

С. А. КОТОВ (<https://orcid.org/0000-0001-5154-0961>),

Т. М. ГОНТОВА (<https://orcid.org/0000-0003-3941-9127>), д-р фарм. наук, проф.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

ВИВЧЕННЯ ЗАЛЕЖНОСТІ МІЖ ВМІСТОМ ПОЛІФЕНОЛІВ У РІЗНИХ КОМБІНАЦІЯХ РОСЛИННИХ ЕКСТРАКТІВ ТА ЇХНЬОЮ АНТИОКСИДАНТНОЮ АКТИВНІСТЮ БАГАТОКОМПОНЕНТНОГО РОСЛИННОГО ЗАСОБУ АНТИАЛЕРГІЙНОЇ ДІЇ

Ключові слова: екстракти череди, глуду, нагідок, комбінації, поліфеноли, антиоксидантна активність, синергізм

S. A. KOTOV (<https://orcid.org/0000-0001-5154-0961>),

T. M. GONTOVA (<https://orcid.org/0000-0003-3941-9127>)

National University of Pharmacy, Kharkiv

STUDY OF THE CORRELATION BETWEEN THE CONTENT OF POLYPHENOLS IN DIFFERENT COMBINATIONS OF PLANT EXTRACTS AND THEIR ANTIOXIDANT ACTIVITY OF A MULTICOMPONENT HERBAL MEDICINE WITH ANTIALLERGIC EFFECT

Key words: bur-marigold, calendula, hawthorn extracts, combinations, polyphenols, antioxidant activity, synergism

Зросла поширеність алергійних захворювань в останні десятиліття. Хоча алопатичні ліки, такі як кортикостероїди, антигістамінні препарати, стабілізатори тучних клітин та інгібітори лейкотрієнів є доступними, ці препарати не завжди здатні поліпшувати якість життя пацієнтів. У результаті багато пацієнтів із хронічними алергійними захворюваннями шукають альтернативну медицину, щоб досягти кращого контролю над симптомами. Незважаючи на обмежені дані про ефективність та безпеку рослинних препаратів у лікуванні алергійних станів, у всьому світі зростає інтерес до використання альтернативної медицини, зокрема і до лікарських рослин [1]. Традиційна практика використання лікарських рослин у фітотерапії в багатьох частинах світу передбачає призначення комбінацій лікарських рослин із широким спектром дії, які одночасно охоплюють декілька стратегій лікування. Комбінації забезпечують спільну роботу декількох активних складових, що може призвести до адитивного або синергетичного ефекту взаємодії. Термін «синергія» стосується рецептури цілих комбінацій рослин, потенціал яких збільшується або за допомогою адитивних, або синергетичних взаємодій. Майстерність та практика поєднання рослин таким чином – це досвід, що розвивався упродовж багатьох поколінь [2]. Синергетичні взаємодії мають життєво важливе значення у фітотерапії для пояснення труднощів із виділенням єдиного активного інгредієнта та для пояснення ефективності явно низьких доз активних компонентів у рослинному продукті. Ця концепція, відповідно до якої повністю або частково очищений екстракт рослин має перевагу перед окремим ізольованим інгредієнтом, також лежить в основі філософії фітотерапії [3]. Концепція синергії є невід’ємною частиною філософії традиційної китайської медицини (ТКМ). Вважають, що синергетичні взаємодії між рослинами в складних сумішах ТКМ здатні збільшувати біодоступність активних компонентів, сприяти терапевтичним ефектам та/або зменшувати токсичність [4]. Дизайн рослинних сумішей має дотримуватися принципу відповідності, званому «Reiwei», який вимагає розгляду різних взаємозв’язків рослинних інгредієнтів, включаючи синергізм. Базуючись на цьому принципі, різні рослини поєднуються відповідно до правила «Jun–Chen–Zuo–Shi» (також відомого як «Імператор–міністр–помічник–кур’єр») для досягнення бажаних ефектів та/або для мінімізації побічних ефектів. «Jun» – це основна рослина в

суміші з відносно більш високим співвідношенням у складі, безпосередньо спрямована на хворобу; «Chen» – є допоміжною рослиною для підвищення терапевтичного ефекту ключової рослини або для боротьби з супутніми симптомами; «Zuo» зазвичай використовують для зменшення побічних ефектів рослинної суміші; «Shi» – це рослина, яке направляє активні інгредієнти, щоб досягти цільових органів або гармонізувати їх дії [5].

Наведені нами принципи реалізовані під час розроблення багатокомпонентного рослинного засобу антиалергійної дії. Спочатку ми склали список із рослин, які найчастіше використовують для лікування алергії та супровідних захворювань. Далі зі списку для досліджень відбирали рослини на основі таких критеріїв – достатньо вивчена рослина з хімічної точки зору з відомою фармакологічною дією, що росте в Україні і має достатню сировинну базу та якість її регламентована монографіями Державної фармакопеї України (ДФУ). У результаті вибір було зупинено на комбінації череда–нагідки–глід. Останнім критерієм ці рослини повністю задовольняли.

