



УДК 615.014.07:615.451.16:582.635.3:547.466

DOI <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2022.1.13052>

ДОСЛІДЖЕННЯ ЗІ СТАНДАРТИЗАЦІЇ ЗОЛОТОТИСЯЧНИКА МАЛОГО ТРАВИ СУХОГО ЕКСТРАКТУ

Л. В. Вронська, І. А. Регалова, М. М. Михалків, А. Є. Демид, І. Б. Івануса

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

vronska_liudmyla@ukr.net

ІНФОРМАЦІЯ

Надійшла до редакції / Received:
10.02.2022

Після доопрацювання / Revised:
14.02.2022

Прийнято до друку / Accepted:
15.02.2022

Ключові слова:

золототисячник малий;
трава;
сухий екстракт;
секоіридоїди;
флавоноїди;
хроматографія;
спектрофотометрія.

АНОТАЦІЯ

Мета роботи. Дослідження можливості ідентифікації і кількісної оцінки золототисячника малого трави сухого екстракту.

Матеріали і методи. Матеріал дослідження – сухий екстракт, отриманий методом дробної мацерації з золототисячника малого трави; екстрагент – етанол (70 %, об/об), співвідношення сировина – екстрагент – 1:10, кратність екстрагування – 5, тривалість одного екстрагування – 24 год; концентрування рідкого витягу – з ротаційним випарювачем за температури 50 °С; висушування – за температури 45–50 °С у сушильній шафі; DER – (3,5–4,5). Дослідження здійснювали методом тонкошарової хроматографії, кількісне визначення флавоноїдів – спектрофотометрично.

Результати й обговорення. Якісні дослідження, проведені методом тонкошарової хроматографії, дали змогу виявити глікозиди секоіридоїдів, зокрема, ідентифіковано свертіамарин. Серед флавоноїдів ідентифіковано рутин. Кількісний вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин і суху речовину у досліджуваному екстракті становив (6.91±0.04) %.

Висновки. У проєкт специфікації золототисячника малого трави сухого екстракту запропоновано внести ТШХ-методику ідентифікації глікозидів секоіридоїдів і флавоноїдів та спектрофотометричну методику кількісного визначення флавоноїдів.

Вступ. Лікарська рослинна сировина (ЛРС) золототисячник і золототисячника трава описані у другому виданні Державної фармакопеї України (ДФУ), відповідна монографія у якій гармонізована з вимогами Європейської фармакопеї ЕФ [1–3]. Разом із тим, існують численні дослідження цієї ЛРС вченими різних країн [4–13]. Аналіз повідомлень вказує, що ідентифікаційним класом біологічно активних речовин (БАР) золототисячника є глікозиди секоіридоїдів [3–7, 9–11, 13].

Монографія на золототисячник, наведена у ДФУ, відповідає вимогам Європейської фармакопеї і міс-

тять показники: опис (анатомо-морфологічний); ідентифікація глікозидів секоіридоїдів методом тонкошарової хроматографії із використанням силікагелю F254 і системи розчинників вода Р – мурашина кислота безводна – етилформіат (4:8:88); випробування на сторонні домішки (не більше 3 %); як кількісну оцінку якості – показник гіркоти (не менше 2000); втрата в масі при висушуванні (не більше 10 %); загальна зола (не більше 6 %). Ідентифікацію хроматографічним методом здійснюють за наявності у хроматографічному профілі випробовуваного розчину свертіамарину.

Зважаючи на сучасні тенденції і підходи та забезпечуючи доступність до стандартних речовин-свідків, тест «Ідентифікація» у національній частині монографії запропоновано здійснювати з використанням фармакопейного стандартного зразка ДФУ золототисячника екстракту, щоб уникнути застосування стандартного зразка свертіамарину. Також змінено систему розчинників – замість етилформиату як непоширеного розчинника запропоновано застосовувати етил-ацетат, зберігаючи при цьому співвідношення компонентів рухомої фази. Таким чином, при ідентифікації із застосуванням фармакопейного стандартного зразка ДФУ золототисячника екстракту у хроматографічному профілі випробовуваного розчину повинні спостерігатися такі ж зони, що й для розчину порівняння. Отже, при ідентифікації сировини золототисячника можна використовувати обидва складу рухомої фази і застосовувати як стандартний зразок свертіамарину, так і стандартний зразок ДФУ золототисячника екстракту.

Серед вторинних метаболітів надземної частини *Centaurium erythraea* Rafn. особливе значення мають поліоксигеновані ксантони, іридоїди, кумарини, лігнани і фенольні сполуки [4–11].

У свою чергу, це сукупно залишає актуальним і практично значущим продовження дослідження цієї сировини та її лікарських засобів саме у розрізі напруження фактичного матеріалу щодо присутності і вмісту різних класів БАР та напруження кількісних критеріїв якості.

Мета роботи – дослідження можливості ідентифікації і кількісної оцінки золототисячника малого трави сухого екстракту.

