna Milian, Svitlana Marchyshyn, Solomiia Kozachok and Nazar Yavorivskiy. (2016). Investigation of phenolic compounds of the herbs of *Veronica Genus*. *The Pharma Innovation Journal*, 5 (7), 41-46.

8. Panteley Denev, Nadezhda Petkova1 & Ivan Ivanov [et al.]. (2014). Determination of biologically active substances in taproot of common chicory (*Cichorium*

intybus L.). *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, XVIII, 124-129.

9. Iqra Riaz, Yamin Bibi & Nabeela Ahmad (2021). Phytochemical and GCMS analysis on the ethanol extract of *Foeniculum Vulgare* and *Petroselinum crispum* leaves. *Int. J. Chem. Technol.*, 5(2), 117-124 <https://doi.org/10.32571/ijct.911711>

10. Iqra Riaz, Yamin Bibi, Nabeela Ahmad (2021). Evaluation of nutritional, phytochemical, antioxidant and

cytotoxic potential of *Capsella bursa-pastoris*, a wild vegetable from potohar region of Pakistan. *Kuwait J. Sci.*, 48 (3), 1-11.

11. Aiyegrero, O.A., Okoh, A.I. (2010). Preliminary phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of aqueous extract of *Helichrysum longifolium* DC. *BMC compl. And Alt. Med.*, 10, 21. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-10-21>

Отримано 04.10.2023

Адреса для листування: О. О. Шмалько, Чорноморський національний університет імені Петра Могили, Миколаїв, 54003, Україна, e-mail: [shmalko.a@gmail.com](mailto:shmalko.a@gmail.com).

O. O. Shmalko<sup>1</sup>, V. K. Iakovenko<sup>2</sup>  
PETRO MOHYLA BLACK SEA STATE UNIVERSITY<sup>1</sup>, MYKOLAIV  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY<sup>2</sup>, KHARKIV

## EXPERIMENTAL RESEARCH ON THE DEVELOPMENT OF ANALYSIS METHODS OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN A MULTI-COMPONENT LIQUID EXTRACT OF COMPLEX ACTION

### Summary

**Introduction.** Diseases of the digestive organs are one of the most frequent causes of loss of working capacity and development of disability. According to literature sources, the cause of disability in every seventh patient is the pathology of the digestive organs. The economic damage from these diseases is twice as high as that from cardiovascular diseases.

**The aim of the study** – to conduct experimental studies on the development of methods for the analysis of biologically active substances (BAS) in a liquid multicomponent extract.

**Research Methods.** The objects of the research are experimental samples of liquid multicomponent extract. To identify BAS in the studied extract, the method of thin-layer chromatography (TLC) was used, as the stationary phase, thin-layer Silica gel 60 plates from Merk were used. The quantitative content of the main BAS in the extract was determined by absorption spectrophotometry using a UV-2600 spectrophotometer, Japan.

**Results and Discussion.** The studied extract consists of 10 plants that contain a significant amount of biologically active compounds of the flavonoid structure, including the pot marigold flowers, common horsetail grass, horse-heal rhizomes, heath speedwell grass, common chicory roots, and garden parsley fruits. The rhizomes of tormentils are rich in tannins, the fruits of common fennel contain essential oil, and shepherd's purse contains compounds of a polyphenolic structure. By the method of thin-layer chromatography, in comparison with marker substances, the presence of flavonoid substances similar in structure to luteolin and rutin was proven in the multicomponent liquid extract; acids of the polyphenolic structure, similar in structure to chlorogenic acid; substances similar in structure to tannins (catechin) and polysaccharides (fructose). Techniques have been developed to determine the quantitative content of flavonoid substances in plant liquid extract, in terms of luteolin (not less than 0.22 %) – by spectrophotometric method; substances of the polyphenolic structure, in terms of gallic acid (not less than 1.04 %) – by the spectrophotometric method; the content of phenolic compounds, in terms of pyrogallol (not less than 0.032 %) – by the spectrophotometric method.

**Conclusions.** As a result of experimental studies, methods of identification and quantitative determination of the content of the main biologically active substances in a multicomponent liquid extract were developed.

KEY WORDS: liquid multicomponent extract; identification; quantitative determination.