

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
фармацевтичний факультет
кафедра фармакогнозії

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
на тему **«ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ АРНІКИ**
ГІРСЬКОЇ І ГАМАМЕЛІСУ ВІРГІНСЬКОГО»

Виконав: здобувач вищої освіти групи Фм18(4,10д)-02

спеціальності: 226 Фармація, промислова фармація
освітньої програми Фармація

Олександра ШОСТАК

Керівник: професор закладу вищої освіти кафедри
фармакогнозії, д.фарм.н., професор

Олена КРИВОРУЧКО

Рецензент: професор закладу вищої освіти кафедри хімії
природних сполук і нутриціології, д.фарм.н., професор

Андрій КОМІСАРЕНКО

Харків – 2023 рік

АНОТАЦІЯ

Робота присвячена фармакогностичному дослідженню арніки гірської і гамамелісу віргінського. В ході дослідження за допомогою якісного аналізу у квітках арніки та корі гамамелісу підтверджено наявність фенольних сполук, за допомогою ВЕРХ, ГХ та спектрофотометричного методу аналізу визначено вміст сесквітерпенових лактонів, фенольних сполук, танінів. З арніки квіток одержано екстракт, визначено його цитотоксичність та метаболізм впливу на шкіру людини.

Кваліфікаційна робота викладена на 63 сторінках машинописного тексту, складається з анотації, вступу, 4 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел, додатків, ілюстрована 7 таблицями та 14 рисунками. Список використаних джерел містить 53 найменування.

Ключові слова: арніка гірська (*Arnica montana*), гамамеліс віргінський (*Hamamelis virginiana*), мікробіота, кератиноцити, цитотоксичність, екстракт, кількісне визначення.

ANNOTATION

The work is devoted to the pharmacognostic study of arnica montana and witch hazel. In the course of the study, the presence of phenolic compounds in arnica flowers and witch hazel bark was confirmed by qualitative analysis; the content of sesquiterpene lactones, phenolic compounds, and tannins was determined by HPLC, GC, and spectrophotometric analysis. An extract was obtained from arnica flowers, its cytotoxicity and metabolic effects on human skin were determined.

The qualification work is set out on 63 pages of typewritten text, consists of an abstract, introduction, 4 chapters, general conclusions, a list of references, illustrated with 7 tables and 14 figures. The list of references includes 53 items.

Key words: arnica mountain (*Arnica montana*), witch hazel (*Hamamelis virginiana*), microbiota, keratinocytes, cytotoxicity, extract, quantification.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1 ХАРАКТЕРИСТИКА МІКРОБІОТИ ШКІРИ ЛЮДИНИ. ФІТОТЕРАПІЯ ЗАХВОРЮВАНЬ ШКІРИ. КОРОТКА ХАРАКТЕРИСТИКА АРНІКИ ГІРСЬКОЇ ЗА ГАМАММЕЛІСУ ВІРГІНСЬКОГО (огляд літератури)	8
1.1 Мікробіота шкіри людини	8
1.2 Фітотерапія захворювань шкіри.....	10
1.3 Коротка ботанічна характеристика, хімічний склад і застосування арніки гірської.....	12
1.4 Коротка ботанічна характеристика, хімічний склад і застосування гамамелісу віргінського	15
РОЗДІЛ 2 ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ АРНІКИ КВІТОК ТА ГАМАМЕЛІСУ КОРИ	18
2.1 Якісне визначення фенольних сполук арніки квіток.....	18
2.2 Якісне визначення фенольних сполук гамамелісу кори.....	20
Висновки до розділу 2.....	21
РОЗДІЛ 3 ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ БАР У АРНІКИ КВІТКАХ ТА ГАММАМЕЛІСУ КОРИ.....	22
3.1 Сесквітерпенові лактони.....	22
3.2 Фенольні сполуки	23
3.3 Дубильні речовини	28
Висновки до розділу 3.....	31
РОЗДІЛ 4 ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ АРНІКИ КВІТОК НА МІКРОБІОТУ ШКІРИ ЛЮДИНИ	32
4.1 Визначення цитотоксичності екстракту арніки квіток за допомогою МТТ – тесту на культуру кератиноцитів людини.....	32
4.2 Метаболізм мікробіоти шкіри компонентами з арніки квіток.....	35
Висновки до розділу 4.....	39
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ.....	40

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	42
ДОДАТКИ	48

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАР –	біологічно активні речовини;
ВЕРХ –	високоєфективна рідинна хроматографія;
ДФУ –	Державна фармакопея України;
ОГ –	оптична густина
РХ –	рідинна хроматографія;
ТШХ –	тонкошарова хроматографія;
Час утр. –	час утримування.