За протиалергійну дію головною відповідальною рослиною у вибраному складі є череда трироздільна (*Bidens tripartita*). Детальний аналіз біологічно активних речовин (БАР) сировини, які відповідають за цей вид активності, наведено в попередній роботі [6]. Другою рослиною у вибраному складі є нагідки лікарські (*Calendula officinalis*), які не є традиційним засобом боротьби з алергією, але мають хорошу доказову базу їх протизапальної дії. Аналіз фармакологічної дії різних класів БАР сировини також наведено в роботі [6], де зазначено про протиалергійну активність кверцетину, імуностимулювальну дію водорозчинних полісахаридів, а також протинабрякову дію похідних фарадіолу, що входять до складу сировини [7]. І третьою сировиною у вибраному складі є глуду листя та квітки. Глікозиди лютеоліну та апігеніну, що є складовими сировини, виявляють, окрім іншого, протиалергійну дію [8], а тритерпени, зокрема олеанолова кислота, урсолова кислота, кратеголова кислота, сприятливо впливають на коронарний кровообіг [9]. Вибраний нами склад рослин узгоджується з філософією ТКМ «Jun–Chen–Zuo–Shi»: череда – це головна рослина, безпосередньо направлена на лікування алергії; нагідки – рослина-помічник, завдяки зокрема і додатковій протиалергійній дії кверцетину, а також вона допомагає в боротьбі зі супутніми симптомами завдяки протизапальній, а також протинабряковій дії, окрім того, враховуючи, що алергія визначається як захворювання, що виникає внаслідок реакції імунної системи на нешкідливий антиген, може бути не зайвою імуностимулювальна активність екстрактів нагідок. Глід гармонізує дію перших 2-х рослин завдяки поліпшенню припливу крові через коронарні артерії до серця, поліпшенню поглинання кисню та підвищенню ефективності його закачування.

Співвідношення вибраних рослин для розроблення протиалергійного рослинного засобу нами було вибрано емпірично, при цьому ми використовували фітохімічний та фітофармакологічний дизайн засобу, що розроблявся [10].

У пошуках кількісного вимірювання синергії запропоновано численні математичні моделі, визначення яких, як правило, здійснюється точним математичним методом, що використовується для його демонстрації. Wagner і Steinke [11] успішно застосували метод ізобол для оцінки синергії між різними сумішами гінкголіду А і В (складових гінкго білоба), виміряної за допомогою агрегації тромбоцитів. Однак той самий Вагнер у роботі [12] зауважує, що, хоча цей метод може бути придатним для досліджень залежності від дози з двокомпонентними сумішами, він не є правдоподібним методом для застосування до сумішей рослинних екстрактів, які потребують детальних порівняльних досліджень *in vitro* або *in vivo* з окремими компонентами або сумішами та фракціями екстракту або цілими екстрактами. Багато моделей, аналогічних цим вимогам, було розроблено як згаданий вище метод ізобол, але на сьогодні не виявлено жодної для надійної інтерпретації реакцій між складними багатокомпонентними рослинними сумішами. У

роботі [13] запропоновано як попередник більш складних досліджень аналіз з використанням непараметричного статистичного тесту, який, принаймні, вказує, як взаємодіють два або більше екстракти рослин, просто на основі спостережуваних ефектів.

Метою цієї роботи було з'ясування можливих синергетичних взаємодій у багатокомпонентному рослинному засобі антиалергійної дії шляхом вивчення кореляції між вмістом біологічно активних сполук у різних комбінаціях рослинних екстрактів та їхньою антиоксидантною активністю.

Матеріали та методи дослідження

Метод отримання випробовуваних сухих екстрактів та їх композицій

Об'єднані серії череди трироздільної трави, нагідок квіток та глоду листя та квіток було проаналізовано на базі ДП «Фармакопейний центр» на відповідність вимогам відповідних монографій ДФУ. Висушену сировину подрібнювали, після подрібнення сировину просіювали крізь сито 3 000 (ДФУ, 2.9.12). Як екстрагент використовували спирт етиловий 40%-й. Спосіб одержання сухих екстрактів детально описано в роботі [6]. Таким чином, було одержано як індивідуальні екстракти кожної із рослин, так і цільовий комбінований екстракт зі співвідношенням вихідної сировини 6:3:1, антиалергійну активність якого вивчено в роботі [6]. Дво- і трикомпонентні композиції екстрактів одержували змішуванням індивідуальних екстрактів у відповідних співвідношеннях, які були в діапазоні їх можливого вмісту в композиції багатокомпонентного рослинного засобу.

Метод визначення вмісту поліфенольних сполук

Сумарний вміст фенольних сполук визначали модифікованим методом Фоліна-Чіокалтеу з використанням суміші фосфорно-вольфрамової і фосфорно-молібденової кислот відповідно до загальної статі ДФУ 2.0, 2.8.14 «Визначення танінів у лікарській рослинній сировині» [14]. Як стандарт, на який розраховували вміст поліфенолів, використовували ФСЗ ДФУ пірогалолу. Вимірювання здійснювали на спектрофотометрі HP-8453 UV-VIS, Hewlett Packard (США) за довжини хвилі 760 нм.

