

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Кафедра медичної та фармацевтичної хімії

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
за спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація
спеціалізація 226.01 Фармація
на тему:

**ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ФЛАВОНОЇДІВ У
СУЦВІТТЯХ *TARGETES PATULA L.* СОРТУ “SUPER HERO ORANGE
FLAME”**

Виконала: здобувачка вищої освіти
V курсу, 3 групи
фармацевтичного факультету, спеціальність
226 Фармація, промислова фармація,
заочна форма здобуття вищої освіти
ПОДОЛЬЧУК Марія Юріївна

Керівник: доцент закладу вищої освіти
кафедри медичної та фармацевтичної хімії,
кандидат біологічних наук,
ПЕРЕПЕЛИЦЯ Олеся Орестівна

Рецензенти: доцент закладу вищої освіти
кафедри медичної та фармацевтичної хімії,
кандидат фармацевтичних наук,
ГРУДЬКО Володимир Олексійович
доцент закладу вищої освіти кафедри
біоорганічної і біологічної хімії та клінічної
біохімії, кандидат біологічних наук,
ЯРЕМІЙ Ірина Миколаївна

Допущено до захисту:

Протокол № ___ від __.0__.2026 р.

Завідувач кафедри _____ проф. Віталій ЧОРНОУС

Зміст

ВСТУП		4
РОЗДІЛ 1	Ботаніко-фармакогностична характеристика, хімічний склад, фармакологічні властивості та застосування в медицині <i>Tagetes patula</i> L.	
	1.1. Ботаніко-фармакогностична характеристика <i>Tagetes patula</i> L.	
	1.2. Хімічний склад <i>Tagetes patula</i> L.	
	1.3. Фармакологічні властивості та застосування у медицині <i>Tagetes patula</i> L.	
	1.4. Загальна характеристика, структура, властивості флавоноїдів	
	1.5. Основні представники флавоноїдів в рослинах <i>Tagetes patula</i> L.	
РОЗДІЛ 2	Сучасні підходи до аналізу флавоноїдів у рослинній сировині	
	2.1. Ідентифікація флавоноїдів у рослинній сировині	
	2.2. Кількісне визначення флавоноїдів у рослинній сировині	
	2.3. Переваги та недоліки спектрофотометричного методу	
	2.4. Сучасні підходи до валідації спектрофотометричних методик аналізу БАР у рослинній сировині	
РОЗДІЛ 3	Розробка методик ідентифікації та кількісного визначення суми флавоноїдів в <i>Tagetes patula</i> L. Сорту «Super Hero Orange Flame»	
	3.1. Заготівля лікарської рослинної сировини	
	3.2. Методики експерименту	
	3.2.1. Ідентифікація флавоноїдів у суцвіттях культивованих рослин <i>Tagetes patula</i> L. сорту «Super Hero Orange Flame» методом абсорбційної спектрофотометрії	

	<p>3.2.2. Визначення сухого залишку</p> <p>3.2.3. Методика експерименту визначення суми флавоноїдів в суцвіттях культивованих рослин виду <i>Tagetes patula</i> L. сорту «Super Hero Orange Flame».</p> <p>3.2.4. Визначення суми флавоноїдів у суцвіттях культивованих рослин виду <i>Tagetes patula</i> L. сорту «Super Hero Orange Flame» методом абсорбційної спектрофотометрії</p> <p>3.3. Вивчення валідаційної характеристики «Лінійність» для розробленої спектрофотометричної методики визначення суми флавоноїдів у суцвіттях культивованих рослин виду <i>Tagetes patula</i> L. сорту «Super Hero Orange Flame»</p> <p>3.4. Результати кількісного визначення суми флавоноїдів у суцвіттях <i>Tagetes patula</i> L. var. «Super Hero Orange Flame»</p>	
ВИСНОВКИ		
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ		

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

БАР – біологічно активна речовина

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

ДФУ – Державна Фармакопея України

ЛЗ – лікарський засіб

ЛРС - лікарська рослинна сировина

МКЯ – методи контролю якості

ТШХ – тонкошарова хроматографія

ВСТУП

Актуальність. Сучасний фармацевтичний ринок вимагає постійного оновлення асортименту багатокомпонентних лікарських засобів на основі субстанцій рослинного походження. Довіра пацієнтів при лікуванні та профілактиці захворювань до фітопрепаратів пов'язана з м'яким впливом на організм людини природного комплексу біологічно активних речовин (БАР) у порівнянні з індивідуальними хімічними речовинами, а також віра в нешкідливість при тривалому застосуванні, що й спонукає більшість пацієнтів віддавати перевагу саме рослинним засобам [1]. Одним з перспективних фітооб'єктів для розроблення нових лікарських засобів є рослини роду Чорнобривці (*Tagetes* L.) з родини Айстрові (*Asteraceae*). У науковій літературі описано 59 видів чорнобривців, серед яких на території України найчастіше культивують чорнобривці прямостоячі (*Tagetes erecta* L.), чорнобривці розлогі (*Tagetes patula* L.) та чорнобривці вузьколисті (*Tagetes tenuifolia* L.) [2-4]. Терапевтичний потенціал цих рослин пов'язують з наявністю понад 100 БАР, серед яких фенольні похідні, фенілпропаноїди, тритерпеноїди, стероїди, алкалоїди, флавоноїди, каротиноїди, мінерали (Se, Fe, P, Mg, K, Au, Zn), вітаміни А, Е, С, В9, Р, полісахариди та органічні кислоти [5]. Завдяки такому складу екстракти суцвіть і трави рослин *Tagetes* L. виявляють антиоксидантну, протизапальну, протимікробну, сечогінну та глюкозознижувальну дію [6], сприяють зміцненню кровоносних судин, мають гепатопротекторний ефект та заспокоюють нервову систему при депресіях і стресах, а також ефективні при лікуванні патологій підшлункової залози, зокрема цукрового діабету та панкреатиту [7, 8]. Чисельна кількість видів та сортів рослин *Tagetes* L., а також широкий арсенал в них БАР робить рослини цього роду цікавими об'єктами наукових досліджень [9] з перспективою створення нових лікарських засобів рослинного походження. Окрім того, цікавим є питання щодо хімічного складу рослин окремих нещодавно виведених сортів, зокрема *Tagetes patula* L., сорту «Super Hero Orange Flame» (Виробник Venary, Німеччина). Важливим аспектом

стандартизації рослинної сировини та фітопрепаратів є розробка обґрунтованих методик якісного та кількісного визначення БАР. Такий підхід забезпечує надійну базу для інтеграції нових лікарських засобів у медичну практику.

Об'єкт дослідження. Висушені суцвіття рослин *T. patula* L. сорту «Super Hero Orange Flame», заготовлені в 2024-2025 рр. у період цвітіння.

Предмет дослідження. Ідентифікація та визначення кількісного вмісту флавоноїдів у суцвіттях *T. patula* L. сорту «Super Hero Orange Flame».

Мета дослідження. Встановити наявність та кількісний вміст флавоноїдів у суцвіттях *T. patula* L. сорту «Super Hero Orange Flame» методом абсорбційної спектрофотометрії та оцінити перспективність цього сорту як джерела флавоноїдів.

Завдання дослідження. 1. Провести ідентифікацію флавоноїдів у суцвіттях рослин *T. patula* L. сорту «Super Hero Orange Flame». 2. Розробити та провести валідаційні дослідження методики кількісного визначення суми флавоноїдів у перерахунку на домінуючий стандарт методом абсорбційної спектрофотометрії. 3. Встановити кількісний вміст суми флавоноїдів у суцвіттях рослин *T. patula* L. сорту «Super Hero Orange Flame». 4. Оцінити перспективність використання досліджуваного виду чорнобривців для створення нових лікарських засобів або дієтичних добавок.

Методи дослідження. Аналітичні методи пробопідготовки (подрібнення, екстрагування), абсорбційна спектрофотометрія.

Практичне значення отриманих результатів. Розроблена методика спектрофотометричного визначення суми флавоноїдів може бути використана для об'єктивної стандартизації сировини, а встановлені параметри екстракції - для оптимізації технології одержання фармацевтичними підприємствами фітопрепаратів. Отримані результати дозволять провести фітохімічне обґрунтування перспектив використання нового сорту *T. patula* L. як джерела флавоноїдів.

Елементи наукових досліджень. Встановлення наявності та кількісне визначення флавоноїдів у суцвіттях *T. patula* L. сорту «Super Hero Orange Flame» за методом абсорбційної спектрофотометрії.

Апробація результатів дослідження і публікації. Основні аспекти дослідження висвітлені в статті, поданої на рецензування до редакції журналу «Медична та клінічна хімія».

Структура і обсяг кваліфікаційної роботи. Робота складається з трьох розділів. У першому розділі наведена характеристика чорнобривців розлогих та їх хімічний склад, у другому – висвітлені сучасні методи аналізу флавоноїдів, у третьому - наведено експериментальні результати дослідження складу рослинної сировини та представлено елементи валідації адаптованої методики кількісного визначення суми флавоноїдів.