ВСТУП

Актуальність теми. Арніка гірська (*Arnica montana* L., Asteraceae) та гамамеліс віргінський (*Hamamelis virginiana* L., Hamamelidaceae) здавна використовуються в медицині для лікування різних захворювань. Лікарські засоби з них рекомендуються при набряках, флебітах, забоях, внутрішніх та гемороїдальних кровотечах, варикозному розширенні вен, розладах кишечника. Хоча сировина цих рослин є офіційною, мало відомо про взаємодію її з мікробіомом шкіри людини. Тому подальше фітохімічне і фармакологічне дослідження арніки квіток і гамамелісу кори є актуальним.

Мета дослідження. Метою роботи було фармакогностичне дослідження арніки квіток та гамамелісу кори, визначення цитотоксичності екстракту арніки квіток та його вплив на мікробіоту шкіри.

Завдання дослідження:

- провести аналіз літературних джерел щодо рослин – арніки гірської та гамамелісу віргінського, а також стосовно мікробіоти шкіри людини і фітотерапії захворювань шкіри;
- провести якісний аналіз БАР арніки квіток та гамамелісу кори;
- визначити кількісний вміст БАР арніки квіток та гамамелісу кори;
- визначити цитотоксичність екстракту арніки квіток та метаболізм впливу екстракту на шкіру людини.

Об'єкт дослідження – фармакогностичне дослідження арніки квіток, гамамелісу кори та екстракту, одержаного з арніки квіток.

Предмет дослідження – визначення якісного складу та кількісного вмісту основних груп БАР у арніки квіток, гамамелісу кори та екстракту, одержаного з арніки квіток; визначення фармакологічної активності екстракту арніки квіток.

Методи дослідження. Фізико-хімічні – ТШХ, ВЕРХ, РХ; хімічні – спектрофотометричний метод аналізу; технологічні; фармакологічні, статистичні – обробка результатів експериментів згідно з вимогами ДФУ.

Практичне значення отриманих результатів. На основі проведених досліджень з арніки квіток одержано екстракт, визначено його цитотоксичність та метаболізм впливу на шкіру людини.

Елементи наукових досліджень. Проведено фармакогностичне дослідження квіток арніки та кори гамамелісу, у ході якого за допомогою якісного аналізу підтверджено наявність фенольних сполук, визначено вміст сесквітерпенових лактонів, танінів.

У результаті дослідження методом ВЕРХ у квітках арніки гірської виявлено 36 компонентів, основними із яких були флавоноїди: ізокверцетин, апігенін, кемпферол, апігенін 7-О-глюкозид, лютеолін, лютеолін 7-О-глюкозид; гідроксикоричні кислоти: кофейна, 3,5 - дикофеїлхінна кислота, 1,5 - дикофеїлхінна кислота, 4,5 - дикофеїлхінна кислота, 1-метоксиоксалол-3,5-дикофеїлхінна кислота, хлорогенова, протокатехінова кислота; також похідні кофейної кислоти та ізомери дикофеїлхіннової кислоти. В корі гамамелісу ідентифіковано дубильні речовини: галову кислоту, катехін, галокатехін та гамамелітанін (в сировині превалює).

Структура і обсяг кваліфікаційної роботи. Кваліфікаційна робота викладена на 63 сторінках машинописного тексту, складається з анотації, вступу, 4 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел, додатків, ілюстрована 7 таблицями та 14 рисунками. Список використаних джерел містить 53 найменування, із них 11 кирилицею та 42 латиницею.

Робота виконана на кафедрі фармакогнозії НФаУ та в лабораторії мікробіоти Варшавського медичного університету (Польща).

РОЗДІЛ 1
ХАРАКТЕРИСТИКА МІКРОБІОТИ ШКІРИ ЛЮДИНИ.
ФІТОТЕРАПІЯ ЗАХВОРЮВАНЬ ШКІРИ.
КОРОТКА ХАРАКТЕРИСТИКА АРНІКИ ГІРСЬКОЇ ЗА
ГАМАММЕЛІСУ ВІРГІНСЬКОГО (огляд літератури)

1.1 Мікробіота шкіри людини

Шкіра людини – це складний орган, який становить близько 15% загальної маси дорослої людини і має площу поверхні 1,5 – 2 м². Як найбільший орган людського тіла, шкіра колонізована корисними мікроорганізмами та служить фізичним бар'єром для запобігання вторгненню патогенів [36]. Описано понад 1000 захворювань шкіри і до 20% усіх консультацій лікарів загальної практики стосуються патології шкіри. Інфекції, реакції на ліки та такі захворювання як екзема, кропив'янка, псоріаз та рак шкіри створюють значне навантаження на ресурси охорони здоров'я та суттєво впливають на якість життя пацієнтів [16].