Метод визначення антиоксидантної активності неокупроїновим методом

До наважки екстрактів додавали метанол і нагрівали суміш на водяній бані зі зворотним холодильником. Одержані витяги фільтрували, відбирали відповідні аліквоти і змішували з 1 мл розчину хлориду міді, 1 мл буферного розчину амонію ацетату, 1 мл розчину неокупроїну, 0,9 мл води і залишали на 30 хв у темному місці. Паралельно готували розчин стандарту – Тролоксу (водорозчинного аналога вітаміна Е). Вимірювання виконували на спектрофотометрі HP-8453 UV-VIS, Hewlett Packard (США) за довжини хвилі 450 нм. Значення ТАС розраховували в ммол ТЕ/г (the mmol «trolox equivalent» (ТЕ) антиоксидантної активності в грамі екстракту), а також у г/мл одержаних витягів у перерахунку на стандарт Тролоксу.

Статистичний аналіз

Кореляцію Пірсона використовували для обчислення взаємозв'язку між вмістом біологічно активних компонентів в екстрактах та їх антиоксидантною активністю. Вміст компонентів та антиоксидантну активність виражали як середнє трьох паралельних вимірів.

Результати дослідження та обговорення

Вибір БАР для вивчення кореляції між їх вмістом та антиоксидантною активністю багатокомпонентного рослинного засобу антиалергійної дії

У численних дослідах показано, що споживання антиоксидантних продуктів, таких як поліфенольні сполуки, асоціюється зі зниженою ймовірністю астми та симптомів свистячого дихання [15]. Наявність поліфенолів у щоденному раціоні надає їм профіль безпеки та обґрунтовує їх визнання як протиалергійних засобів. Відомо,

що поліфеноли можуть утворювати нерозчинні комплекси з алергенними білками, змінюючи їх структуру або знижуючи її біодоступність. Ці ефекти можуть призвести до неефективної презентації антигену спеціалізованими клітинами, такими як дендритні клітини, і пригнічувати проліферацію Т-клітин і вироблення цитокінів. Таким чином, ці сполуки можуть модулювати різні фази алергії, пригнічувати запалення дихальних шляхів і еозинофілію тканин, запобігати харчовій алергії та контролювати стафілококову інфекцію за atopічної екземи [16].

У попередніх роботах нами вивчено методами ВЕРХ, спектрофотометрії, денситометрії якісний та кількісний вміст у досліджуваних екстрактах череди, нагідок і глоду таких біологічно активних речовин, як флавоноїди, поліфеноли, тритерпени [6]. Зважаючи на відому антиалергійну дію поліфенолів і виходячи з того, що поліфеноли, які присутні в усіх вибраних рослинах, мають антиоксидантну активність, одержані відповідні сухі екстракти, а також їх дво- та трикомпонентні суміші було проаналізовано на вміст поліфенолів (результати наведено в табл. 1).

Т а б л и ц я 1

Результати визначення вмісту поліфенолів у випробовуваних екстрактах

Екстракти та їх комбінації	Поліфеноли	
	знайдено, %	% від теоретично розрахованого
Екстракт череди (Ч)	5,51 ± 0,09*	–
Екстракт нагідок (Н)	3,42 ± 0,04	–
Екстракт глоду (Г)	7,04 ± 0,07	–
Екстракт Ч + Н 1:0,5/67:33	4,54 ± 0,06	94,3
Екстракт Ч + Н 1:1/50:50	4,25 ± 0,08	95,2
Екстракт Ч + Г 1:0,1/91:9	5,47 ± 0,09	96,6
Екстракт Ч + Г 1:0,5/67:33	5,71 ± 0,11	94,1
Екстракт Н + Г 1:0,1/91:9	3,73 ± 0,05	99,1
Екстракт Н + Г 1:0,5/67:33	4,54 ± 0,08	98,3
Екстракт Ч + Н + Г (6:3:1 частин сировини) 1:0,8:0,25/49:39:12**	5,03 ± 0,10	102,8
Екстракт Ч + Н + Г (6:2:2 частин сировини) 1:0,5:0,5/50:25:25	5,36 ± 0,08	99,1
Екстракт Ч + Н + Г (7:2,5:0,5 частин сировини) 1:0,5:0,1/63:31:6	5,06 ± 0,09	101,9
Екстракт Ч + Н + Г (6:3,5:0,5 частин сировини) 1:1:0,1/48:48:4	4,48 ± 0,07	96,9
Екстракт Ч + Н + Г (5:3,5:1,5 частин сировини) 1:1:0,5/40:40:20	4,99 ± 0,08	99,7

Примітка: * – $n = 3, \pm SD$; ** – X:Y:Z/X1:Y1:Z1 – співвідношення екстрактів у комбінованому екстракті/співвідношення частин екстрактів у цій комбінації, у % (необхідне для розрахунку теоретично розрахованих значень).

Як випливає з табл. 1, максимальну кількість поліфенолів визначено в екстракті глоду (7,04%), далі йде екстракт череди (5,51%) і далі – екстракт нагідок – 3,42%, що корелює зі вмістом флавоноїдів у сировині: у глода листі та квітках – не менше 2% суми флавоноїдів, у череди траві – не менше 1,0%, а у нагідок квітках – не менше 0,4%. Також, як видно із табл. 1, знайдений вміст поліфенолів у комбінаціях екстрактів добре співпадає із теоретичним вмістом, розрахованим із врахуванням конкретних співвідношень екстрактів у комбінації.