Матеріали і методи. Матеріал дослідження – екстракт сухий, отриманий методом дробної мацерації з золототисячника малого трави; екстрагент – етанол (70 %, об/об), співвідношення сировина – екстрагент – 1:10, кратність екстрагування – 5, тривалість одного екстрагування – 24 год; витяги згущувались у ротаційному випарювачі і висушувались при температурі 45–50 °C; DER – (3,5–4,5) : 1. Вивчення складу здійснювали методом тонкошарової хроматографії, кількісне визначення флавоноїдів – спектрофотометрично.

При ідентифікації екстракту сухого було використано метод тонкошарової хроматографії (ТШХ). Для ТШХ-досліджень використовували хроматографічні пластинки Silica Gel F₂₅₄ («Merck», Німеччина), хроматографічну камеру «CAMAG», прилад для нанесення проб Linomat 5 («CAMAG», Швейцарія), лампу для перегляду хроматограм в ультрафіолетовому світлі «CAMAG» і стандартні зразки свертіамарину, фенолкарбонових кислот та флавоноїдів. Точні наважки стандартних зразків розчиняли у відповідних об'ємах метанолу. Кількісне визначення флавоноїдів здійснювали методом спектрофотометрії із застосуванням спектрофотометра Cary-50 UV-Vis («Agilent Technologies», США).

Результати й обговорення. У процесі стандартизації отриманого екстракту необхідно визначитися із якісним та кількісним складом найважливіших біологічно активних сполук, з яким пов'язують біологічну активність і дію та застосування. З даних літератури випливає, що це секоіридоїди. Наявність «гіркот» – глікозидів секоіридоїдів, визначає застосування і призначення у медичній практиці золототисячника – при легких диспептичних/шлунково-кишкових розладах та тимчасовій втраті апетиту [11]. У звіті ЕМА (Європейська медична агенція) вказані лікарські засоби золототисячника: подрібнена сировина; спорошкова сировина; рідкий екстракт (DER 1:1), отриманий із застосуванням 25 % (об/об) етанолу як розчинника; настойка (DER 1:5), отримана із застосуванням 70 % (об/об) етанолу як розчинника; густий екстракт (DER 1:10), отриманий із застосуванням води як розчинника [11].

Таким чином, з огляду на відомі наукові дані та враховуючи вимоги монографії ДФУ на золототисячника траву, було вирішено провести ідентифікацію глікозидів секоіридоїдів, адаптовуючи хроматографічну методику ДФУ, а саме розробивши алгоритм пробопідготовки досліджуваного екстракту. Результати вивчення якісного складу представлено на рисунку 1. Представлені хроматограми вказують на присутність глікозидів секоіридоїдів – виконуються фармакопейні вимоги, відповідно до національної частини монографії на золототисячника траву, а саме у треках метанольних і етанольно-водних випробовуваних розчинів в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм ідентифікується чітка зона поглинання на одному рівні із зоною свертіамарину у треці розчину порівняння. На треках хроматограм випробовуваних розчинів, оброблених анісового альдегіду розчином, ідентифікуються чіткі зони свертіамарину та інших секоіридоїдів – у повній відповідності до представленої у ДФУ схеми хроматограми. За даними хроматограм, представлених на рисунку 1, і метанол, і 70 % етанол можуть бути використані при приготуванні випробовуваних розчинів для хроматографування, оскільки кількість зон у треках і їхня чіткість є однаковою.

Зважаючи, що нанесення на пластинку метанольних розчинів є легшим як у ручному, так і в автоматизованому варіанті, порівняно зі спиртово-водними, то остаточно було обрано метанол як розчинник для приготування випробовуваних розчинів.

Таким чином, отримані результати дослідження дали змогу запропонувати ідентифікацію золототисячника екстракту шляхом виявлення секоіридоїдів згідно з нижченаведеною методикою.

Методика ідентифікації секоіридоїдів золототисячника малого трави екстракту

Випробовуваний розчин. 0,1 г подрібненого екстракту поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, додають 7 мл метанолу Р, розчиняють і доводять об'єм