Усі мікроорганізми, що мешкають у багатоклітинному хазяїні, утворюють його мікробіоту. Мікробіота допомагає підтримувати баланс (гомеостаз) системи господаря, сприяє імунним реакціям і сприяє відновленню тканин. Порушення балансу мікробіоти часто призводить до запалення або інфекції, що може призвести до різних патофізіологічних станів і захворювань. Крім того, дисбаланс призводить до мікробного зсуву, часто зменшуючи кількість корисних видів і, таким чином, викликаючи дисбактеріоз. У той час як переважна частина мікробіоти людини знаходиться в шлунково-кишковому тракті, інші мікроорганізми нерівномірно розподіляються по тілу, включаючи шкіру [16, 17].

Ранні дослідження показали, що велика кількість бактерій на поверхневих шарах шкіри людини включає *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Micrococcus* і *Propionibacterium* [16].

Склад мікробіома людини так само змінюється кількісно та якісно залежно від ділянки шкіри, на якому він розташований, імунний статус людини, гігієну, використання ліків (антибіотиків, стероїдів) від факторів навколишнього середовища які включають температуру, вологість, солоність, освітленість [19].

Різноманітні мікробні види в шкірному середовищі сприяють імунній толерантності [16, 36], викликають прозапальні реакції та допомагають підтримувати здоров'я шкіри. Паралельно хазяїн забезпечує мікроби поживними речовинами і таким чином формує склад мікробіоти. *S. epidermidis* є гарним прикладом тісного зв'язку між мікробіотою та господарем. *S. epidermidis* часто зустрічається на здоровій шкірі людини, і вважається, що це доброякісний мікроб. Певні штами *S. epidermidis* мають захисну дію, що досягається шляхом виділення специфічних хімічних речовин. Крім того, *S. epidermis* може сприяти загоєнню ран, посилювати імунітет шкіри та пригнічувати патогенні інфекції [27]. Ця взаємодія мікробіоти та господаря сприяє стабільності мікробіоти та цілісності шкіри. Деякі інші види, такі як види *Roseomonas mucosa* та *Malasecia*, можуть модулювати кератиноцити та приймати імунні відповіді залежно від середовища. *P. acnes*, анаеробна бактерія, є однією з найпоширеніших і найважливіших симбіотичних бактерій шкіри людини [37]. *P. acnes* метаболізує виділення шкірного сала в жирну кислоту для виживання [28] і допомагає підтримувати кислий рН шкіри, що забезпечує відповідне кисле середовище для певних мікроорганізмів [36].

Мікробіота шкіри — це сукупність мікроорганізмів, які активно взаємодіють між собою та з нашою шкірою. Таким чином, розуміння та підтримання балансу між шкірою та мікробіотою є важливими кроками для розуміння механізмів, відповідальних за підтримку здорової шкіри [37].

В останні роки значна увага приділяється ролі мікробіоти, головним чином із кишківника, у біотрансформації споживаних речовин [20].

На сьогоднішній день наукові бази даних багаті на дослідження біотрансформації кишковою мікробіотою [26], але мало відомо про вплив мікробіома шкіри на хімічний склад препаратів для зовнішнього застосування. Оскільки механізми фармакологічної дії екстрактів недостатньо вивчені, існує очікування, що взаємодія між хімічним складом екстрактів та мікробіотою людини може відігравати певну роль у їх терапевтичному впливі на дерматологічні захворювання.

1.2 Фітотерапія захворювань шкіри

Багато тисячоліть фітотерапія використовується для лікування проблем зі здоров'ям шкіри. На різних континентах рослини використовували по-різному, залежно від їх доступності. Останнім часом шкірні захворювання стали серйозною проблемою через їх зв'язок з вірусом імунодефіциту людини та синдромом набутого імунодефіциту (ВІЛ/СНІД). Окрім того, що лікарські рослини є нетоксичними та легкодоступними, вони відіграють життєво важливу роль у фармакологічних дослідженнях та розробці ліків, але вони також використовуються безпосередньо як терапевтичні засоби або як вихідні матеріали для синтезу ліків [36].