Після фітохімічного аналізу випробовувані екстракти, а також різні їх комбінації оцінювали *in vitro* на антиоксидантну активність.

Методів визначення антиоксидантної активності (ТАС) існує достатньо багато, найбільш популярними серед них є ABTS/TEAC, FRAP, DPPH, Folin-Ciocalteu і CUPRAC [17]. CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity assay) ґрунтується на здатності антиоксидантів взаємодіяти з комплексом Cu(II)–неокупроїн. При цьому Cu(II) відновлю-

ється до Cu(I) і утворює з неокупроїном забарвлений комплекс (максимум поглинання в області 450 нм). Перевагою цього методу є те, що реагент CUPRAC є селективним, він набагато більш стабільний і легкодоступний, чим реагенти з хромогенними радикалами; метод передбачає мінімальну пробопідготовку; окислювально-відновлювальна реакція проявляється за рН, близькому до фізіологічного (рН 7 буфера ацетату амонію), на відміну від нереалістичних кислих умов (рН 3,6) у методі FRAP або, навпаки, лужних умов у методі Folin-Ciocalteu. У більш кислих умовах, ніж фізіологічний рН, відновлювальна здатність може бути пригнічена через протонування фенольних сполук, тоді як у більш лужних умовах протонна дисоціація фенольних сполук (у формі фенолятів) навпаки може завищувати відновлювальну здатність зразка [18].

Враховуючи це, антиоксидантну активність чистих екстрактів та їх різних комбінацій визначали CUPRAC методом, результати наведено у табл. 2. Із одержаних результатів визначення антиоксидантної активності чистих екстрактів та їх різних комбінацій неокупроїновим методом можна зробити такі висновки: при додаванні до екстракту череди екстракту нагідок антиоксидантна активність очікувано зменшується (чим більше додано, тим більше зменшується), оскільки екстракт нагідок показує в 2,5 рази меншу активність, ніж екстракт череди, тобто спостерігається адитивний ефект.

Т а б л и ц я 2

Антиоксидантна активність випробовуваних екстрактів, визначена неокупроїновим методом

Екстракти та їх комбінації	ТАС, ммолТЕ/г	ТАС, г/мл	Знайдено, % від очікуваного**	Змінення активності при змінненні співвідношення компонентів, %
Екстракт череди (Ч)	0,973 ± 0,032*	0,244 ± 0,008	–	–
Екстракт нагідок (Н)	0,491 ± 0,025	0,115 ± 0,006	–	–
Екстракт глоду (Г)	1,238 ± 0,044	0,309 ± 0,011	–	–
Екстракт Ч + Н 1:0,5/67:33	0,769 ± 0,029	0,193 ± 0,007	95,68	79,1 щодо череди
Екстракт Ч + Н 1:1/50:50	0,699 ± 0,026	0,175 ± 0,006	97,54	71,9 щодо череди
Екстракт Ч + Г 1:0,1/91:9	1,002 ± 0,039	0,251 ± 0,010	100,64	103,0 щодо череди
Екстракт Ч + Г 1:0,5/67:33	1,173 ± 0,045	0,294 ± 0,012	110,61	120,5 щодо череди
Екстракт Н + Г 1:0,1/91:9	0,485 ± 0,022	0,121 ± 0,006	95,54	105,3 щодо нагідок
Екстракт Н + Г 1:0,5/67:33	0,668 ± 0,029	0,167 ± 0,007	96,03	130,3 щодо нагідок
Екстракт Ч + Н + Г (6:3:1 частин сировини) 1:0,8:0,25/49:39:12**	0,790 ± 0,032	0,201 ± 0,008	100,30	–
Екстракт Ч + Н + Г (6:2:2 частин сировини) 1:0,5:0,5/50:25:25	0,901 ± 0,035	0,226 ± 0,009	98,86	112,1 щодо Ч + Н + Г (6:3:1)
Екстракт Ч + Н + Г (7:2,5:0,5 частин сировини) 1:0,5:0,1/63:31:6	0,801 ± 0,033	0,204 ± 0,008	98,77	101,4 щодо Ч + Н + Г (6:3:1)
Екстракт Ч + Н + Г (6:3,5:0,5 частин сировини) 1:1:0,1/48:48:4	0,698 ± 0,028	0,185 ± 0,007	98,71	91,8 щодо Ч + Н + Г (6:3:1)
Екстракт Ч + Н + Г (5:3,5:1,5 частин сировини) 1:1:0,5/40:40:20	0,792 ± 0,034	0,198 ± 0,009	96,50	98,5 щодо Ч + Н + Г (6:3:1)

П р и м і т к а: * – $n = 3, \pm SD$; ** – X:Y:Z/X1:Y1:Z1 – співвідношення екстрактів у комбінованому екстракті/співвідношення частин екстрактів у цій комбінації, у % (необхідне для розрахунку очікуваних значень).