РОЗДІЛ 1

БОТАНІКО-ФАРМАКОГНОСТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД, ФАРМАКОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА ЗАСТОСУВАННЯ В МЕДИЦИНІ *TAGETES PATULA L.*

1.1. Ботаніко-фармакогностична характеристика *Tagetes patula L.*

Чорнобривці розлогі (*Tagetes patula L.*) належать до родини Айстрові (*Asteraceae*). Це однорічні трав'янисті рослини, що характеризується компактною або розлогою формою куща. Стебло прямостояче, розгалужене, забарвлене у темно-зелений колір, висота стебла варіює залежно від сорту від 15-20 см (низькорослі сорти) до 60 см. Листки розташовані супротивно, мають непарноперисторозсічену форму з вузькими ланцетними частками, краї яких пилчасто-зубчасті. Характерною особливістю листків є наявність численних крапчастих напівпрозорих залозок, що продукують ефірну олію зі специфічним терпким ароматом. Суцвіття представлені поодинокими кошиками діаметром 2–5 см на потовщених квітконосах, залежно від сорту можуть бути простими, напівмахровими або махровими. Крайові квітки язичкові, оксамитові, від лимонно-жовтого до червоно-коричневого кольору та червоно-теракотового, часто з характерною двоколірною пігментацією. Коренева система мичкувата, інтенсивно розгалужена [10].



Рослини виведеного німецькими селекціонерами сорту «Super Hero Orange Flame» є карликовим гібридом висотою 15...20 см німецької селекції із великими, ажурними махровими квітками 5-6 см в діаметрі, швидкоросла, світло і теплолюбна, невибаглива до ґрунту та вологи рослина. Посів у відкритий ґрунт проводять у травні, коли мине загроза заморозків на глибину 1,5-2 см. Сходи з'являються через 5-6 днів, пікірування проводять у фазі 2-3 справжніх листочків.

1.2. Хімічний склад *Tagetes patula* L. Хімічний склад *Tagetes patula* L. відзначається надзвичайною багатокomпонентністю. Фармакогностична цінність сировини зумовлена унікальним комплексом понад ста метаболітів. Особливе місце в хімічному профілі відіграють флавоноїди, сумарний вміст яких може досягати 9,43 % у перерахунку на патулетин, а вміст лютеїну — до 80 % від усіх каротиноїдів, що робить чорнобривці розлогі незамінним джерелом для виробництва офтальмологічних та ангіопротекторних засобів [4, 8, 11, 12]. Основними флавоноїдами виду *T. patula* L. є патулетин і патулітрин, а також рутин, кверцетин та лютеолін–7–глікозид. Патулетин відомий своєю здатністю знижувати проникність капілярів, виявляти гіпотензивну та діуретичну активність [4, 13].

Хімічний склад суцвіть *T. patula* L. представлений комплексом біологічно активних сполук. Серед них ідентифіковано амінокислоти: лейцин (0,95%), глютамінову (1,1%) та аспарагінову (0,83%) кислоти. Вітамінна фракція містить аскорбінову кислоту (1,78%), токофероли (0,6%) та каротиноїди (0,005%). Також виявлено кумарини (дигідрокумарин, умбелліферон) та низку фенолкарбонових кислот (галову, хлорогенову, кофейну та інші). Вміст мінеральних речовин у золі квіток розподілений таким чином: макроелементи становлять 47,0%, а мікроелементи (зокрема Se, Fe, Mg, Zn) — 7,28%. Окрім цього, сировина містить значну кількість водорозчинних полісахаридів (16,26 %), а також пектинових речовин (11,87 %), які забезпечують сорбційні властивості фітопрепаратів [14]. Отже, широкий спектр біологічної активності *T. patula* L. зумовлений синергічною дією багатого комплексу вторинних метаболітів, серед яких одну з провідних ролей відіграють флавоноїди.

1.3. Фармакологічні властивості та застосування у медицині *Tagetes patula* L. Завдяки унікальному складу біологічно активних речовин *Tagetes patula* L. широко використовується у народній та офіційній медицині. Однією з найбільш вивчених властивостей цього виду є виражена протизапальна дія, яка реалізується через інгібування ключових медіаторів запалення, таких як циклооксигеназа та ліпооксигеназа, що підтверджується численними

експериментальними моделями гострого запалення [4]. Потужний антиоксидантний потенціал екстрактів суцвіть забезпечує захист клітин від оксидативного стресу шляхом нейтралізації вільних радикалів, що є критично важливим для профілактики передчасного старіння та хронічних дегенеративних захворювань [15]. Крім того, виражена антибактеріальна та фунгіцидна активність ефірних олій та флавоноїдів чорнобривців дозволяє ефективно пригнічувати ріст золотистого стафілокока, кишкової палички та ряду патогенних грибів, що робить їх перспективними для створення антисептичних засобів [16, 17].

У неврологічній практиці рослина цінується за м'яку седативну дію та здатність стабілізувати психоемоційний стан при стресах, депресіях та підвищеній тривожності. Це зумовлено не лише прямим впливом на центральну нервову систему, а й забезпеченням організму попередниками для синтезу серотоніну та адреналіну, що сприяє загальній метаболічній корекції стану пацієнта [18]. Важливим аспектом застосування чорнобривців розлогіх є їхній вплив на серцево-судинну та нервову системи. Завдяки високому вмісту патулетину, екстракти виявляють капіляррозміцнюючу дію, знижуючи проникність судинної стінки та покращуючи мікроциркуляцію, що супроводжується помірним гіпотензивним ефектом та уповільненням когнітивного зниження [13, 19].

Особливу цінність чорнобривці розлогі мають для офтальмологічної практики завдяки високому вмісту лютеїну та зеаксантину, які вибірково накопичуються в макулі сітківки ока, фільтруючи шкідливе синє світло та запобігаючи віковій макулярній дегенерації [8].

У сучасній ендокринології та гастроентерології препарати на основі *Tagetes patula L.* знаходять застосування як ефективні допоміжні засоби при терапії цукрового діабету та панкреатиту. Це пояснюється здатністю фенольних сполук рослини інгібувати фермент альдоредуктазу, що перешкоджає розвитку діабетичних ускладнень, таких як катаракта та нейропатія, а також сприяє відновленню секреторної функції підшлункової залози [20].

Таким чином, фармакологічний профіль *Tagetes patula L.* забезпечує широкі можливості інтеграції потенціалу рослин цього виду у схеми лікування багатофакторних патологій.

1.4. Загальна характеристика, структура, властивості флавоноїдів.

Поліфеноли становлять одну з найчисельніших груп природних сполук у рослинах. Насьогодні відомо близько 8000 фенольних структур, серед яких - понад 4000 флавоноїдів (від латинського *flavus* (жовтий) [18]. Флавоноїди широко розповсюджені в рослинному світі. Їх кількісний вміст в рослині може коливатися від 0,1% до 10-12 % і значною мірою залежить від фази вегетації рослини. Максимальна концентрація, зазвичай, фіксується у фазі цвітіння. Флавоноїдні сполуки локалізуються переважно в клітинному соку молодих тканин вищих рослин, причому понад 85% їхнього вмісту в надземній частині зосереджено в епідермі. Розподіл цих речовин залежить від їхньої хімічної структури: глікозиди накопичуються в органах активного метаболізму (листя, квіти, пуп'янки), тоді як аглікони частіше зустрічаються в корі. На рівень біосинтезу флавоноїдів впливає комплекс факторів: вік (максимальна концентрація у молодих рослин), інтенсивність освітлення та висота над рівнем моря (пряма залежність). Температурний режим діє специфічно: зниження температури стимулює накопичення антоціанів, тоді як синтез інших груп флавоноїдів активується при потеплінні. Кількісний вміст варіює від 0,5–1% у квітках волошки до 25% у пуп'янках софори японської. Ці сполуки мають широкий спектр біологічної активності: беруть участь в окисно-відновних процесах, проявляють антиоксидантну, Р-вітамінну активність, жовчогінну, спазмолітичну, діуретичну, гепато-, кардіо- та радіопротекторну, гіпоазотемічну, гіпоглікемічну, седативну, естрогенну, гіпотензивну, протизапальну дію. [21, 22]. Флавоноїди зменшують проникність і ламкість капілярів, підвищують міцність кровоносних судин, знижують рівень гіалуронідази, попереджують окиснення аскорбінової кислоти та адреналіну. Біохімічний ефект флавоноїдів пов'язаний з впливом на ферменти та гормони. Флавоноїди інгібують альдоредуктазу, ксантинооксидазу, фосфодіестеразу, Ca^{2+} -

АТФазу, ліпооксигеназу та циклооксигеназу. Кверцетин, мірцин і кемпферол пригнічують аденозиндеаміназу ендотеліальних клітин [23].

Основним структурним компонентом флавоноїдів є п'ятнадцятикарбоний скелет з двома бензеновими кільцями, з'єднаними гетероциклічним кільцем, а їхня біоактивність значно зростає при природному глікозилюванні або метилюванні [18, 22]. Флавоноїди поділяють на еуфлавоноїди (2-фенілбензопірани), ізофлавоноїди (3-фенілбензопірани) та неофлавоноїди (4-фенілбензопірани).