Встановлено, що традиційні лікарські засоби, особливо рослини, відіграють важливу роль у лікуванні шкірних захворювань [36]. Вони використовуються для лікування шкірних захворювань у багатьох країнах світу, де вони роблять значний внесок у первинну медичну допомогу населенню [24, 36, 41]. У країнах, що розвиваються, місцеве населення зазвичай покладається на натуральні продукти або традиційні ліки для лікування захворювань шкіри та охорони здоров'я. Хоча теорії припускають, що натуральні продукти дають повільніший ефект порівняно з сучасними

фармацевтичними препаратами, загалом натуральні продукти допомагають вилікувати гострі та хронічні симптоми, оскільки вони діють повільно та дають накопичувальний ефект [28].

Крім того, натуральні продукти можуть охоплювати різні мішені з декількома діючими принципами збалансовано під час лікування хронічних комплексних захворювань, оскільки вони мають менше побічних ефектів [46].

Попередні дослідження стверджували, що натуральні продукти мають багато застосувань і переваг, наприклад, протимікробну дію, загоєння ран, лікування опіків та діючи як протизапальний засіб проти різних шкірних розладів.

Серед багатьох показань, де використовувалися традиційні трав'яні ліки, шкіра та пов'язані зі шкірою розлади займають одне з перших місць, де до однієї третини цих ТМ порівняно з 1-3% сучасних препаратів використовуються для лікування ран або шкірних розладів [33, 44]. Дійсно, захворювання шкіри є одними з найпоширеніших у світі [44]. Шкірні захворювання зустрічаються в усьому світі і складають приблизно 34% усіх професійних захворювань [28].

Під шкірними захворюваннями розуміють захворювання переважно поверхневих шарів шкіри [46]. Поширеними проблемами зі шкірою є акне, опіки, шрами, псоріаз, короста, вітіліго, педикульоз, інфекція простого герпесу, вітряна віспа, оперізуючий герпес, еритема, кропив'янка тощо [13].

У всьому світі використання таких препаратів, як бензоїлпероксиди, проактивні засоби, антибіотики, ретин-А, пероральний ретиноїд, саліцилова кислота, антигістамінні засоби, мінерали та вітаміни, стероїди, анальгетики, є більш цікавим для шкірологів для сучасного лікування [13]. Але фітотерапія стає популярною через токсичність і побічні ефекти алопатичних препаратів [27].

1.3 Коротка ботанічна характеристика, хімічний склад і застосування арніки гірської

Арніка гірська (*Arnica montana* L.) з родини айстрові (*Asteraceae*) – багаторічна трав'яниста рослина з листям, які утворюють прикореневу розетку, з якої виходить стебло 15- 80 см з оранжево – жовтими квітками. Хоча квітки є основними ЛРС, які використовуються в медицині, іноді для використання застосовують темно – коричневі циліндричні кореневища [5, 48, 49].

Arnica montana є ендеміком Європи, де вона відносно поширена, в Україні росте в Карпатах, рідко на Поліссі [33].

Настоянки арніки (водно-спиртові екстракти) і мазі використовуються зовнішньо через їх протизапальну [53], бактерицидну [39], протиневралгічну, протиревматичну, антисептичну, протиподразнюючу і ранозагоювальну дію [13]. Препарати арніки також використовують місцево для лікування фурункулів, синців, контузій, набряків, гематом, укусів комах, болю в суглобах (включаючи ревматичні захворювання), розтягнень, флебітів, тромбозів, біль у м'язах [6, 19, 31, 48]. Офіційною сировиною є арніки є квітки – *Flores Arnicae*.

Основні діючі речовини арніки гірської –терпеноїди і тритерпеноїди, квітки арніки гірської містять арніцину 4 %, який є сумішшю двох тритерпендіолів типу бетуліну-арнідіолу (рис 1.1) та його ізомеру фарадіолу (рис 1.2); β -лактуцерол, β -ситостеринацетат, β -псевдотараксастерол; псевдогваяноліди (геленалін (рис 1.4), тетрагідрогеленалін, 11 α ,13-дигідрогеленалін); 11 α -метиловий ефір дигірогеленаліну; сесквітерпенові лактони (0,4 %): арніколіди (ацетатний, метакриловий, ізомасляний, ізовалеріановий, сенеціоніловий, тигліновий та пропіоновий ефіри дигірогеленаліну) – А, В, С, D, Е та G; арніфолін (рис 1.3) (ефір оксикетолактону і тиглінової кислоти); ксанталонгін (ксантанолід); дитерпеновий лактон лоліолід та ін. [1, 8, 11, 19].