У разі додавання до екстракту череди екстракту глоду антиоксидантна активність збільшується за співвідношення 1:0,5 (120% по відношенню до екстракту череди), а також для цього співвідношення спостерігається збільшення (110,6%) порівняно з очікуваним (теоретично розрахованим), що може бути приводом для припущення синергізму для такої комбінації. У комбінації нагідки–глід очікувано спостерігається збільшення антиоксидантної активності (співвідношення 1:0,5 показує збільшення на 130% порівняно з активністю чистого екстракту нагідок), що також пояснюється тим, що екстракт глоду виявляє майже у 3 рази більшу активність, ніж екстракт нагідок.

Стосовно трикомпонентних комбінацій виявлено, що тільки комбінація Ч + Н + Г (1:0,5:0,5) показує більшу активність (112%), ніж цільовий екстракт Ч + Н + Г (1:0,8:0,25), всі інші комбінації проявляють дещо меншу або таку саму антиоксидантну активність. У цілому можна зробити висновок, що всі аналізовані трикомпонентні композиції, які охоплюють діапазон можливих варіацій компонентів у багатокомпонентному рослинному засобі, що розробляється, проявляють антиоксидантну активність у межах цих можливих варіацій ($\pm 10\%$). Для з'ясування достовірних синергетичних взаємодій усіх компонентів необхідні додаткові детальні дослідження *in vivo* як з окремими екстрактами, так і різними їх сумішами.

Одержані результати було статистично оброблено, а саме вивчено лінійну залежність (рисунок, рівняння $Y = 1,7599 + 15,3787X$, $R = 0,95968$, де Y – вміст поліфенолів, %; X – антиоксидантна активність ТАС, г/мл), а також проведено розрахунок кореляційної залежності між вмістом поліфенолів у досліджуваних комбінаціях і знайденою антиоксидантною активністю, використовуючи коефіцієнт Пірсона. Виявлено сильну позитивну кореляцію між даними характеристиками (коефіцієнт кореляції Пірсона, $r = 0,956365$, $t_r = 11,33886$, $t_{\text{крит}} = 3,055$ за $p < 0,01$, $t_r > t_{\text{крит}}$, відповідно залежність є статистично значущою; де r – коефіцієнт рангової кореляції Пірсона, t_r – значимість коефіцієнта).

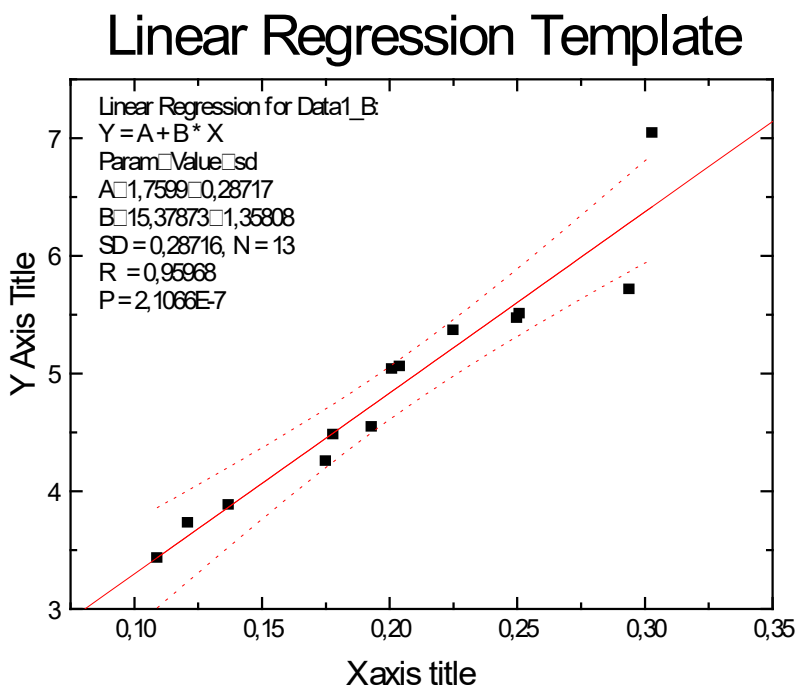


Рис. Графік залежності антиоксидантної активності екстрактів від вмісту поліфенолів

Висновки

1. Вивчено кореляцію між вмістом біологічно активних сполук у різних комбінаціях рослинних екстрактів та їх антиоксидантною активністю багатокомпонентного рослинного засобу антиалергійної дії.

2. У двокомпонентних комбінаціях екстрактів череди, глоду, нагідок виявлено адитивний ефект під час визначення їхньої антиоксидантної активності, і тільки для комбінації екстракт череди:екстракт глоду 1:0,5 зроблено припущення про наявність синергетичного ефекту.

3. Усі аналізовані трикомпонентні композиції, які охоплювали діапазон можливих варіацій компонентів у багатокомпонентному рослинному засобі, виявляли антиоксидантну активність у межах цих можливих варіацій ($\pm 10\%$).

4. Під час розрахунку кореляційної залежності між вмістом поліфенолів у досліджуваних комбінаціях і знайденою їхньою антиоксидантною активністю, використавши коефіцієнт Пірсона, виявлена сильна позитивна кореляція між цими характеристиками.