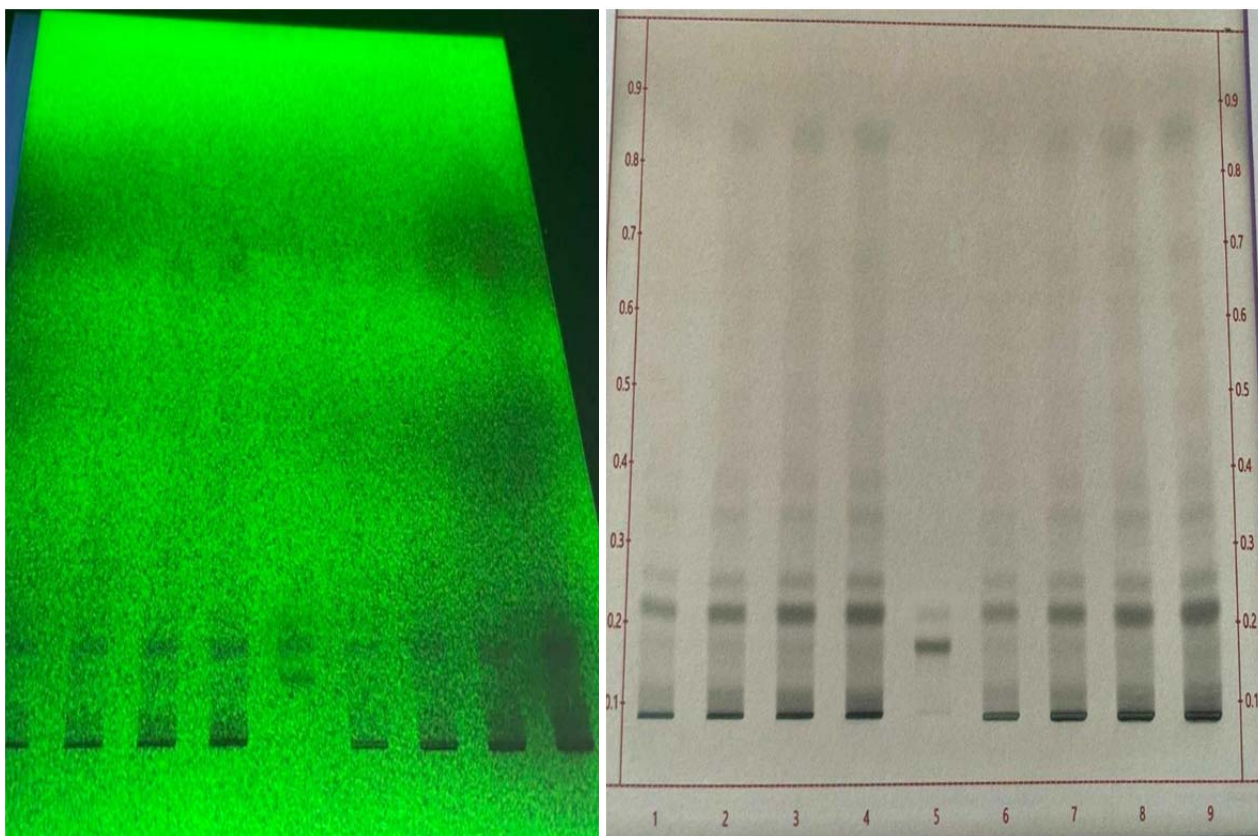


Рис. 1. Хроматограми, отримані при ідентифікації глікозидів секоіридоїдів золототисячника малого трави екстракту. 1 – переглядання в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм, 2 – переглядання у денному світлі після обробки анісового альдегіду розчином Р. Треки 1–4 – 5, 10, 15 і 20 мкл випробовуваного розчину у метанолі Р; трек 5 – розчин порівняння (рутин Р і свертіамарин Р знизу догори) у метанолі Р; треки 6–9 – 5, 10, 15 і 20 мкл випробовуваного розчину у 70 % етанолі Р.

розчину тим же розчинником до позначки та перемішують. Отриманий розчин фільтрують через шприц-фільтр PTFE (0,25 мкм).

Нанесення: 15 мкл (або 7,5 мкл), смугою.

Розчин порівняння. 1 мг рутину Р і 1 мг свертіамарину Р розчиняють у метанолі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 2 мл.

Нанесення: 10 мкл (або 5 мкл), смугою.

Нерухома фаза: ТШХ-пластинка із шаром силікагелю F_{254} Р (5-40 мкм) або ТШХ-пластинка із шаром силікагелю F_{254} Р (2-10 мкм).

Рухома фаза: вода Р – мурашина кислота безводна Р – етилацетат Р (4:8:88).

Відстань, що має пройти рухома фаза: 12 см (або 6 см) від лінії старту у ненасиченій камері.

Висушування: на повітрі.

Виявлення А: переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм.

На хроматограмі випробовуваного розчину в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм повинна виявлятися чітка зона поглинання на рівні зони свертіамарину на хроматограмі розчину порівняння, а

також можуть виявлятися інші, менш інтенсивні, зони поглинання.

Виявлення В: обприскують анісового альдегіду розчином Р і нагрівають при температурі від 100 до 105 °С впродовж 5–10 хв, переглядають при денному світлі.

На хроматограмі випробовуваного розчину у видимому світлі повинна виявлятися чітка зона коричнево-сірого забарвлення на рівні зони свертіамарину на хроматограмі розчину порівняння, а також можуть виявлятися інші, менш інтенсивні, зони коричнево-сірого забарвлення, розташовані вище і нижче зони свертіамарину.

Зважаючи на присутність флавоноїдів у складі золототисячника трави, а відповідно – й екстракту, було вирішено ідентифікувати їх. Для їхнього виявлення було використано метод ТШХ. При ТШХ-дослідженні флавоноїдів систему розчинників мурашина кислота безводна – вода – етилацетат (6:9:90) було обрано як рухома фаза. Такий склад рухомої фази дав змогу досягти чіткого розділення зон фенольних сполук. Результати ідентифікації представлено на рисунку 2.