Квітки арніки гірської у своєму складі мають ефірну олію (0,15 %); близько 20 флавоноїдів (0,2–0,3 %): 3-глікозиди кемпферолу та кверцетину, глюкогалактуронід кверцетину, астрагалін, метильовані флавоноїди; дубильні речовини (5 %); органічні кислоти (фумарову, яблучну молочну); гідроксикоричні кислоти; каротиноїди: α -каротин, β -каротин, ксантофілепоксид і зеаксантин; полісахариди: слиз, інулін; холін, бетаїн, смоли аскорбінову кислоту; та ін. У коренях міститься ефірна олія (1,5%), яка складається з флороізомасляного ефіру (20 %) та диметилового ефіру тимогідрохінону (рис 1.5) (80 %). За допомогою екстракції Сокслета метанолом також були виділені сліди алкалоїдів піролізидину (туссилагін та ізотусилагін) (рис. 1.6, рис 1.7) [31, 33, 43].

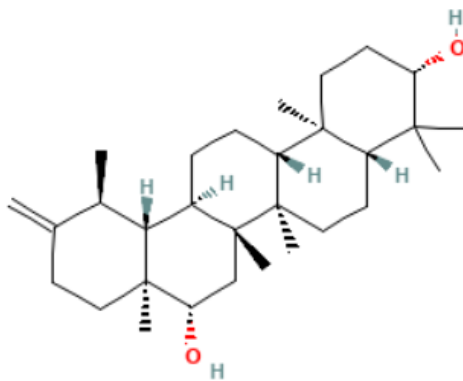


Рис. 1.1 Структурна формула арнідіолу

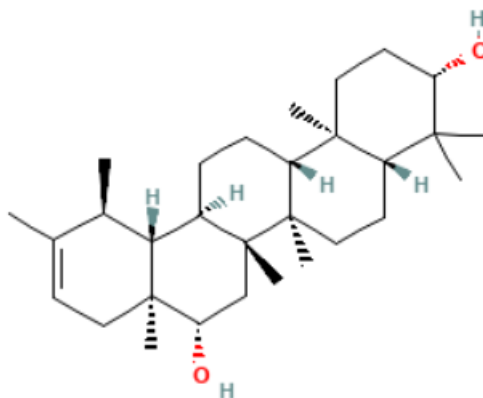


Рис. 1.2 Структурна формула фарадіолу

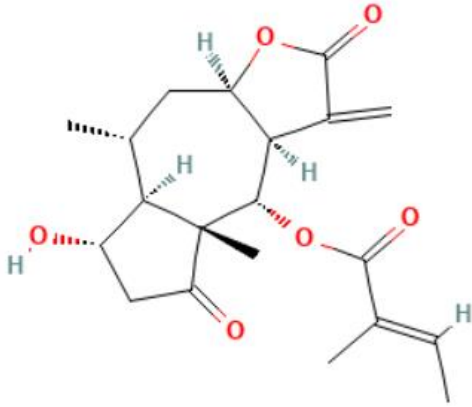


Рис. 1.3 Структурна формула арніфоліну

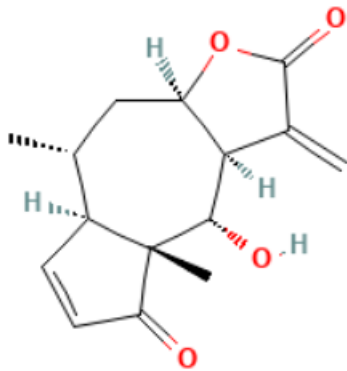


Рис. 1.4 Структурна формула геленаліну

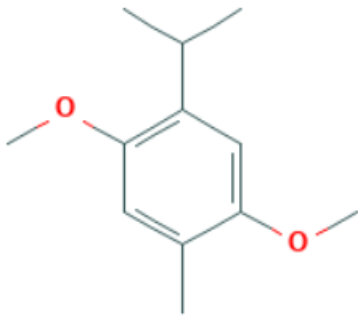


Рис. 1.5 Структурна формула диметилового ефіру тимогідрохінону

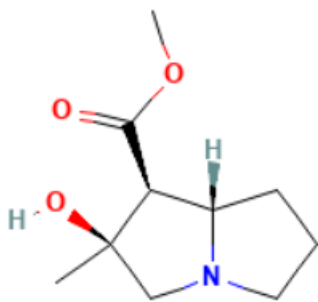


Рис. 1.6 Структурна формула туссилагіну



Рис. 1.7 Структурна формула ізотуссилагіну

Арніка гірська – важливий у медицині вид рослини, який широко використовується у фармації, гомеопатії та косметиці. З лікувальною метою збирають різні частини рослин: суцвіття, кореневища, коріння, листя. Арніка є джерелом сесквітерпенів, ефірних олій, терпеноїдів, сесквітерпенових лактонів, флавоноїдів і фенольних кислот, особливо хлорогенових кислот [26 – 28], і виявляє антисептичну, протизапальну, антибактеріальну, антисклеротичну, протигрибкову та антиоксидантну дії [26, 29].