Список використаної літератури

1. *Cota Betania B., Bertollo Caryne M., De Oliveira Djalma M.* Anti-Allergic Potential of Herbs and Herbal Natural Products. Activities and Patents // Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery. – 2013. – V. 7, N 1. – P. 26–56. <https://doi.org/10.2174/187221413804660935>

2. *Caesar Lindsay K., Cech Nadja B.* Synergy and antagonism in natural product extracts: when 1 + 1 does not equal 2 // Natural Product Reports. – 2019. – V. 36. – P. 869–888. <https://doi.org/10.1039/c9np00011a>

3. *Williamson E. M.* Synergy and other interactions in phytomedicines // Phytomedicine. – 2001. – V. 5. – P. 401–409. <https://doi.org/10.1078/0944-7113-00060>

4. *Jia W., Gao W. Y., Yan Y. Q. et al.* The rediscovery of ancient Chinese herbal formulas // Phytother. Res. – 2004. – V. 18, N 8. – P. 681–686. <https://doi.org/10.1002/ptr.1506>

5. *Zhou X., Seto S. W., Chang D. et al.* A Synergistic Effects of Chinese Herbal Medicine: A Comprehensive Review of Methodology and Current Research // Front. Pharmacol. – 2016. – V. 7. – 201 p. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00201>

6. *Kotov S., Gontova T., Kononenko N. et al.* Phytochemical analysis and anti-allergic activity of a combined herbal medicine based on bur-marigold, calendula and hawthorn // Pharmacia. – 2022. – V. 69, N 1. – P. 237–247. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.69.e77624>

7. *Schneider F., Reichembach Danski M. T., Vayego S. A.* Usage of Calendula officinalis in the prevention and treatment of radiodermatitis: a randomized double-blind controlled clinical trial // J. School Nursing USP. – 2015. – V. 49, N 2. – P. 220–226.

8. *Ngoc P. C.* Water-Based Extraction of Bioactive Principles from Hawthorn, Blackcurrant Leaves and Chrysanthellum Americanum: from Experimental Laboratory Research to Homemade Preparations. – Analytical chemistry. Université Montpellier, France. – 2020. – 328 p. NNT: 2020MONT051

9. *Williamson E., Driver S., Baxter K.* Stockley's herbal medicines interactions. – London: Pharmaceutical Press, 2009. – 432 p.

10. *Котов С. А., Гонтова Т. М., Котов А. Г.* Аспекти проектування комбінованого засобу поліфункціональної дії на основі лікарської рослинної сировини // Фармац. журн. – 2021. – Т. 76, № 5. – С. 57–67. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.5.21.06>

11. *Wagner H.* New approach in phytopharmacological research // Pure Appl. Chem. – 1999. – V. 71, N 9. – P. 1649–1654. <https://doi.org/10.1351/pac199971091649>

12. *Wagner H.* Natural products chemistry and phytomedicine in the 21st century: New developments and challenges // Pure and Applied Chemistry. – 2005. – V. 77, N 1. – P. 1–6. <https://doi.org/10.1351/pac200577010001>

13. *Pendry Barbara Ann.* Analysis of selected medicinal plants as antioxidants with therapeutic potential for treating diseases related to free radical damage. A thesis for the degree of Doctor of Philosophy. – Middlesex University. – 2005. – 282 p.

14. Державна фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2-ге вид. – Харків: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2015. – Т. 1. – 1128 с. ISBN 978-96697390-0-1

15. *Allan K., Devereux G.* Diet and asthma: Nutrition implications from prevention to treatment // J. Am. Diet. Assoc. – 2011. – V. 111. – P. 258–268.

16. *Singh A., Holvoet S., Mercenier A.* Dietary polyphenols in the prevention and treatment of allergic diseases // Clin. Exp. Allergy. – 2011. – V. 41. – P. 1346–1359.

17. *Ayse Karadag, Beraat Ozcelik, Samim Saner.* Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities // Food Anal. Methods. – 2009. – V. 2. – P. 41–60. <https://doi.org/10.1007/s12161-008-9067-7>

18. *Mustafa Özyürek, Kubilay Güçlü, Esmâ Tütem et al.* A comprehensive review of CUPRAC methodology // Analytical Methods. – 2011. – V. 3. – P. 2439–2453. <https://doi.org/10.1039/c1ay05320e>