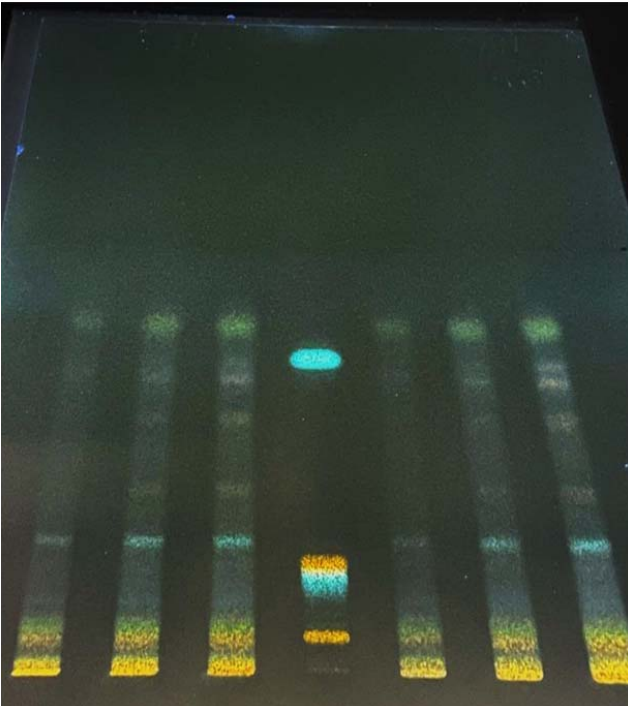


Рис. 2. Хроматограми, отримані при ідентифікації флавоноїдів золототисячника малого трави екстракту. Переглядання в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм, після обробки розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру Р у метанолі Р, а потім розчином 50 г/л макроголу 400 Р у метанолі Р. Треки 1–3 – 10, 15 і 20 мкл випробовуваного розчину у метанолі Р; трек 4 – розчин порівняння (рутин Р, хлорогенова кислота Р, гіперозид Р і кофейна кислота Р знизу догори) у метанолі Р; треки 5–7 – 10, 15 і 20 мкл випробовуваного розчину у 70 % етанолі Р.

У треках випробовуваних розчинів чітко ідентифікується рутин як зона жовто-оранжевої флуоресценції на рівні зони рутину у треці розчину порівняння. Вище зон гіперозиду та кислоти кофейної виявляються дві чіткі зони блакитної та жовто-салатової флуоресценції, не ідентифікованих гідроксикоричної кислоти і флавоноїда, відповідно. Таким чином, для ідентифікації золототисячника екстракту можна також пропонувати виявлення рутину і цих двох сполук як ідентифікаційних маркерів даного екстракту за такою методикою.

Методика ідентифікації флавоноїдів і гідроксикоричних кислот золототисячника малого трави екстракту

Нерухома фаза: ТШХ-пластинка із шаром силікагелю F_{254} Р (5–40 мкм) або ТШХ-пластинка із шаром силікагелю F_{254} Р (2–10 мкм).

Рухома фаза: мурашина кислота безводна Р – вода Р – етилацетат Р (6:9:90).

Випробовуваний розчин: 0,1 г подрібненого екстракту поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, додають 7 мл метанолу Р, розчиняють і доводять об'єм

розчину тим самим розчинником до позначки та перемішують. Отриманий розчин фільтрують через шприц-фільтр PTFE (0,25 мкм).

Нанесення: 15 мкл (або 7,5 мкл), смугою.

Розчин порівняння: 2,5 мг рутину Р, 2,5 мг гіперозиду Р, 3 мг кислоти хлорогенової, 3 мг кислоти кофейної розчиняють у метанолі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 5 мл.

Нанесення: 10 мкл (або 5 мкл), смугою.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 10 см (або 5 см) від лінії старту в насиченій камері.

Висушування: при температурі (100 – 105) °С впродовж 10 хв.

Виявлення: обробляють розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру Р у метанолі Р, потім розчином 50 г/л макроголу 400 Р у метанолі Р і через 30 хв переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

На хроматограмі випробовуваного розчину у видимому світлі повинна виявлятися чітка зона жовто-оранжевої флуоресценції на рівні зони рутину на хроматограмі розчину порівняння, а також мають виявлятися зони блакитної флуоресценції і жовто-салатової флуоресценції вище зон, відповідно, гіперозиду і кислоти кофейної на хроматограмі розчину порівняння. Можуть виявлятися інші, менш інтенсивні, зони жовто-оранжевої і блакитної флуоресценції (інші флавоноїди і гідроксикоричні кислоти).

Ідентифікація флавоноїдів дала змогу запропонувати для кількісної оцінки екстракту визначення їхнього вмісту. Були проведені дослідження із вибору маси наважки та розбавлення, щоб досягати значення поглинання у діапазоні найменшої похибки вимірювання. У результаті спектрофотометрування випробовуваних розчинів отримано такі спектри поглинання (рис. 3).