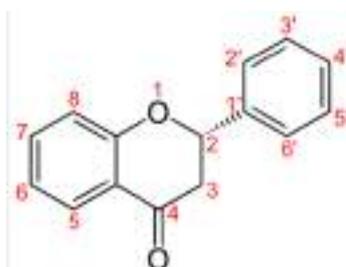


Рис. 2-фенілбензопіран (2-фенілхромен-4-он, справжні флавоноїди)



Рис. 3-фенілбензопіран (3-фенілхромен-4-он, ізофлавоноїди)

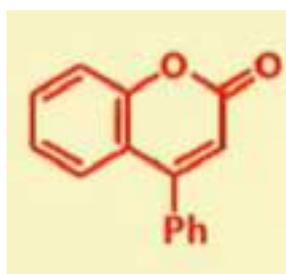
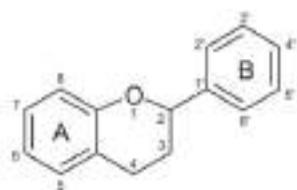


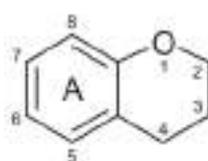
Рис. 4-фенілбензопіран (4-фенілхромен-2-он, неофлавоноїди)

Основним компонентом еуфлавоноїдів є флаван, ступінь насиченості та окиснення якого взяли за основу класифікації флавоноїдів на похідні хроману (флаван-3-ол (катехін), флаван-3,4-діол (лейкоантоціанідин), антоціанідин) та

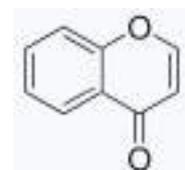
хромону (флаванон, флаванол, флакон, флавонол, халкон, дигідрохалкон, аурон).



Флаван



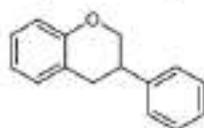
Хроман



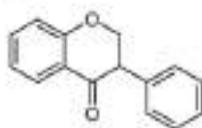
Хромон

Серед ізофлавоноїдів виокремлюють на прості та конденсовані.

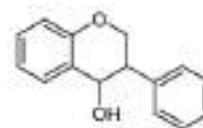
Прості ізофлавоноїди



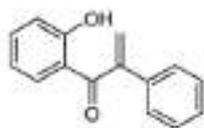
Ізофлаван



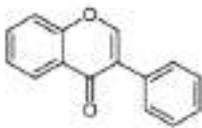
Ізофлаванон



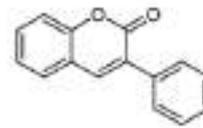
Ізофлаванол



Ізохалкон

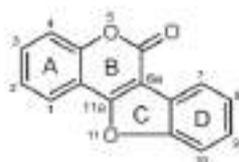


Ізофлавонон

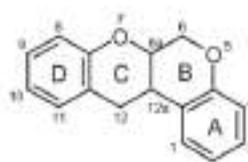


3-Арилкумарин

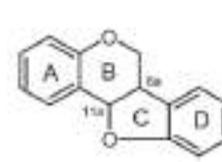
Конденсовані ізофлавоноїди



Куместан

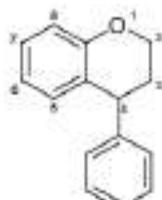


Ротеноїд

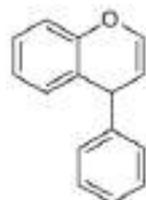


Птерокарпан

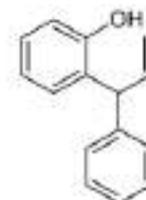
До неофлавоноїдів відносять класи: неофлаванни, неофлавонони, неохалкони, 4-фенілкумарини, 3,4-дигідро-4-фенілкумарини та неофлавени.



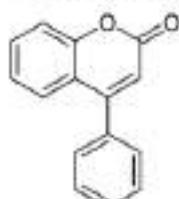
Неофлаван



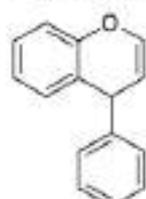
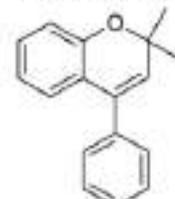
Неофлавонон



Неохалкон



4-Фенілкумарин

3,4-Дигідро-
4-фенілкумарин

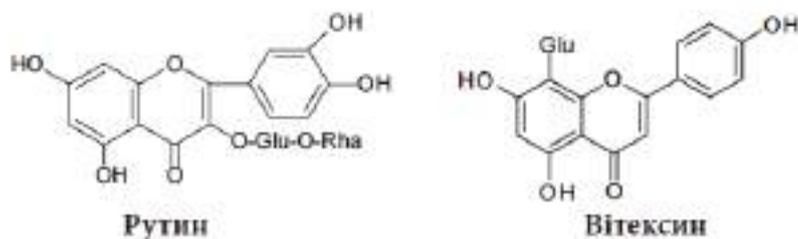
Неофлавен

У структурі флавоноїдного складу рослин домінують похідні флавонолу (40%) та флавону (20%). Значно меншу частку — близько 10% — сукупно складають катехіни, антоціанідини, флаванони, аурони та халкони, тоді як інші групи представлені лише слідовими кількостями. Колірна палітра рослинних органів безпосередньо корелює з їхнім хімічним складом: антоціани зумовлюють гаму від рожевого до темно-синього в плодах і пелюстках, а жовті відтінки формуються за участю флавонолових глікозидів, халконів та ауронів (хоча провідна роль у створенні жовтого кольору належить каротиноїдам). Флавоноїди зустрічаються в рослинах у формі глікозильованих або метильованих сполук, оскільки ці структури мають вищу біоактивність, біодоступність та стабільність. Вуглеводний фрагмент представлений монозами, діозами та тріозами, зокрема фрагментами моноз можуть бути піранозні форми D-глюкози, D-ксилози, D-галактози, L-рамнози та L-арабінози, D-галактуронової та D-глюкуронової кислот. Найпоширенішими серед діоз є рутиноза, софороза, самбубіоза.

Природні глікозиди класифікують за атомом, що сполучає глікон із агліконом. У випадку O-глікозидів зв'язок формується через Оксиген, переважно у позиціях C3, C7, C3' та C4'. У C-глікозидів вуглеводний компонент ковалентно зв'язаний безпосередньо з карбоновим скелетом, найчастіше у положеннях C6 або C8. Для гліколізу флавоноїдів використовується біологічний інструмент під назвою глікозилтрансфераза, який каталізує з'єднання цукрового фрагмента з агліконовою частиною для утворення глікозидів. Подібно до того, як метилтрансфераза приєднує метильні фрагменти до аглікону для створення метоксидів, гідроксильна група у флавоноїдах метильюється за наявності цього ферменту. Метильювання може призвести до утворення C-метильованих або O-метильованих молекул через атом Карбону або Оксигену відповідно. Фармакологічні та біологічні характеристики метильованого продукту відносно його вихідної сполуки були різко змінені в результаті метильювання флавоноїдів, згідно з експериментальними даними [22].

Основними групами глікозидів, що переважають у рослинному світі, є похідні трьох агліконів: кемпферолу, кверцетину та апігеніну. Кемпферол

найчастіше представлений астрагаліном, еквізетрином та кемпферитрином. До найбільш розповсюджених глікозидів кверцетину належать рутин, гіперозид, кверцитрин та авікулярин. Глікозиди апігеніну часто зустрічаються у формі С-глікозидів, таких як вітексин та сапонаретин.



1.5. Основні представники флавоноїдів в рослинах *Tagetes patula* L. З різних видів чорнобривців виділено 49 флавоноїдів у формі агліконів і глікозидів [10, 24]. Основними флавоноїдами в квітах *Tagetes patula* є патулетін і патулітрин, також в них ідентифіковані рутин, робінін, дигідрокверцетин, кверцетин, гіперозид, віценін, лютеолін–7–глікозид, апігенін, вітексін (сума флавоноїдів у перерахунку на патулетін – 9,43 % в сухій речовині) [11, 12]. Флавоноїдам чорнобривців властивий широкий спектр біологічної активності. Так, різноманітні екстракти з чорнобривців розлогих і прямостоячих дозозалежно пригнічують ріст бактерій *Staphulococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* тощо, виявляють гепатопротекторну та протизапальну дію, а також протигрибкові, інсектицидні, антиоксидантні властивості [16, 22, 26, 27].

РОЗДІЛ 2

СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО АНАЛІЗУ ФЛАВОНОЇДІВ У РОСЛИННІЙ СИРОВИНІ

2.1. Ідентифікація флавоноїдів у рослинній сировині. Ідентифікація флавоноїдів є комплексним процесом, який охоплює використання якісних хімічних реакцій, хроматографічних методів та спектральних характеристик. Через структурну різноманітність цієї групи сполук (флавори, флавоноли, антоціани, катехіни тощо) аналіз зазвичай розпочинають з групових реакцій. Якісний аналіз базується на здатності флавоноїдів до відновлення, утворення комплексів з металами та зміни забарвлення за різних значень рН.

1. Ціанідинова проба (проба Шиноди) - найуніверсальніша реакція на флавоноїди, яка ґрунтується на відновленні флавоноїдів до антоціанідинів. При додаванні металевого магнію (Mg) та концентрованої хлоридної кислоти (HCl) до спиртового витягу спостерігається поява рожевого, червоного або фіолетового забарвлення. Реакція дає негативний результат з ізофлавонами та деякими іншими підгрупами, що робить її недостатньо надійною.

2. Реакція з лугами (NaOH або NH₄OH): флавори, флавоноли та халкони утворюють жовте або помаранчеве забарвлення, яке при нагріванні може посилюватися.