References

1. *Cota Betania B., Bertollo Caryne M., De Oliveira Djalma M.* Anti-Allergic Potential of Herbs and Herbal Natural Products. Activities and Patents // Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery. – 2013. – V. 7, N 1. – P. 26–56. <https://doi.org/10.2174/187221413804660935>
2. *Caesar Lindsay K., Cech Nadja B.* Synergy and antagonism in natural product extracts: when 1 + 1 does not equal 2 // Natural Product Reports. – 2019. – V. 36. – P. 869–888. <https://doi.org/10.1039/c9np00011a>
3. *Williamson E. M.* Synergy and other interactions in phytomedicines // Phytomedicine. – 2001. – V. 5. – P. 401–409. <https://doi.org/10.1078/0944-7113-00060>
4. *Jia W., Gao W. Y., Yan Y. Q. et al.* The rediscovery of ancient Chinese herbal formulas // Phytoter. Res. – 2004. – V. 18, N 8. – P. 681–686. <https://doi.org/10.1002/ptr.1506>
5. *Zhou X., Seto S. W., Chang D. et al.* A Synergistic Effects of Chinese Herbal Medicine: A Comprehensive Review of Methodology and Current Research // Front. Pharmacol. – 2016. – V. 7. – 201 p. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00201>
6. *Kotov S., Gontova T., Kononenko N. et al.* Phytochemical analysis and anti-allergic activity of a combined herbal medicine based on bur-marigold, calendula and hawthorn // Pharmacia. – 2022. – V. 69, N 1. – P. 237–247. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.69.e77624>
7. *Schneider F., Reichembach Danski M. T., Vayego S. A.* Usage of Calendula officinalis in the prevention and treatment of radiodermatitis: a randomized double-blind controlled clinical trial // J. School Nursing USP. – 2015. – V. 49, N 2. – P. 220–226.
8. *Ngoc P. C.* Water-Based Extraction of Bioactive Principles from Hawthorn, Blackcurrant Leaves and Chrysanthellum Americanum: from Experimental Laboratory Research to Homemade Preparations. – Analytical chemistry. Université Montpellier, France. – 2020. – 328 p. NNT: 2020MONT051
9. *Williamson E., Driver S., Baxter K.* Stockley's herbal medicines interactions. – London: Pharmaceutical Press, 2009. – 432 p.
10. *Kotov S. A., Gontova T. M., Kotov A. G.* Aspekty proektuvannya kombinovanogo zasobu polifunkcionalnoi dii na osnovi likarskoi roslynnoi syrovyny // Farmats. zhurn. – 2021. – T. 76, № 5. – S. 57–67. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.5.21.06>
11. *Wagner H.* New approach in phytopharmacological research // Pure Appl. Chem. – 1999. – V. 71, N 9. – P. 1649–1654. <https://doi.org/10.1351/pac199971091649>
12. *Wagner H.* Natural products chemistry and phytomedicine in the 21st century: New developments and challenges // Pure and Applied Chemistry. – 2005. – V. 77, N 1. – P. 1–6. <https://doi.org/10.1351/pac200577010001>
13. *Pendry Barbara Ann.* Analysis of selected medicinal plants as antioxidants with therapeutic potential for treating diseases related to free radical damage. A thesis for the degree of Doctor of Philosophy. – Middlesex University. – 2005. – 282 p.
14. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy: v 3 t. / DP «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv», 2-he vyd. – Kharkiv: DP «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv» – 2015. – T. 1. – 1128 s. ISBN 978-96697390-0-1 ISBN 978-96697390-0-1*
15. *Allan K., Devereux G.* Diet and asthma: Nutrition implications from prevention to treatment // J. Am. Diet. Assoc. – 2011. – V. 111. – P. 258–268.
16. *Singh A., Holvoet S., Mercenier A.* Dietary polyphenols in the prevention and treatment of allergic diseases // Clin. Exp. Allergy. – 2011. – V. 41. – P. 1346–1359.
17. *Ayse Karadag, Beraat Ozcelik, Samim Saner.* Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities // Food Anal. Methods. – 2009. – V. 2. – P. 41–60. <https://doi.org/10.1007/s12161-008-9067-7>
18. *Mustafa Özyürek, Kubilay Güçlü, Esma Tütem et al.* A comprehensive review of CUPRAC methodology // Analytical Methods. – 2011. – V. 3. – P. 2439–2453. <https://doi.org/10.1039/c1ay05320e>

Надійшла до редакції 10 жовтня 2022 р.

Прийнято до друку 21 жовтня 2022 р.

C. A. Котов (<https://orcid.org/0000-0001-5154-0961>),
Т. М. Гонтова (<https://orcid.org/0000-0003-3941-9127>)

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

ВИВЧЕННЯ ЗАЛЕЖНОСТІ МІЖ ВМІСТОМ ПОЛІФЕНОЛІВ У РІЗНИХ КОМБІНАЦІЯХ
РОСЛИННИХ ЕКСТРАКТІВ ТА ЇХНЬОЮ АНТИОКСИДАНТНОЮ АКТИВНІСТЮ
БАГАТОКОМПОНЕНТНОГО РОСЛИННОГО ЗАСОБУ АНТИАЛЕРГІЙНОЇ ДІЇ

Ключові слова: екстракти череди, глоду, нагідок, комбінації, поліфеноли, антиоксидантна активність, синергізм

А Н О Т А Ц І Я

Комбінації лікарських рослин забезпечують спільну роботу декількох активних складових, що може призвести до адитивного або синергетичного ефекту. Нами вибрано комбінацію череда–нагідки–глід для одержання рослинного засобу антиалергійної дії, в якій череда – це головна рослина, направлена на лікування алергії, нагідки – рослина-помічник, яка допомагає в боротьбі зі супутніми симптомами, а глід гармонізує дію перших двох рослин.

Мета – з'ясування можливих синергетичних взаємодій у багатокомпонентному рослинному засобі антиалергійної дії шляхом вивчення кореляції між вмістом поліфенолів у різних комбінаціях рослинних екстрактів та їхньою антиоксидантною активністю.

Було одержано як індивідуальні екстракти череди трави, нагідок квіток та глоду листя та квіток, так і цільовий комбінований екстракт зі співвідношенням сировини (6:3:1). Дво- і трикомпонентні композиції екстрактів одержували змішуванням екстрактів у відповідних співвідношеннях. Вміст поліфенолів визначали відповідно до ДФУ 2.0, 2.8.14. Антиоксидантну активність екстрактів визначали неокупроїновим методом. Для обчислення взаємозв'язку між вмістом поліфенолів в екстрактах та їхньою антиоксидантною активністю використовували кореляцію Пірсона.