Арніка гірська є рідкісною рослиною, яка перебуває під суворою охороною і включена до Червоного списку МСОП [19], а також до Червоних книг і Червоних списків багатьох європейських країн [35, 33].

1.4 Коротка ботанічна характеристика, хімічний склад і застосування гамамелісу віргінського

Гамамеліс віргінський – *Hamamelis virginiana* L. є чагарником заввишки 2-5 м, який належить до родини Hamamelidaceae [25, 38]. Рослина неофіціальна в Україні, офіціальна в США та більшості країн Європи.

Кора гамамелісу у своєму складі містить до 10 % дубильних речовин (гамамелітанін (рис 1.8) і катехіни), вільну галову кислоту (рис 1.9), невелику кількість флавонолів, воску і жирів. Листя містить 3 – 10 % дубильних речовин (суміш галлотанінів і конденсованих катехінів-проціанідинів); невелика кількість гамамелітаніну; фенолкарбонові кислоти (кофейна і

галола; флавоноїди, такі як кемпферол, кверцетин, кверцитрин і ізокверцитрин; та ефірну олію [21, 25, 30, 31]. Кора містить значно вищі рівні фенілпропаноїдів і сесквітерпеноїдів у легких фракціях порівняно з листям, які містять більшу кількість монотерпеноїдів. Кора багатша дубильними речовинами, що гідролізуються, а листя містить переважно конденсовані дубильні речовини [25].

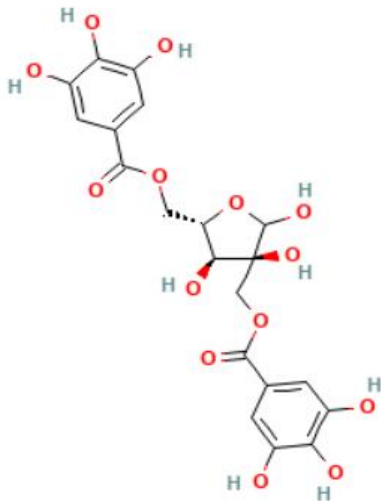


Рис 1.8 Структурна формула гамамелітаніну

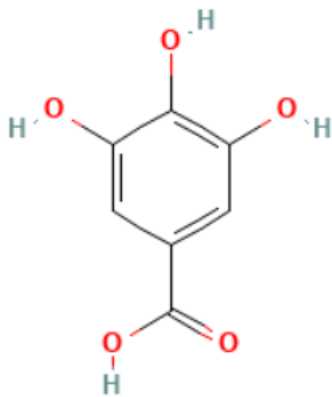


Рис 1.9 Структурна формула галової кислоти

Препарати з листя, кори і гілок гамамелісу, що входять до складу екстрактів, настоянок, кремів і мазей, використовуються для лікування дерматологічних (роздратована шкіра, сонячні опіки, атопічна екзема) і судинних захворювань (геморой, флебіт, варикозне розширення вен),

висвітлення тим, що ця рослина має широкий спектр біологічно активних речовин [21, 30, 47].

Також популярним є використання *Hamamelis virginiana* L. у косметиці (лосьйони для шкіри, живильні креми, засоби після гоління тощо), місцево використовується у ветеринарії у вигляді розчину або мазь у поєднанні з іншими рослинними препаратами для сприяння загоєнню ран незначних ушкоджень шкіри, для лікування шкірних запалень, виразок і дерматозів [21].

Аналіз джерел літератури показав, що арніка гірська та гамамеліс віргінський містять у своєму складі вуглеводи, терпеноїди, органічні кислоти, фенольні та інші сполуки, які виявляють широкий спектр фармакологічної активності, а саме протизапальну, бактеріостатичну, репаративну, спазмолітичну тощо. Проаналізовано дані про вплив бактерій на мікробіоту шкіри та використання фітозасобів для лікування захворювань епідерми. Подальше фітохімічне та фармакологічне дослідження гамамелісу кори, арніки квіток та отриманого із них екстракту є актуальним.