3. Взаємодія з хлоридом алюмінію (AlCl₃) призводить до утворення хелатних комплексів, що супроводжується появою яскраво-жовтого забарвлення з інтенсивною зеленувато-жовтою флуоресценцією в УФ-світлі. Використовується не лише для якісного виявлення (флуоресценція), а й є базовою для кількісного визначення вмісту флавоноїдів методом спектрофотометрії (утворення кольорового комплексу).

4. Реакція з хлоридом заліза (III) (FeCl₃): Використовується для виявлення фенольних гідроксилів. Залежно від структури виникає забарвлення від зеленого до темно-синього. Вважається орієнтовною, оскільки FeCl₃ реагує з усіма

фенольними сполуками (зокрема з дубильними речовинами, які майже завжди є в сировині разом із флавоноїдами), не є специфічною [27]. Зазначені реакції вважаються попередніми й не включені до сучасних монографій ДФУ через їхню низьку специфічність.

Для чорнобривців розлогих (*Tagetes patula* L.) ситуація з фармакопейним статусом в Україні є неоднозначною. Хоча ця рослина широко використовується в народній медицині проте окремої монографії суто на *Tagetes patula* в основних томах ДФУ 2.0 немає. Через гармонізацію з Європейською Фармакопеею (Ph. Eur.) ідентифікація суцвіть чорнобривців проводиться за загальними принципами для сировини, що містить флавоноїди та каротиноїди.

Найдостовірнішим методом, який б відповідав сучасним вимогам фармакогностичного аналізу щодо підтвердження автентичності для цього виду є тонкошарова хроматографія (ТШХ). [28-30].

Підготовка проби: 1,0 г подрібненої сировини екстрагують 10 мл спирту етилового 70% на киплячій водяній бані з зворотним холодильником протягом 15 хв. Після охолодження розчин фільтрують.

Розчини порівняння (стандарт): Кверцетин, рутин або гіперозид (залежно від наявності стандартів).

Сорбент: пластинки зі шаром силікагелю (Silica gel G).

Система розчинників: етилацетат — мурашина кислота — вода (80:10:10) або н-бутанол — оцтова кислота — вода (4:1:2).

Детекція: пластинку обприскують спиртовим розчином аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти (реактив НП) та розчином поліетиленгліколю (ПЕГ 400).

Результат: в УФ-світлі (365 нм) мають спостерігатися інтенсивні зони флуоресценції: жовто-помаранчеві зони (глікозиди патулетину та кверцетагетину), зеленувато-жовта зона (кверцетин або його похідні).

2.2. Кількісне визначення флавоноїдів у рослинній сировині.

Хроматографія є основним методом не лише ідентифікації, а й розділення суміші флавоноїдів. Тонкошарова хроматографія (ТШХ) найуживаніший метод у фармакопейному аналізі. Для кожної рослини ДФУ чітко прописує сорбент,

систему розчинників та "речовини-свідки" (стандарти). [29]. Переважно використовують пластинки "Silica gel" або "Cellulose" та систему розчинників: н-бутанол — оцтова кислота — вода у співвідношенні 4:1:5. Детекція: перегляд у денному та УФ-світлі (254 та 365 нм) до і після обробки парами аміаку або спиртовим розчином $AlCl_3$. Для чорнобривців розлогих дуже важливо відрізнити їх від інших видів. Саме ТШХ дозволяє побачити "хроматографічний відбиток", який є унікальним для кожного виду за набором специфічних глікозидів.

Останні видання ДФУ дедалі частіше використовують високоефективну рідинну хроматографію (ВЕРХ) як основний метод для ідентифікації та кількісного аналізу. ВЕРХ дозволяє ідентифікувати окремі глікозиди та аглікони за часом утримування порівняно зі стандартами (рутин, кверцетин, апігенін).

Спектральні методи (УФ-спектроскопія) використовують при вивченні нових видів сировини або встановленні структури нової сполуки. У Фармакопеї спектрофотометрія зазвичай обмежена вимірюванням оптичної густини при певній довжині хвилі для розрахунку концентрації. Флавоноїди мають характерні спектри поглинання в УФ-області, які зазвичай складаються з двох основних смуг: смуга I (300–385 нм) — зумовлена поглинанням кільця В (циннамоїльна система); смуга II (240–280 нм) — зумовлена поглинанням кільця А (бензоїльна система). Зміна положення цих максимумів при додаванні "зсувних реагентів" ($AlCl_3$, CH_3COONa) дозволяє точно встановити положення вільних гідроксильних груп.

Для аналізу суцвіть чорнобривців використовують метод прямої спектрофотометрії, що базується на реакції комплексоутворення з алюмінію хлоридом [30].

Етап 1 - методика приготування розчинів: *Екстракція*: близько 1,0 г (точна наважка) подрібненої сировини вміщують у колбу та екстрагують 70% етиловим спиртом на киплячій водяній бані протягом 45 хв. *Очищення*: отриманий витяг фільтрують та доводять до мітки у мірній колбі. *Комплексоутворення*: до аліквоти витягу додають розчин алюмінію хлориду та 5% спиртовий розчин

льодяної оцтової кислоти (для стабілізації комплексу). Через 30–40 хвилин вимірюють оптичну густину.

Етап 2 - вимірювання та розрахунок. Оптичну густину вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 425 нм. Як розчин порівняння використовують той самий витяг, але без додавання $AlCl_3$ (щоб нівелювати власне забарвлення екстракту). Вміст суми флавоноїдів у відсотках (X) розраховують за формулою:

$$X(\%) = \frac{A \cdot m_{st} \cdot V_{зг} \cdot V_2 \cdot P \cdot 100 \cdot 100}{A_{st} \cdot m \cdot V_1 \cdot V_3 \cdot 100 \cdot (100 - W)}$$

де A — оптична густина випробувального розчину; A_{st} — оптична густина розчину стандарту; m — наважка сировини, г; W — втрата в масі при висушуванні (вологість), %; P — вміст діючої речовини у стандартному зразку.

Аналіз флавоноїдів у рослинній сировині є важливим етапом контролю якості фармацевтичної продукції. Кожна методика може охоплювати різні етапи очищення, вибору розчинника та реагенту для мінімізації впливу цих домішок, що призводить до існування багатьох варіантів. Тобто основний принцип залишається незмінним (алюміній хлорид, комплексоутворення), але параметри його проведення можуть варіюватися. Кожна лабораторія, що розробляє внутрішній стандарт, повинна валідувати свою методику. Це означає, що унікальна, оптимізована методика створюється та затверджується для кожного окремого виду сировини. Таким чином, різноманіття методик — це необхідний наслідок адаптації універсального хімічного принципу до біологічної та хімічної складності природної сировини для досягнення надійності та точності результату.

2.3. Переваги та недоліки спектрофотометричного методу. Перевагами спектрофотометричного методу кількісного визначення є відносна простота виконання, доступність обладнання та висока швидкість аналізу після екстракції. Недоліками методу є:

1) низька селективність, оскільки реактиви зокрема алюміній хлорид, реагують не з усіма флавоноїдами, а лише з тими, що мають певну хімічну

структуру (наприклад, вільні гідроксильні групи біля карбонільної групи). До того ж окремі групи флавоноїдів можуть просто «ігноруватися» методом, а фенолокіслоти, антрахінони, для прикладу, можуть також вступати в реакцію, даючи хибнопозитивні результати.

2) Суб'єктивність вибору стандарту: результат аналізу зазвичай перераховують на певну стандартну речовину (рутин, кверцетин, гіперозид). Якщо дослідником обрано один флавоноїд, а в рослині переважає інший, то результати визначення будуть відносно далекими від реального вмісту речовин.

2.4. Сучасні підходи до валідації спектрофотометричних методик аналізу БАР у рослинній сировині. Валідація аналітичних методик є фундаментальним інструментом системи управління якістю. Вона дозволяє підтвердити придатність методу для конкретних цілей, гарантуючи високу точність та достовірність отриманих даних. Згідно з вимогами Державної Фармакопеї України, кожна аналітична методика, що включається до МКЯ ЛРС, повинна бути валідована. Валідація методик кількісного визначення суми флавоноїдів методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій та видимій областях базується на положеннях загальної статті 5.3.N.2 «Валідація аналітичних методик і випробувань».

Особливістю рослинних об'єктів є складність їхнього хімічного складу, що вимагає ретельного підтвердження таких параметрів:

1. Специфічність. У спектрофотометричному аналізі флавоноїдів специфічність досягається використанням реакції комплексоутворення (найчастіше з алюмінію хлоридом). ДФУ вимагає підтвердження того, що інші компоненти екстракту (хлорофіли, каротиноїди, антраценпохідні) не впливають на оптичну густину при обраній аналітичній довжині хвилі. Це досягається порівнянням електронних спектрів поглинання випробуваного та стандартного розчинів.

2. Лінійність. Згідно з ДФУ, лінійність має бути підтверджена для всього діапазону застосування методики (зазвичай 80–120% від очікуваного вмісту). Основним критерієм є коефіцієнт кореляції (близько 0,99). Математично це

виражається через побудову калібрувального графіка, де залежність описується рівнянням прямої: $y=bx+a$, де y — оптична густина, x — концентрація аналіту.