Вибір рутину як кількісного маркера стандартизації зумовлений його наявністю в досліджуваному екстракті, а також доступністю для лабораторій. Положення максимумів поглинання випробовуваного розчину і розчину порівняння дещо різняться. Це зумовлено, очевидно, присутністю у досліджуваному екстракті, як впливає із хроматографічного вивчення його складу, інших флавоноїдів, комплекси яких з алюмінію хлоридом характеризуються гіпсоформно зміщеним положенням максимуму поглинання відносно максимуму поглинання рутину за тих же умов. Таким чином, для кількісного перерахунку вмісту флавоноїдів пропонується застосувати рутин, вимірюючи абсорбцію його розчину за довжини хвилі 416 нм, тоді як абсорбцію випробовуваних розчинів необхідно вимірювати за довжини хвилі 408 нм. Абсорбцію випробовуваних розчинів і розчину порівняння треба вимірювати відносно компенсаційних розчинів відповідно до нижченаведеної методики.

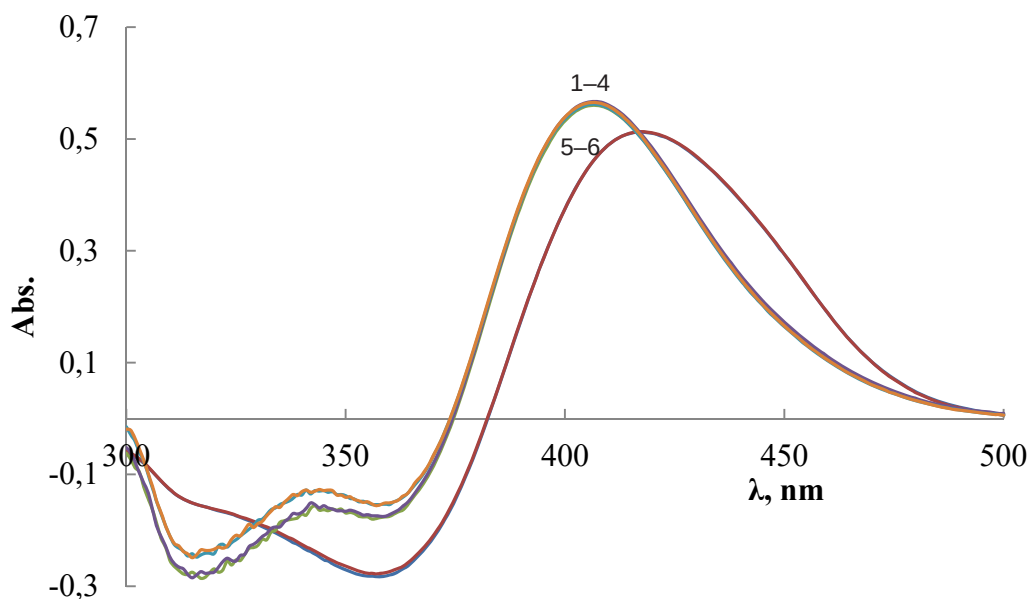


Рис. 3. Електронні спектри поглинання, отримані при виборі умов пробопідготовки та визначення кількісного вмісту флавоноїдів у золототисячника малого трави екстракті сухому. 1–4 – спектри випробовуваних розчинів (дві різні наважки і дві аліквоти відповідно, λ_{\max} = 408 нм, $A=0,560-0,567$); 5, 6 – спектри розчину порівняння рутину (одна наважка, дві аліквоти, λ_{\max} = 416 нм, $A=0,510-0,512$).

Методика кількісного визначення флавоноїдів у золототисячника екстракті сухому

Вихідний розчин. 0,2 г (точна наважка) здрібненого на порошок екстракту сухого (355) (2.9.12) поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, додають 30 мл етанолу (70 %, об/об), розчиняють при перемішуванні, доводять етанолом (70 %, об/об) об'єм розчину в мірній колбі до позначки. Отриманий розчин фільтрують через паперовий фільтр.

Випробовуваний розчин. 2,0 мл вихідного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 2,0 мл 3 % розчину алюмінію хлориду в етанолі (70 %, об/об) Р і доводять об'єм розчину до позначки етанолом (70 %, об/об) Р, перемішують.

Компенсаційний розчин. 2,0 мл вихідного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл і доводять об'єм розчину до позначки етанолом (70 %, об/об) Р, перемішують.

Стандартний розчин рутину. 0,05 г (точна наважка) ФСЗ ДФУ рутину поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл і розчиняють в етанолі (70 %, об/об), доводять об'єм розчину до позначки етанолом (70 %, об/об) Р, перемішують.

Розчин порівняння. 1,0 мл стандартного розчину рутину поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 2,0 мл 3 % розчину алюмінію хлориду і доводять об'єм розчину до позначки етанолом (70 %, об/об) Р, перемішують.

Компенсаційний розчин. 1,0 мл стандартного розчину рутину поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл

і доводять об'єм розчину до позначки етанолом (70 %, об/об) Р, перемішують.

Через 45 хв вимірюють абсорбцію випробовуваного розчину відносно свого компенсаційного розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі 408 нм і розчину порівняння відносно свого компенсаційного розчину при довжині хвилі 416 нм.

Вміст суми флавоноїдів (X, %) в екстракті, в перерахунку на рутин і суху речовину, розраховують за формулою:

$$X = \frac{m_0 \cdot A \cdot 100 \cdot 100}{4 \cdot A_0 \cdot m \cdot (100 - W)},$$

де

m_0 – маса наважки ДФЗ рутину, в грамах;

m – маса наважки екстракту, взятого для аналізу, в грамах;

A – абсорбція випробовуваного розчину;

A_0 – абсорбція розчину порівняння;

W – втрата в масі при висушуванні екстракту, у відсотках.