РОЗДІЛ 2

ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ АРНІКИ КВІТОК ТА ГАМАМЕЛІСУ КОРИ

2.1 Якісне визначення фенольних сполук арніки квіток

Якісне визначення фенольних сполук арніки квіток проводили за допомогою методу ТШХ за методикою, що наведена в монографії «Нагідок квітки» ДФУ 2.0 [2].

Випробовуваний розчин. До 2,0 г здрібноної на порошок сировини (710) додавали 10 мл метанолу *P*, нагрівали на водяній бані зі зворотним холодильником при температурі 60 °С протягом 5 хв, охолоджували і фільтрували.

Розчин порівняння. 2,0 мг кофейної кислоти *P*, 2,0 мг хлорогенової кислоти *P* і 5 мг рутину розчиняли у метанолі *P* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 30 мл.

Пластинка: ТШХ пластинка із шаром силікагелю *P*.

Рухома фаза: мурашина кислота безводна *P* – вода *P* – метилетилкетон *P* – етилацетат *P* (10 : 10 : 30 : 50).

Об'єм проб: 15 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 15 см від лінії старту.

Висушування: на поверхні протягом кількох хвилин.

Виявлення: теплу пластинку обприскували розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру *P* у метанолі *P*, потім розчином 50 г/л макрогону 400 *P* у метанолі *P*, нагрівали при температурі 100 С протягом 5 хв, висушували на повітрі та переглядали в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати: на хроматограмі розчину порівняння зони проявлялися у такій послідовності: у верхній частині – світло-блакитна флуоресціююча зона, відповідна кофейній кислоті. У середній частині хроматограми

проявлялася зона, яка відповідала зоні хлорогенової кислоти. У нижній частині хроматограми розчину порівняння проявлялася зона, що флуоресціювала оранжево-жовтим кольором (рутин).

На хроматограмі випробовуваного розчину не виявлялася флуоресціююча оранжево-жовта зона, відповідна зоні рутину на хроматограмі розчину порівняння; не виявлялася зона нижче цієї зони.

Верхня частина пластинки	
Кофейна кислота: світло-блакитна флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона
Хлорогенова кислота: блакитна флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зони
Рутин: оранжево-жовта флуоресціююча зона	жовто-коричнева флуоресціююча зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

Рис. 2.1 Схеми хроматограми фенольних сполук арніки квіток, одержана методом ТШХ

2.2 Якісне визначення фенольних сполук гамамелісу кори

Якісне визначення фенольних сполук у гамамелісу корі проводили за допомогою методу ТШХ за методикою, що наведена в монографії «Гамамелісу кора» ДФУ 2.0 [3].

Випробовуваний розчин: До 1.0 г здрібненої на порошок сировини додавали 10.0 мл метанолу Р, струшували протягом 15 хв і фільтрували.

Розчин порівняння: 5.0 мг галової кислоти Р і 8.0 мг гамамелітаніну Р розчиняли у 5.0 етанолу (60%, об/об) Р.

Пластинка: ТШХ-пластинка із шаром силікагелю F_{254} Р (5- 40 мкм).

Рухома фаза: мурашина кислота безводна Р – вода Р – етилформіат Р (10 : 10 : 80).

Нанесення: 6 мкл, смугами 10 мм.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 10 см від лінії старту.

Висушування: на повітрі.

Виявлення: нагрівали при температурі 100° С протягом 3 хв; гарячу пластинку обробляли розчином 5г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру Р в етилацетаті Р, витримували на повітрі до висихання і переглядали в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати: Наведені на рис 2.2. Крім того на хроматограмі випробовуваного розчину у верхній третині можуть бути проявлені інші слабкі зони. На хроматограмі випробовуваного розчину не виявлялися жовті або оранжеві зони.

Верхня частина пластинки	
Галова кислота: синя флуоресціуюча зона	
Гамамелітанін: синя флуоресціуюча зона	інтенсивна синя флуоресціуюча зона 2 або 3 сині флуоресціуючі зони
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

Рис. 2.2 Схема хроматограми фенольних сполук гамамелісу кори, одержана методом ТШХ

Висновки до розділу 2

1. Проведено якісний аналіз (методом ТШХ досліджено фенольні сполуки) арніки квіток та гамамемісу кори згідно з монографіями на відповідну сировину в ДФУ.
2. Досліджувана сировина є доброякісною і може бути застосована для подальшого фітохімічного і фармакологічного дослідження.