3. Прецизійність. Для методик кількісного визначення БАР у рослинній сировині ДФУ регламентує перевірку прецизійності на двох рівнях: внутрішньосерійна прецизійність (оцінює відхилення результатів при паралельних визначеннях одним аналітиком за короткий проміжок часу) та внутрішня прецизійність (оцінює вплив варіабельності різних приладів тощо).

Для рослинної сировини прийнятним вважається значення відносного стандартного відхилення (RSD) у межах $\leq 3\%$.

4. Правильність. Цей показник характеризує близькість отриманого результату до істинного значення. Для ЛРС правильність найчастіше доводять методом добавок, вводячи відому кількість стандартної речовини до витяжки з сировини. Відсоток вилучення має корелювати з метрологічними характеристиками, визначеними у відповідних статтях ДФУ.

5. Межі виявлення та кількісного визначення. Хоча для методик кількісного вмісту суми БАР ці параметри не завжди є критичними, вони стають обов'язковими при визначенні мікрокількостей домішок.

Отже, аналіз літературних джерел та нормативної бази ДФУ свідчить, що валідація є обов'язковим етапом розробки методики стандартизації ЛРС. Вона гарантує відтворюваність результатів та дозволяє об'єктивно оцінити якість сировини незалежно від місця проведення аналізу.

РОЗДІЛ 3

РОЗРОБКА МЕТОДИК ІДЕНТИФІКАЦІЇ ТА КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ СУМИ ФЛАВОНОЇДІВ В *TAGETES PATULA* L. СОРТУ «SUPER HERO ORANGE FLAME»

3.1. Заготівля лікарської рослинної сировини

Об'єктом дослідження слугували повітряно-сухі суцвіття культивованих рослин виду *Tagetes patula* L. сорту «Super Hero Orange Flame», які зібрані у період цвітіння (липень-вересень) 2024-2025 рр. (Чернівці, Україна)

Заготівля лікарської рослинної сировини *Tagetes patula* L. потребує суворого дотримання часових та технологічних параметрів для збереження лабільних біологічно активних сполук. Основним періодом збору суцвіть є фаза масового цвітіння рослин, яка зазвичай триває з липня по вересень, оскільки саме в цей час спостерігається максимальна концентрація флавоноїдів та каротиноїдів у кошиках. Зрізують або обривають суцвіття без залишків квітконосів або з їх мінімальною частиною (до 2 см). Для отримання якісної сировини збір проводять у суху сонячну погоду після зникнення роси, оскільки надмірна вологість призводить до швидкого потемніння та псування кошиків під час сушіння.

Процес сушіння є критичним етапом фармакогностичної підготовки, оскільки висока температура може призвести до втрати летких компонентів, деструкції. Сировину розкладають тонким шаром (2–3 см) на стелажах під накриттям із гарною вентиляцією, уникаючи прямого сонячного проміння, яке викликає знебарвлення квіток. У разі використання штучного обігріву температура в сушарках не повинна перевищувати 40–45 °С. Ефективність процесу контролюють за станом квітколожа: сушіння вважається завершеним, коли воно стає ламким при натисканні. Висушену сировину зберігають у паперових мішках або картонних коробках у сухому, захищеному від світла місці, оскільки під впливом світла та кисню повітря відбувається швидке окиснення пігментів.

3.2. Методики експерименту

3.2.1. Ідентифікація флавоноїдів у суцвіттях культивованих рослин *Tagetes patula* L. сорту «Super Hero Orange Flame» методом абсорбційної спектрофотометрії

Спектр поглинання екстракту суцвіть чорнобривців 96% етанолом, розведеного в 100 разів в області від 220 до 490 нм має декілька смуг поглинання (рис. 1). В області 242-280 нм розташована смуга з максимумом при 258 нм, яка відповідає поглинанню суми фенольних сполук. В області 320-390 нм розташована широка смуга з максимумом при 365 нм, що свідчить про наявність у екстракті флавоноїдних сполук. Можна припустити наявність як глікозидів, так і агліконів флавоноїдів, які розчиняються і екстрагуються 96% етанолом.

Спектр поглинання екстракту суцвіть чорнобривців 70% етанолом, розведеного в 100 разів в області від 220 до 430 нм також має складний характер (рис. 3.1). Інтенсивність поглинання дещо вища, ніж для розчину екстракту, отриманого 96% етанолом, що може свідчити про більшу кількість біогенних речовин, які екстрагуються із сировини. В області 248-262 нм спостерігається смуга поглинання фенольних сполук, яка дещо менше виділяється із загального спектра суми екстрагованих біогенних сполук, ніж смуга у спектрі розчину, одержаного екстрагуванням 96% етанолом і її максимум розташований при 255 нм. Одна зі смуг поглинання ароматичних сполук проявляється на сумарному спектрі у вигляді перегину смуги вбирання при 290-292 нм. Речовини флавоноїдної природи проявляються у спектрі у вигляді широкої інтенсивної смуги на ділянці 320-380 нм з максимумом при 341 нм. Гіпсохромне зміщення максимуму поглинання порівняно зі спектром розчину екстракту, отриманого 96% етанолом, може свідчити про переважання у складі екстракту, отриманого 70% етанолом, флавоноїдних речовин глікозидної природи.

Розчин етилового спирту порівняно низької концентрації (40%) екстрагує з рослинної сировини багато біологічно-активних речовин різної природи, смуги поглинання яких накладаються одна на одну і, як результат, сумарний спектр не має виразних максимумів поглинання. При уважному аналізі можна відзначити

перегин смуги вбирання в області 280-288 нм, який схожий на відповідний перегин в абсорбційному спектрі екстракту, отриманого 70% спиртом. В області 320-350 нм спостерігається перегин смуги вбирання, що відповідає максимуму поглинання флавоноїдів у спектрі екстракту, отриманого 70% спиртом.

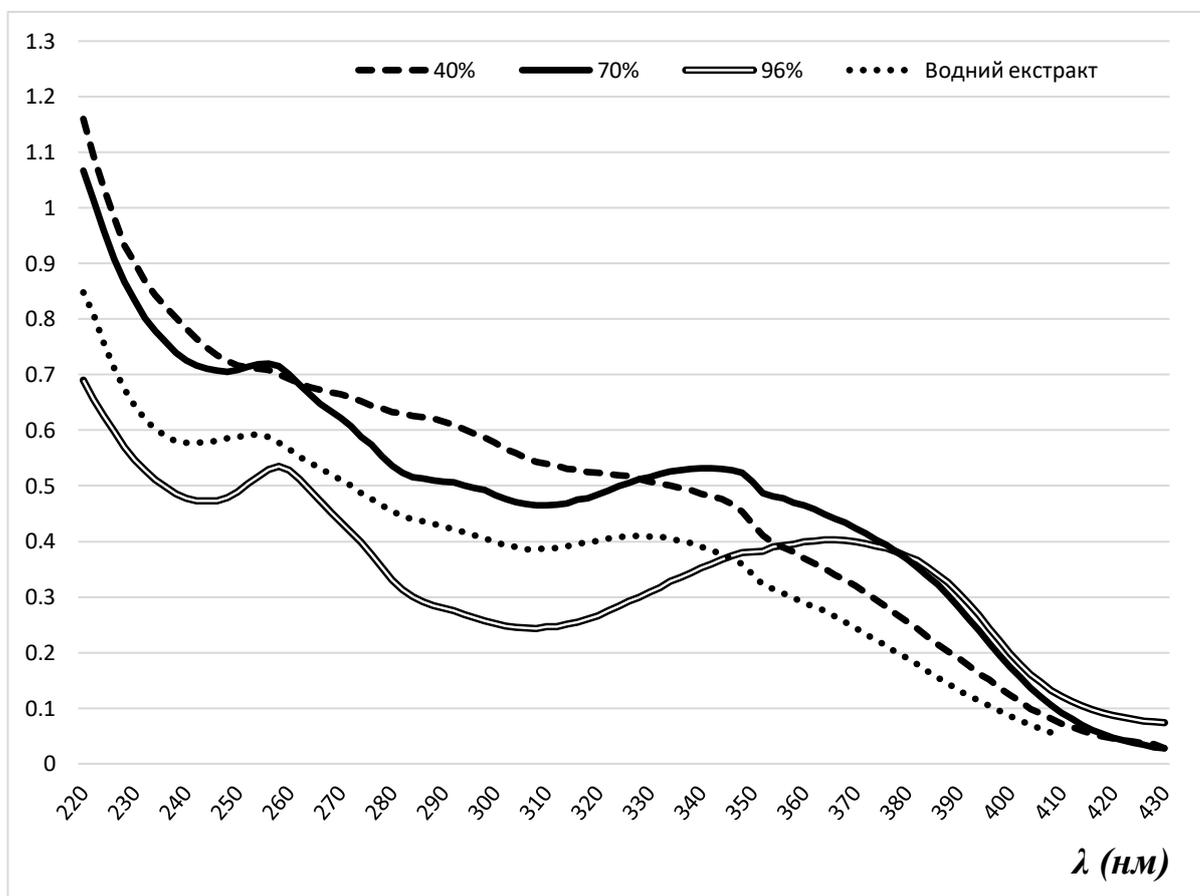


Рис. 3.1. Абсорбційний спектр екстрактів суцвіть *Tagetes patula* L. (розведення 1:100)

Абсорбційний спектр розчину водного настою суцвіть чорнобривців в розведенні 1 : 100 за своїм характером схожий на спектр поглинання розчину екстракту, отриманого 70% етанолом, але має меншу інтенсивність, що свідчить про меншу кількість екстрактивних речовин, що переходять у настій. В області 240-260 нм розташована достатньо виразна смуга поглинання фенольних сполук з максимумом при 253 нм, а в області 320-350 нм спостерігається смуга поглинання флавоноїдних сполук, максимум поглинання якої гіпсохромно зміщується на 14 нм порівняно з максимумом у спектрі екстракту 70% спиртом і

розташовується при 327 нм. Таким чином спектральні дослідження екстрактів суцвіть чорнобривців розчинами етанолу різної концентрації та водного настою суцвіть свідчать про наявність у сировині суми фенольних сполук, зокрема флавоноїдів.