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин та суху речовину, у досліджуваному екстракті становив $X = (6.91 + 0.04) \%$ (табл.).

Аналіз даних наукової літератури підтверджує важливість біологічно активних сполук – глікозидів секоїридоїдів, ксантонів (близько 20 сполук) та фенольних сполук [4–11], перші з яких є ідентифікаційними маркерами за вимогами ДФУ і ЕФ [1–3]. Серед фенольних сполук у сировині золототисячника присутні флавоноїди і фенольні кислоти [5, 7,

Таблиця

Результати кількісного визначення суми флавоноїдів у золототисячника малого трави екстракті сухому

Маса наважки, г	Вміст, %	Метрологічні характеристики визначення
0,2133	6,86	$\bar{X} = 6.91 \%$ $S^2 = 0.0026$ $S = 0.0509$ $t = 2.78$ $\bar{X} = (6.91 + 0.01) \%$ $\epsilon = 0.58 \%$
0,2100	6,96	
0,2041	6,91	
0,1998	6,90	
0,2023	6,92	

8, 12, 13]. Автори повідомляють про визначення загального вмісту флавоноїдів у золототисячника настойці (екстрагент 70 % етанол, співвідношення сировина : екстрагент – 1:10, мацерація 7 днів) [5]. Спектрофотометрично за довжини хвилі 415 нм і в перерахунку на кверцетин і суху речовину знайдено 3,35 мг кверцетину на 1 г сухої речовини (0,335 %).

При дослідженні водної витяжки золототисячника сировини (екстрагент – вода дистильована, співвідношення сировина : екстрагент – 1:10, кип'ятіння – 10 хв, сухий залишок – 19,3 %) методом рідинної хромато-мас-спектрометрії [7] ідентифіковано кверцетин. Вивчення фенольних сполук методом високоефективної рідинної хроматографії дало змогу авторам [12] повідомити про виявлення агліконів флавоноїдів кверцетину й кемпферолу та кислот: галової, прокатехової, синрингової, пара-анісової, орто-кумарової, ванільної, ферулової, синапової. Автори повідомляють, що при дослідженні флавоноїдів золототисячника колосоподібного виявлено два нові ацетильовані похідні кверцетину [8]. Методом хромато-мас-спектрометрії автори визначили: флавоноїди – рутин, кверцетин, лютеолін і його 7-О- та 4-глікозиди, ізорамнетин і його 3-О-рутинозид, апігенін і його 7-О-глікозид, кемпферол-3-О-глікозид, діосметин, хризин, нарингенін, кверцетин-3-О- α -L-арабінопіранозид, ізорієнітин, рейнунтрин; фенольні кислоти – хлорогенова, неохлорогенова, хінна, 3,4-дигідроксibenзойна, кофейна, кафтарова [13].

Отримані результати ідентифікації фенольних сполук у досліджуваному екстракті збігаються з даними літератури щодо присутності флавоноїдів, зокрема рутину. Проте в екстракті не виявлено кофей-

ної і хлорогенової кислот, про які зазначається в [13], що може бути пов'язано із різною чутливістю застосовуваних методів. Окремі флавоноїди і гідроксикоричні кислоти присутні в аналізованому екстракті, проте обмежене число застосованих стандартних зразків флавоноїдів і гідроксикоричних кислот не дало змогу їх ідентифікувати на даному етапі дослідження. Проте це робить перспективним подальше дослідження золототисячника малого трави сухого екстракту із застосуванням більш селективних аналітичних методів.

Таким чином, провівши дослідження якісного складу біологічно активних сполук і виконавши кількісне визначення вмісту флавоноїдів золототисячника трави екстракту сухого, можна запропонувати внести у проєкт специфікації для об'єктивного контролю його якості ідентифікацію секоїридоїдів та флавоноїдів і кількісне визначення флавоноїдів.

Висновки. 1. У процесі дослідження золототисячника малого трави сухого екстракту встановлено присутність глікозидів секоїридоїдів, флавоноїдів і гідроксикоричних кислот.

2. Хроматографічний профіль глікозидів секоїридоїдів відповідає фармакопейним вимогам, діючим для золототисячника сировини.

3. Для ідентифікації золототисячника малого трави сухого екстракту запропоновано ТШХ-методику секоїридоїдів і флавоноїдів.

4. Для кількісного оцінювання якості золототисячника малого трави сухого екстракту запропоновано спектрофотометричну методику визначення флавоноїдів у перерахунку на рутин.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

RESEARCH ON STANDARDIZATION OF THE CENTAURIUM ERYTHRAEA HERB DRY EXTRACT

L. V. Vronska, I. A. Rehalova, M. M. Mikhalkiv, A. Ye. Demyd, I. B. Ivanusa

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University
vronska_liudmyla@ukr.net

The aim of the work. Investigation of the identification and quantification possibility of the Centaurium Erythraea herb dry extract.