В екстракті глоду визначена максимальна кількість поліфенолів (7,2%), менше в екстракті череди (5,5%) і в екстракті нагідок (3,4%). У разі додавання до екстракту череди екстракту нагідок антиоксидантна активність очікувано зменшується, тобто спостерігається адитивний ефект; для комбінації екстракт череди/екстракт глоду 1:0,5 спостерігається збільшення антиоксидантної активності (110,6%) порівняно з очікуваним значенням, що припускає синергізм; для комбінації екстракт нагідок/екстракт глоду очікувано спостерігається збільшення активності. Для трикомпонентних комбінацій виявлено, що тільки комбінація череда/нагідки/глід 1:0,5:0,5 має більшу активність (112%), ніж цільовий екстракт, всі інші комбінації виявляють антиоксидантну активність у межах можливих варіацій ($\pm 10\%$) компонентів. Виявлено сильну позитивну кореляцію між вмістом поліфенолів у досліджуваних комбінаціях і знайденою їхньою антиоксидантною активністю, використовуючи коефіцієнт Пірсона.

Вивчено кореляцію між вмістом поліфенолів у різних комбінаціях рослинних екстрактів та їхньою антиоксидантною активністю багатокомпонентного рослинного засобу антиалергічної дії. У двокомпонентних комбінаціях виявлено адитивний ефект під час визначення їхньої антиоксидантної активності, і тільки для комбінації екстракт череди/екстракт глоду 1:0,5 зроблено припущення про наявність синергетичного ефекту. Усі трикомпонентні комбінації виявляли антиоксидантну активність в межах можливих варіацій ($\pm 10\%$) компонентів у рослинному засобі. Виявлена сильна позитивна кореляція між вмістом поліфенолів у досліджуваних комбінаціях та їхньою антиоксидантною активністю.

S. A. Kotov (<https://orcid.org/0000-0001-5154-0961>),
T. M. Gontova (<https://orcid.org/0000-0003-3941-9127>)

National University of Pharmacy, Kharkiv

STUDY OF THE CORRELATION BETWEEN THE CONTENT OF POLYPHENOLS IN DIFFERENT COMBINATIONS OF PLANT EXTRACTS AND THEIR ANTIOXIDANT ACTIVITY OF A MULTICOMPONENT HERBAL MEDICINE WITH ANTIALLERGIC EFFECT

Key words: bur-marigold, calendula, hawthorn extracts, combinations, polyphenols, antioxidant activity, synergism

А Б С Т Р А К Т

Combinations of medicinal plants ensure the collective work of several active components, which can lead to an additive or synergistic effect. We have chosen the bur-marigold-calendula-hawthorn combination to obtain an antiallergic herbal medicine, in which the bur-marigold is the main plant, calendula is a helper plant that helps in the fight against accompanying symptoms, and hawthorn harmonizes the action of the first 2 plants.

The aim of the work – the study of possible synergistic interactions in a multicomponent herbal antiallergic preparation by calculating the correlation between the content of polyphenols in various combinations of plant extracts and their antioxidant activity.

Both individual extracts of a bur-marigold herb, calendula flowers and hawthorn leaves and flowers and a combined target extract with the ratio of herbal drugs (6:3:1) were obtained. Two and three component compositions were obtained by mixing extracts in appropriate ratios. The content of polyphenols was determined by SPhU 2.0, 2.8.14. The antioxidant activity was determined by the neocuproin method. The Pearson Correlation was used to calculate the relationship between the content of polyphenols in extracts and their antioxidant activity.

The maximum amount of polyphenols was found in the hawthorn extract (7.2%), in the bur-marigold extract – 5.5%, and in the calendula extract – 3.4%. When adding calendula extract to the bur-marigold extract, the antioxidant activity was expected to decrease, thus an additive effect is observed; for the combination of bur-marigold /hawthorn 1:0.5, an increase in antioxidant activity (110.6%) was observed compared to the expected value, which may be synergism; for the combination of calendula/hawthorn, an increase in activity was observed. For 3-component combinations, it was found that only the combination of bur-marigold/calendula/hawthorn 1:0.5:0.5 showed greater activity (112%) than the target extract, all others combinations showed activity within the limits of possible variations ($\pm 10\%$) of the components. When calculating the correlation between the content of polyphenols in the combinations and their activity using the Pearson coefficient, a strong positive correlation was found.

The correlation between the content of polyphenols in various combinations of plant extracts and their antioxidant activity of a multicomponent herbal antiallergic preparation was studied. In 2-component combinations an additive effect was found when determining antioxidant activity, and an assumption was made about the ability of a synergism only for a combination of bur-marigold/hawthorn 1:0.5. All analyzed 3-component compositions showed antioxidant activity within the limits of possible variations ($\pm 10\%$) of the components. A strong positive correlation was found between the content of polyphenols in the combinations and their activity.

*Електронна адреса для листування з авторами: <dr.snuffff@gmail.com
(Котов С. А.)*