3.2.2. Визначення сухого залишку. Визначення сухого залишку водного настою і екстрактів, отриманих при екстракції суцвіть чорнобривців етиловим спиртом різної концентрації проводили за методикою ДФУ [29].

Результати визначення сухого залишку водного настою і екстрактів, отриманих при екстракції рослинної сировини етиловим спиртом різної концентрації наведені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Вміст екстрактивних речовин при екстрагуванні суцвіть *Tagetes patula* L. сорту «Super Hero Orange Flame» розчинами етанолу різної концентрації

№ з/п	Екстрагент	Об'єм розчину, мл	Маса сухого залишку, г	Вміст екстрактивних речовин, г/л
1	Етанол 96 %	20	0,0922	4,61±0,26
2	Етанол 70 %	20	0,1287	6,44 ±0,29
3	Етанол 40 %	20	0,1474	7,37±0,25
4	Вода	20	0,1182	5,91±0,17

Найбільший вміст екстрактивних речовин виявили при екстрагуванні 40 % водно-спиртовим розчином, що в 1,6 рази більше, ніж при екстрагуванні 96 % спиртом. Отже, підвищення масової частки етилового спирту у водно-спиртових розчинах від 40,0% до 96,0 % сприяє зменшенню вмісту екстрактивних речовин в отриманих екстрактах, тоді як водний витяг містив їх на рівні екстракції 70 % спиртом.

3.2.3. Методика експерименту визначення суми флавоноїдів в суцвіттях культивованих рослин виду *Tagetes patula* L. сорту «Super Hero

Orange Flame». Приготування досліджуваного розчину для кількісного визначення суми флавоноїдів. 0,400 г подрібненої сировини вносили в круглодонну колбу, додавали 3,5 мл розчину кислоти хлористоводневої R1, 1 мл розчину гексаметилентетраміну з концентрацією 20 г/л, 20 мл ацетону і кип'ятили зі зворотним холодильником впродовж 30 хв. Розчин обережно декантували і фільтрували у мірну колбу ємністю 50 мл. Екстракцію повторили порціями 15 і 10 мл ацетону. Колбу, сировину і фільтр промивали невеликими порціями ацетону доводячи об'єм розчину до мітки. 20 мл ацетонового екстракту вміщували в ділильну лійку ємністю 100 мл, додавали 20 мл води і екстрагували етилацетатом порціями 15, 10, 10, 10 мл. Об'єднані етилацетатні витяги вмістили в ділильну лійку і двічі промили порціями по 50 мл дистильованої води. Після розшарування етилацетатний шар профільтрували через паперовий фільтр, що містить 10 г безводного натрію сульфату у мірну колбу ємністю 50 мл. Лійку і фільтр промили етилацетатом, доводячи об'єм екстракту до позначки і розчин перемішали. В мірну колбу ємністю 25 мл вміщували 5,00 мл отриманого екстракту, додавали 2 мл реактиву алюмінію хлориду, доводили до позначки 5% розчином льодяної оцтової кислоти у 96% етанолі і перемішували. Для приготування контрольного розчину 5,00 мл етилацетатного екстракту доводили до 25 мл 5% розчином льодяної оцтової кислоти у 96% етанолі і перемішували. Через 30 хв знімали абсорбційний спектр або визначали оптичну густину розчину у максимумі по відношенню до контрольного розчину.

Розрахунок вмісту суми флавоноїдів у перерахунку на гіперозид (на суху речовину) проводили за формулою:

$$X_{\%} = \frac{A \cdot V_1 \cdot V_3 \cdot V_5 \cdot 100}{A_{1\%}^{1\%} \cdot m_n \cdot V_2 \cdot V_4 \cdot (100 - W)}$$

де A – оптична густина досліджуваного розчину; $A_{1\%}^{1\%}$ – питомий показник поглинання розчину гесперидину при визначенні за реакцією з алюмінію хлоридом у максимумі при довжині хвилі 425 нм; m_n – маса наважки; V_1 – об'єм мірної колби при приготуванні ацетонового екстракту; V_2 – об'єм аліквоти

ацетонового екстракту при реекстракції етилацетатом; V_3 – об'єм мірної колби етилацетатного екстракту; V_4 – об'єм аліквоти етилацетатного екстракту; V_5 – об'єм мірної колби для приготування досліджуваного розчину; W – втрата в масі при висушуванні досліджуваного зразка.

3.2.4. Визначення суми флавоноїдів у суцвіттях культивованих рослин виду *Tagetes patula* L. сорту «Super Hero Orange Flame» методом абсорбційної спектрофотометрії

Абсорбційний спектр етилацетатного екстракту суми агліконів флавоноїдів після взаємодії з алюмінію хлоридом в області від 390 до 460 нм містить одну широку смугу вбирання з максимумом при 426 нм, яка відповідає поглинанню суми алюмінієвих комплексів флавоноїдних сполук (Рис 3.2).

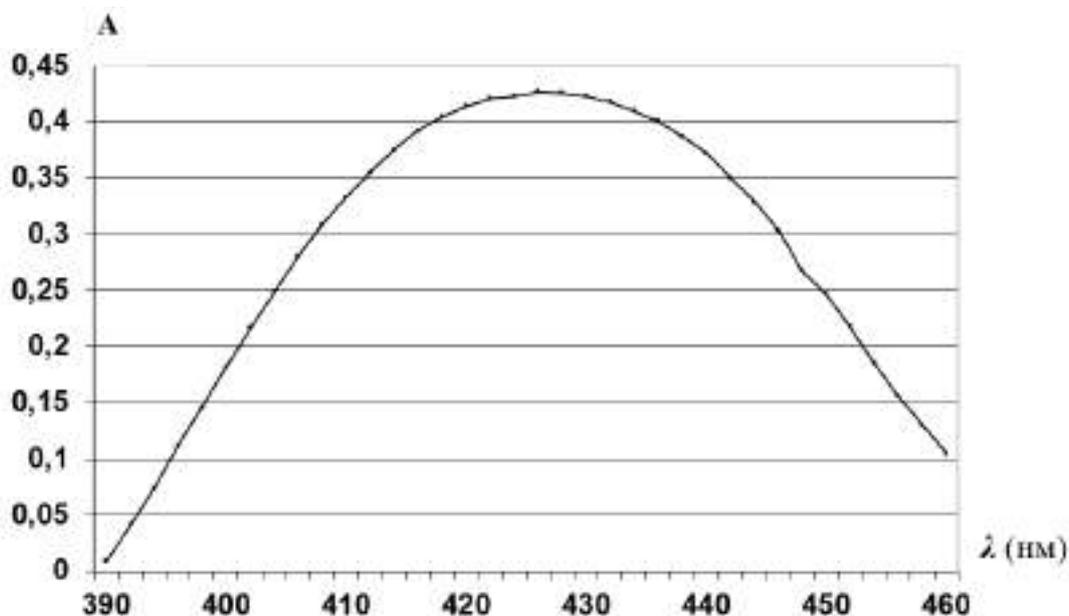


Рис. 3. 2. Абсорбційний спектр розчину, отриманого при визначенні суми флавоноїдів в суцвіттях чорнобривців за реакцією з алюмінію хлоридом

Це дозволяє кількісно визначити суму флавоноїдів у досліджуваній сировині у перерахунку на одну маркерну сполуку за допомогою питомого показника поглинання. ДФУ рекомендує проводити перерахунок на гіперазид, питомий показник поглинання якого при визначенні за реакцією з алюмінію хлоридом дорівнює 500 [30].

Для з'ясування екстрагенту, який би забезпечував найповніше вилучення з сировини сполук ряду флавоноїдів, ми провели спектрофотометричне

дослідження взаємодії отриманих екстрактів з алюмінію хлоридом. Паралельно знімали спектри продуктів взаємодії з алюмінію хлоридом рутину і кверцетину (Рис. 3.3).