Materials and Methods. The dry extract obtained by the fractional maceration method of Centaurium Erythraea herb was as research material; extractant – ethanol (70 %, v/v), the ratio of raw materials – extractant was 1:10, the extraction rate – 5, the duration of the one extraction – 24 hours; concentration of liquid extract was performed with a rotary evaporator at 50 °C temperature; drying – at a temperature of 45–50 °C in an oven; DER – (3,5-4,5): 1. Qualitative studies were performed by thin layer chromatography, quantitative determination of flavonoids – spectrophotometrically.

Results and Discussion. Qualitative studies performed by TLC allowed detecting the secoiridoid glycosides, in particular, swertiamarin was identified. Rutin was identified among flavonoids. The quantitative content of flavonoids in terms of rutin and dry matter in the test extract was (6.91±0.04) %.

Conclusions. It is proposed to include TLC methods for the secoiridoids and flavonoids identification and spectrophotometric methods for the flavonoids quantitative determination in the draft specification for the Centaurium Erythraea herb dry extract.

Key words: Centaurium Erythraea; herb; dry extract; secoiridoids; flavonoids; chromatography; spectrophotometry.

Список бібліографічних посилань

1. Державна Фармакопея України: в 3 т. 2-е вид. – Доповнення 1. – Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. С. 164–166.
2. European Pharmacopoeia. 10th Edition. Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care, 2017.
3. Гармонізація вимог до якості трави золототисячника з вимогами монографії «Сентауру» Євромейської фармакопеї / Я. О. Проскурова та ін. *Управл., економіка та забезпечення якості в фармації*. 2016. № 1. С. 26–30.
4. A novel comparative chromatographic research of secoiridoid glycosides in two species of centaury herb. S. Gubar, A. Materiienko, L. Ivanauskas et al. *Science-Rise: Pharmaceutical Science*. 2021. Iss. 3. P. 28–33.
5. Mihaylova D., Vrancheva R., Popova A. Phytochemical profile and in vitro antioxidant activity of *Centaurium erythraea* Rafn. *Bulgarian Chemical Communications*. 2019. Vol. 51, Iss. A. P. 95–100.
6. Development of a new approach for standardization of the herb *Centaurium erythraea* Rafn. by high performance liquid chromatography. S. M. Gubar, A. S. Materiienko, N. M. Smielova et al. *Turk. J. Pharm, Sci*. 2020. Vol. 17, Iss. 6. P. 593–598.
7. Bioactivities of *Centaurium erythraea* (Gentianaceae) decoctions: Antioxidant tivity, enzyme inhibition and docking studies. L. Guedes, P. Reis, M. Machuqueiro et al. *Molecules*. 2019. Vol. 24. 3795e.
8. Two new acetylated flavonoid glycosides from *Centaurium spicatum* L. A. E. Allam, M. A. El-Shanawany, E. Y. Backheet et al. *J. Nat. Med.* 2012 Vol. 66, Iss. 2. P. 388–393.
9. Isolation and structural elucidation of 5-Formyl-2,3-dihydroisocoumarin from *Centaurium Erythraea* aerial parts. P. Valentão, P. B. Andrade, A. Silva et al. *Natural Products Research*. 2016. Vol. 17, Iss. 5. P. 361–364.
10. New secoiridoid ester of swertiamarin and secoxyloganic acid with hepatoprotective activity from *Centaurium spicatum* L. A. E. Allam, A. M. Nafady, M. A. El-Shanawany et al. *J. Pharm. Pharmacogn. Res.* 2015. Vol. 3, Iss. 3. P. 69–76.
11. European Medicines Agency (EMA/HPMC/277491/2015). Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Assessment report on *Centaurium erythraea* Rafn. s.l, herba. 23 p.
12. Phenolic compounds and in vivo anti-inflammatory activity of aqueous extract of *Centaurium umbellatum* (Gibb.) beck. Flowers in northern Algeria. M. Berrak, R. Gheyouché-Siachi, H. Allali et al. *J. Med. Plant Herb. Ther. Res.* 2017. Iss. 5. P. 18–26.
13. Проскурова Я. О., Губар С. М., Георгіянц В. А. Визначення якісного складу біологічно активних сполук сировини золототисячника звичайного (*Centaurium Erythraea* Rafn.) та золототисячника гарного (*Centaurium ulchellum* (Sw.) Druce) трави методом хромато-мас-спектрометрії. *Управл., економіка та забезпечення якості в фармації*. 2017. № 3. С. 20–24.

References

1. The State Pharmacopoeia of Ukraine: Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center of Quality of Medicinal Products. Ed.2, addition 1. [Derzhavna Farmakopeya Ukrayiny: v 3 t. 2-e vyd. – Dopovnennyya 1] Kharkiv:

- Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center of Quality of Medicinal Products. 2016; Ukrainian.
- European Pharmacopoeia. 10th Edition. Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care. 2017.
 - Proskurova YaO, Gubar SM, Eftifeeva OA, Kotova EE, Kotov AG. [Harmonization of requirements for the quality of centaury herb with the requirements of the monograph "Centaurium" of the European Pharmacopoeia]. Upravlinnia, ekonomika ta zabezpechennia yakosti v farmatsii. 2016;1: 26-30. Ukrainian.
 - Gubar S, Materiienko A, Ivanauskas L, Mishchenko V, Vasylieva O, Georgiyants V. A novel comparative chromatographic research of secoiridoid glycosides in two species of centaury herb. ScienceRise: Pharmaceutical Science. 2021;3: 28-33. DOI: 10.15587/2519-4852.2021.235774
 - Mihaylova D, Vrancheva R, Popova A. Phytochemical profile and in vitro antioxidant activity of *Centaureum erythraea* Rafn. Bulgarian Chemical Communications. 2019;51(A): 95-100.
 - Gubar SM, Materiienko AS, Smielova NM, Budanova L, Georgiyants V. Development of a New Approach for Standardization of the Herb *Centaureum erythraea* Rafn. by High Performance Liquid Chromatography. Turk J Pharm Sci. 2020;17(6): 593-8. DOI: 10.4274/tjps.galenos.2019.71542
 - Guedes L, Reis P, Machuqueiro M, Ressaissi A, Pacheco R, Serralheiro ML. Bioactivities of *Centaureum erythraea* (Gentianaceae) decoctions: Antioxidant activity, enzyme inhibition and docking studies. Molecules. 2019; 24: 3795e. DOI: 10.3390/molecules24203795
 - Allam AE, El-Shanawany MA, Backheet EY, Nafady AM, Takano F, Ohta T. Two new acetylated flavonoid glycosides from *Centaureum spicatum* L. J Nat Med. 2012;66(2): 388-93. DOI: 10.1007/s11418-011-0594-y
 - Valentão P, Andrade PB, Silva A, Moreira MM, Seabra RM. Isolation and structural elucidation of 5-formyl-2,3-dihydroisocoumarin from *Centaureum erythraea* aerial parts. Natural Products Research. 2016;17(5): 361-4. DOI: 10.1080/1057563031000081938
 - Allam AE, Nafady AM, El-Shanawany MA, Takano F, Ohta T. New secoiridoid ester of swertiamarin and secoxyloganic acid with hepatoprotective activity from *Centaureum spicatum* L. J Pharm Pharmacogn Res. 2015;3(3): 69-76.
 - European Medicines Agency (EMA/HPMC/277491/2015). Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Assessment report on *Centaureum erythraea* Rafn. s.l, herba.
 - Berrak M, Gheyouché-Siachi R, Allali H, Ouafi S, Bendifallah L, Lazeli N. Phenolic compounds and in vivo anti-inflammatory activity of aqueous extract of *Centaureum umbellatum* (Gibb.) Beck. Flowers in northern Algeria. J Med Plant Herb Ther Res. 2017;5: 18-26.
 - Proskurova YaO, Gubar SM, Georgiyants V. [Qualitative composition determination of the biologically active compounds in raw material of *Centaureum erythraea* Rafn. and *Centaureum pulchellum* (Sw.) Druce herb by chromatography-mass spectrometry]. Upravlinnia, ekonomika ta zabezpechennia yakosti v farmatsii. 2017;3: 20-4. Ukrainian.

Відомості про авторів

Вронська Л. В. – канд. хім. наук, доцент кафедри фармації, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, Україна. E-mail: vronska_liudmyla@ukr.net, ORCID 0000-0002-7223-6966

Регалова І. А. – магістрантка кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, Україна. E-mail: regalova_ivan@tdmu.edu.ua

Михалків М. М. – канд. біол. наук, доцент кафедри фармацевтичної хімії, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, Україна. E-mail: mikhalkiv@tdmu.edu.ua, ORCID 0000-0002-8574-6412

Демид А. Є. – канд. хім. наук, доцент кафедри загальної хімії, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, Україна. E-mail: demyd@tdmu.edu.ua, ORCID 0000-0001-8275-1307

Івануса І. Б. – канд. біол. наук, доцент кафедри фармацевтичної хімії, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, Україна. E-mail: ivanusa@tdmu.edu.ua, ORCID 0000-0002-9803-588X

Information about the authors

Vronska L. V. – PhD (Chemistry), Associate Professor of the Pharmacy Department, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine. E-mail: vronska_liudmyla@ukr.net, ORCID 0000-0002-7223-6966

Rehalova I. A. – undergraduate, the Pharmacy Management, Economics and Technology Department, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine. E-mail: regalova_ivan@tdmu.edu.ua

Mikhalkiv M. M. – PhD (Biology), Associate Professor of the Pharmaceutical Chemistry Department, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine. E-mail: mikhalkiv@tdmu.edu.ua, ORCID 0000-0002-8574-6412

Demyd A. Ye. – PhD (Chemistry), Associate Professor of the General Chemistry Department, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine. E-mail: demyd@tdmu.edu.ua, ORCID 0000-0001-8275-1307

Ivanusa I. B. – PhD (Biology), Associate Professor of the Pharmaceutical Chemistry Department, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine. E-mail: ivanusa@tdmu.edu.ua, ORCID 0000-0002-9803-588X