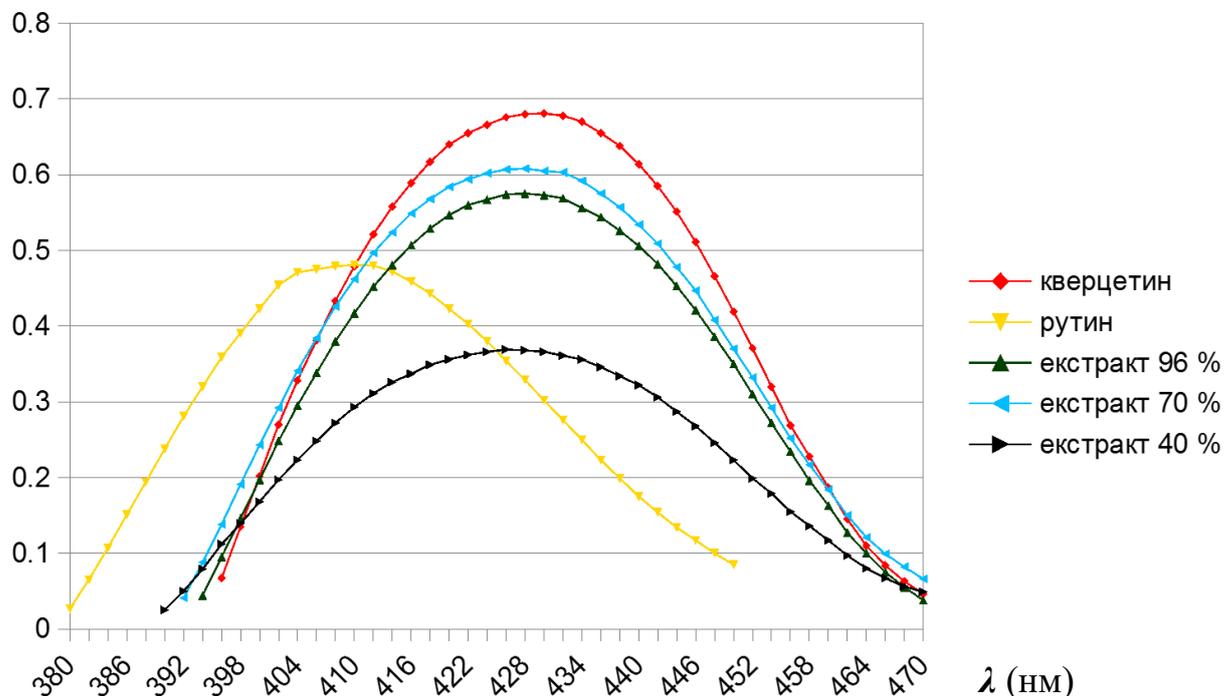


Рис. 3.3. Абсорбційні спектри екстрактів суцвіть чорнобривців, отримані при визначенні флавоноїдів за реакцією з $AlCl_3$

Досліджуваний розчин для аналізу готували так: 0,5 мл аналізованих екстрактів вносили у мірну колбу ємністю 25 мл, додавали 2 мл реактиву алюмінію хлориду і доводили до позначки 5% розчином льодяної оцтової кислоти у 96% етанолі. Як контрольний розчин використовували розчин, приготовлений аналогічно без додавання алюмінію хлориду.

Розчин стандартного зразка рутину готували так: 0,050 г РСЗ рутину вмістили у мірну колбу ємністю 100 мл, додали 75 мл 96% етанолу, нагріли при перемішуванні до розчинення і після охолодження довели до позначки та перемішали. 2 мл отриманого розчину вміщували у мірну колбу ємністю 25 мл, додавали 2 мл алюмінію хлориду реактиву і доводили до позначки 5%-ним розчином льодяної оцтової кислоти у 96% етанолі. Як контрольний розчин

використовували розчин, приготований аналогічно без додавання алюмінію хлориду.

Розчин стандартного зразка кверцетину готували так: 0,050 г РСЗ кверцетину вмістили у колбу ємністю 50 мл, додали 40 мл 96% етанолу, перемішали до розчинення, довели до позначки тим самим розчинником і перемішали. 0,25 мл отриманого розчину вміщували у мірну колбу ємністю 25 мл, додавали 2 мл алюмінію хлориду реактиву і доводили до позначки 5% розчином льодяної оцтової кислоти у 96% етанолі. Як контрольний розчин використовували розчин, приготований аналогічно без додавання алюмінію хлориду.

Абсорбційний спектр комплексу рутину з алюмінію хлоридом в концентрації рутину 0,04 мг/мл в області від 380 до 450 нм є плавною лінією з широким максимумом, розташованим при 409-410 нм, що характерно для глікозидів флавоноїдів. Натомість спектр поглинання комплексу кверцетину з алюмінію хлоридом в області від 390 до 470 нм має максимум при 429-430 нм, що характерно для агліконів флавоноїдних глікозидів.

Абсорбційні спектри комплексів алюмінію з флавоноїдними сполуками, екстрагованими з суцвіть чорнобривців етанолом 96% і 70% в області від 390 до 470 нм мають одну широку смугу вбирання, максимум якої гіпсохромно зміщений по відношенню до максимуму кверцетину на 2 нм і розташовується при 427-428 нм. Спектри комплексів флавоноїдів екстрагованих 40% спиртом і водою мають ширший максимум при 425-427 нм.

Аналіз отриманих спектральних даних свідчить, що у досліджуваних екстрактах переважають аглікони флавоноїдних сполук. Максимуми поглинання на спектрах з екстрактами майже збігаються з максимумом на спектрі кверцетину з алюмінію хлоридом і значно відрізняються від спектру рутину з алюмінію хлоридом. Оцінюючи інтенсивність кривих поглинання можна зробити висновок, що оптимальним екстрагентом є 70% етанол. Оптична густина на спектрі екстракту, отриманого 96% етанолом на 11% менша, ніж у досліді з екстрактом 70% спиртом, що може свідчити про те, що в екстракт переходить на

11% менше сполук з групи флавоноїдів. Хоча етанол з концентрацією 40% екстрагує з рослинної сировини на 43% більше, слід зважити на те, що 40% розчин переважно екстрагує БАР з вищою полярністю: глікозиди, полісахариди, органічні кислоти, деякі амінокислоти, а також баластні речовини, що може знижувати якість кінцевого екстракту. А 70% розчин етанолу переважно екстрагує БАР з меншою гідрофільністю, зокрема, флавоноїди. Тому ми вважаємо застосування 70% розчину етанолу як екстрагенту флавоноїдів більш обґрунтованим.

3.3. Вивчення валідаційної характеристики «Лінійність» для розробленої спектрофотометричної методики визначення суми флавоноїдів у суцвіттях культивованих рослин виду *Tagetes patula* L. сорту «Super Hero Orange Flame».

Одним із ключових параметрів валідації є лінійність — здатність методики забезпечувати результати, що мають прямо пропорційну залежність від концентрації аналіту в межах визначеного діапазону. Для її оцінки проводять аналіз серії зразків із різним вмістом цільової речовини та будують графік залежності «відгук — концентрація». У межах розробки спектрофотометричної методики для визначення флавоноїдів у суцвіттях *T. patula* L. було підготовлено 6 модельних розчинів. Відповідно до вимог ДФУ, ці розчини охоплюють робочий діапазон від 80% до 120% із рівномірним кроком у 5%.

Метрологічні характеристики методики (табл. 3.2) свідчать про те, що коефіцієнт варіації суми флавоноїдів в суцвіттях *T. patula* L. з довірчою ймовірністю 95 % складає 1,66%. Специфічність методики визначалась за відповідністю максимумів поглинання комплексу флавоноїдів рослинної сировини і кверцетину з алюміній хлоридом. Лінійність методики визначали для серії розчинів кверцетину (рис. 3.4). Коефіцієнт кореляції становив 0,9936.

Таблиця 3.2

Метрологічні характеристики методики кількісного визначення суми флавоноїдів в суцвіттях культивованих рослин виду *Tagetes patula* L. сорту «Super Hero Orange Flame»

f	$x_{сер}$	S	$P, \%$	t	Δx	$RSD, \%$	$\varepsilon, \%$
5	1,49	0,0248	95	2,571	0,026	1,66	1,75

Примітка: f – число ступенів свободи; $x_{сер}$ – середнє арифметичне; S – стандартне відхилення; $P, \%$ – рівень значущості; t – критерій Стюдента; Δx – довірчий інтервал $RSD, \%$ – відносне стандартне відхилення; $\varepsilon, \%$ – відносна похибка середнього результату

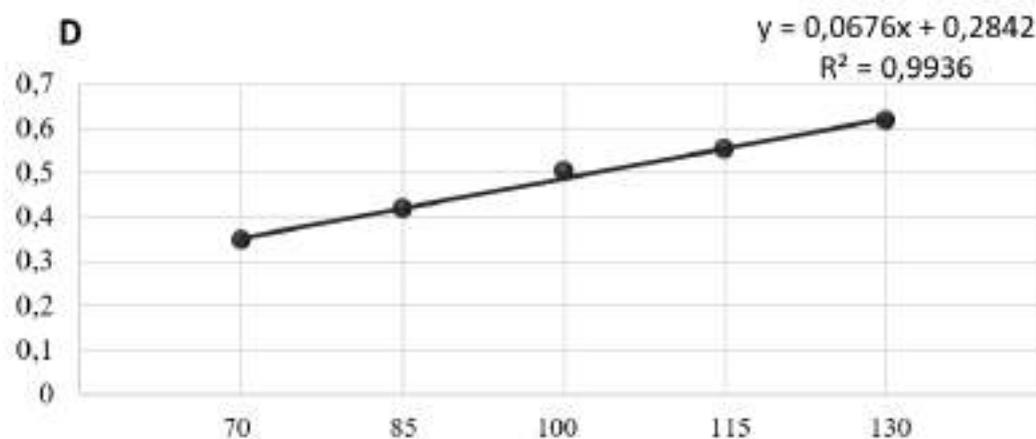


Рис. 3. 4. Графік лінійної залежності оптичної густини від концентрації діючої речовини в зразку у нормалізованих координатах

3.4. Результати кількісного визначення.

Результати визначення суми флавоноїдів в різних серіях рослинної сировини наведені в таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

Сума флавоноїдів в зразках суцвіть культивованих рослин виду *Tagetes patula* L. сорту «Super Hero Orange Flame»

№ з/п	Вміст флавоноїдів, %	Відхилення від середнього
1	1,22	-0,27
2	1,45	-0,04
3	1,62	0,13
4	1,81	0,32
5	1,35	-0,14
6	1,5	0,01

Встановлено, що середній вміст суми флавоноїдів в досліджуваних зразках суцвіть *T. patula* L. сорту «Super Hero Orange Flame» становить $1,492 \pm 0,026\%$ (у перерахунку на гіперазид). Отже, суцвіття *T. patula* L. сорту «Super Hero Orange Flame» є перспективним джерелом флавоноїдів.

ВИСНОВКИ

1. Спектрофотометричним дослідженням суцвіть рослин *Tagetes patula L.* сорту “Super Hero Orange Flame”, зібраних під час цвітіння (Чернівці, Україна), встановлена наявність флавоноїдів.

2. Розроблена та валідована методика кількісного визначення суми флавоноїдів в суцвіттях рослин *Tagetes patula L.* сорту “Super Hero Orange Flame” методом абсорбційної спектрофотометрії.

3. Вміст суми флавоноїдів у суцвіттях *Tagetes patula L.* сорту «Super Hero Orange Flame» становить $1,492 \pm 0,026\%$ на суху речовину (в перерахунку на гіперазид).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Горчакова Н. О., Гарник Т. П., Туманов В. А., Чекман І. С. Від народної медицини до фітотерапії. Фітотерапія. Часопис. 2016. № 1. С.4-6.
2. Faizi S., Dar A., Siddiqi H., Naqvi S., Naz A., Bano S., Lubna N. Bioassay-guided isolation of antioxidant agents with analgesic properties from flowers of *Tagetes patula*. *Pharmaceutical Biology*. 2011. Vol. 49, № 5. P. 516–525.
3. Gong Y., Liu X., He W., Xu H., Yuan F., Gao Y. Investigation into the antioxidant activity and chemical composition of alcoholic extracts from defatted marigold (*Tagetes erecta* L.) residue [Text]. *Fitoterapia*. 2012. Vol. 83, № 3. P. 481–489.
4. Yasukawa, K., Kasahara Y. Effects of Flavonoids from French Marigold (Florets of *Tagetes patula* L.) on Acute Inflammation Model. *International Journal Of Inflammation*. 2013. doi: 10.1155/2013/309493.
5. Xu L.W., Chen J., Shi Y.P. Phytochemicals and Their Biological Activities of Plants in *Tagetes* L. *Chinese Herbal Medicines*. 2012. Vol. 4, № 2. P. 103–117
6. Domínguez-Niño, Alfredo; Guillén-Velázquez, Paulina; Santos-González, Iris; García-Valladares, Octavio^aSend mail to García-Valladares O.; Vázquez-Morales, José Manuel. Total Phenolic, Flavonoid Content, and Antioxidant Activity of Dried Marigold (*Tagetes erecta* L.) Petals Produced in a Mixed-Mode Solar Dryer. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2025. DOI: 10.1007/s11130-025-01366-z.
7. Ali A., Tabanca N., Demirci B., Amin E., Khan Ali I. Chemical Composition and Biting Deterrent Activity of Essential Oil of *Tagetes patula* (Marigold) against *Aedes aegypti*. *Nat Prod Commun*. 2016. Vol. 11, № 10. P. 1535-1538.
8. Zuorro A. Lavecchia R. New functional food products containing lutein and zeaxanthin from marigold (*Tagetes erecta* L.) flowers [Text]. *Journal Of Biotechnology*. 2010. Vol. 150. P. 296–296.
9. Mazulin Oleksander, Fukleva Larysa, Voitenko Tetiana, Saliy Olena, Mazulin Georgy. Component composition of polyphenolic compounds in inflorescences of *Tagetes erecta* L. Var. “Antigua F1 Orange”. *Phytotherapy Journal*. 2025. DOI: 10.32782/2522-9680-2025-2-180

10. Gontova T. M., Gaponenko V. P. Investigation of the flavonoid composition of *Tagetes patula* flowers. *News of Pharmacy*. 2018. Vol. 2, № 94. P. 38-42
11. Малюгіна О. О., Мазулін О. В., Мазулін Г. В. Визначення кількісного вмісту флавоноїдів у суцвіттях чорнобривців розлогих і прямостоячих. *Запорізький медичний журнал*. 2013. Vol. 6, № 81. P. 88–91.
12. Villa-Silva P. Y., Piná A., Ascacio-Valdés J. A. Phenolic compounds of *Tagetes lucida* Cav. with antibacterial effect due to membrane damage. *Boletin latinoamericano y delcaribe de plantas medicinales y aromáticas*. 2020. Vol. 19, № 6. P. 580-590
13. Ramakrishnan P., Chandrasekhar T., Muralidharan P. Cognitive enhancing, anti-acetylcholinesterase, and antioxidant properties of *Tagetes patula* on scopolamine-induced amnesia in mice. *International Journal of Green Pharmacy*. 2015. Vol. 9, № 3. P. 167.
14. Rossana Martínez, Beth Diaz, Luís Vásquez, Reinaldo S. Compagnone, Stephen Tillett, Dilsia J. Canelón. Chemical Composition of Essential Oils and Toxicological evaluation of *Tagetes erecta* and *Tagetes patula* from Venezuela. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2009. Vol. 12, № 4. P. 476–481.
15. Ying Gong, Xuan Liu, Wen-Hao He, Hong-Gao Xu, Fang Yuan, Yan-Xiang Gao. Investigation into the antioxidant activity and chemical composition of alcoholic extracts from defatted marigold (*Tagetes erecta* L.) residue. *Fitoterapia*. 2012. Vol. 3, № 3. P. 481-489.
16. Reena Jain, Nidhi Katare, Vijay Kumar, Amit Kumar Samanta, Swati Goswami, C.K. Shrotri. In Vitro Antibacterial Potential of Different Extracts of *Tagetes Erecta* and *Tagetes Patula*. *Journal of Natural Sciences Research*. 2012, Vol. 2, № 5. P. 84-91.

17. Todorov S. D., Wachsmann M. B., Knoetze H., Meincken M., Dicks L. M. An antibacterial and antiviral peptide produced by *Enterococcus mundtii* ST4V isolated from soya beans. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2005. Vol. 25, № 6. P. 508-513.

18. Войцехівська О. В., Ситар О. В., Таран Н. Ю. Фенольні сполуки: різноманіття, біологічна активність, перспективи застосування. *Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія: Біологія*. 2015. Т. 1, № 34. С. 104-119.

19. Murphy K. J., Walker K. M., Dyer K. A., Bryan J. Estimation of daily intake of flavonoids and major food sources in middle-aged Australian men and women. *Nutrition Research*. 2019. Vol. 61. P. 64-81.

20. Ali A., Tabanca N., Demirci B., Amin E., Khan I. Chemical composition of *Tagetes patula* essential oil and its bioactivity against *Aedes aegypti*. *Planta Medica*. 2015. Vol. 81, № 5.

21. Cushnie T. P., Lamb A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2005. № 25. P. 343–356.

22. Gajender, Mazumder Avijit, Sharma Ashwani, Azad Md. A. K. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2023, Article ID 4139117. 17.

23. Giri R. K., Bose A., Mishra S. K. Hepatoprotective activity of *Tagetes erecta* against carbon tetrachloride-induced hepatic damage in rats. *Acta Polonice Pharmaceutica – Drug Research*. 2011. Vol. 68, № 6. P. 999–1003.

24. Кузнєцова В. Ю., Кисличенко В. С. Хімічний склад та біологічна активність рослин роду *Tagetes* (огляд літератури). *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. Vol. 4, № 51. P. 13–20.

25. Kiranmai M., Ibrahim M. Anti Bacterial Potential Of Different Extracts of *Tagetes Erecta* Linn. *International Journal of Pharmacy*. 2012. Vol. 2, № 10. P. 90–96.

26. Rhama S., Madhavan S. Antibacterial Activity of the Flavonoid, patulitrin isolated from the flowers of *Tagetes erecta* L. *International Journal of PharmTech Research*. 2011. Vol. 3, № 3. P.1407–1409.

27. Фармацевтична енциклопедія / за ред. проф. В.П. Черниха. Флавоноїди.
<https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/408/flavonoidi>

28. Державна Фармакопея України: в 3 т. ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків: РІРЕГ, 2015. Т. 1. 1128 с.

29. Державна Фармакопея України: в 3 т. ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків: РІРЕГ, 2014. Т. 3. 732 с.

30. Гарник Т. П., Коновалова О. Ю., Туманова В. А. Фармакогностичне дослідження квіток чорнобривців розлогих (*Tagetes patula* L.). Фітотерапія. Часопис. 2015, № 2. С.54–57.