РОЗДІЛ 3

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ БАР У АРНІКИ КВІТКАХ ТА ГАММАМЕЛІСУ КОРИ

3.1 Сесквітерпенові лактони

Кількісне визначення сесквітерпенових лактонів у арніки квітках проводили методом рідинної хроматографії за методикою, що наведена в монографії ДФУ «Арніки квітки» 2.0 [4].

Вміст сесквітерпенових лактонів у перерахунку на дигідрогеленаліну тиглат, у %, обчислювали за формулою:

$$\frac{S_{LS} \times C \times V \times 1.187 \times 100}{S_S \times m \times 1000}, \quad (3.1)$$

де:

S_{LS} – площа піків сесквітерпенових лактонів, що виходять після піка сантоніну, на хроматограмі випробуваного розчину;

S_S – площа піка сантоніну на хроматограмі випробуваного розчину;

m – маса наважки сировини, у грамах;

C – концентрація сантоніну у розчині внутрішнього стандарту, що використовується для приготування випробуваного розчину, у міліграмах на мілілітр;

V – об'єм розчину внутрішнього стандарту, що використовується для приготування випробуваного розчину, у мілілітрах;

1.187 – коефіцієнт перерахунку сантоніну на дигідрогеленаліну тиглат.

Результати визначення суми сесквітерпенових лактонів у арніки квітках наведені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Вміст сесквітерпенових лактонів у арніки квітках

m	v	X _i	X _{ср}	S ²	S _{ср}	P	t(P, n)	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$	ε _{ср} , %
5	4	0,421 6	0,41	0,00086	0,0041	95	2,78	0,4 1 ± 0,0 1	2,75
		0,400 2							
		0,418 1							
		0,410 4							
		0,422 1							

В результаті дослідження встановлено, що вміст суми сесквітерпенових лактонів у арніки квітках становить $0,41 \pm 0,01$ % м/м, у перерахунку на дигідрогеленаліну тиглат і суху сировину.

3.2 Фенольні сполуки

Фенольні сполуки – об’ємна та неоднорідна за хімічним складом група БАР [40], які проявляють багатовекторну направленість терапевтичної дії, у тому числі протизапальну, антибактеріальну, капіляррозміцнювальну, противиразкову, гіпотензивну, діуретичну, цитотоксичну тощо [45]. Відомо, що фенольні сполуки мають здатність інгібувати утворення та експресію запальних цитокінів, а також виступають донорами електронів та гідрогену і за рахунок цього сприяють стабілізації клітинних мембран при їх пошкодженнях в процесі перекисного окиснення ліпідів [40].

Визначення і встановлення кількісного вмісту індивідуальних фенольних сполук у арніки гірської квітках проводили методом ВЕРХ на хроматографі UHPLC-3000 RS system (Dionex, Leipzig, Germany) [9].

Розділення проводили на хроматографічній колонці - Kinetex ХВС 18 (150 мм x 2,1мм x 1,7 mm) заповнена зворотньофазним сорбентом із частками розміром 3 мкм.

Пробопідготовка: 1,00 г (точна наважка) здрібненої на порошок сировини, поміщали у круглодонну колбу об'ємом 100 мл, додавали 50 мл 60 % метанолу Р, колбу приєднували до зворотного холодильника та нагрівали на киплячій водяній бані впродовж 15 хв при перемішуванні. Потім на вміст колби діяли ультразвуком протягом 10 хв, фільтрували та кількісно перенесли в мірну колбу місткістю 100 мл, доводили об'єм розчину 60 % метанолом Р до позначки. Отриманий розчин фільтрували крізь мембранний фільтр з розміром пор 0,22 мкм. Для розділення фенольних сполук застосовували такі параметри хроматографічного аналізу: градієнтне елюювання, мобільна фаза – бідистильована вода підкислена 0,005 н розчином ортофосфорної кислоти (А) і ацетонітрил (В) – аналіз кислот гідроксикоричних та флавоноїдів. Час сканування 0,6 сек, діапазон детектування –240-370нм, довжини хвиль детектування УФ-спектрів – 320 (кислоти ферулова, р-кумарова), 330 нм (кислоти розмаринова, хлорогенова, кофейна; рутин, лютеолін, кемпферол, гіперозид), 340 нм (апигенін). Режим хроматографування: максимальна швидкість подачі рухомої фази – 0,3 мл/хв, робочий тиск елюента – 10000–12000 кПа; температура термостата колонки – 25 оС; об'єм введеної проби – 5–20 мкл, час хроматографування – 60 хв.

Дані були отримані та оброблені програмним забезпеченням Compass DataAnalysis. Отримані дані наведені в таблиці 3.2 та рисунку 3.1.

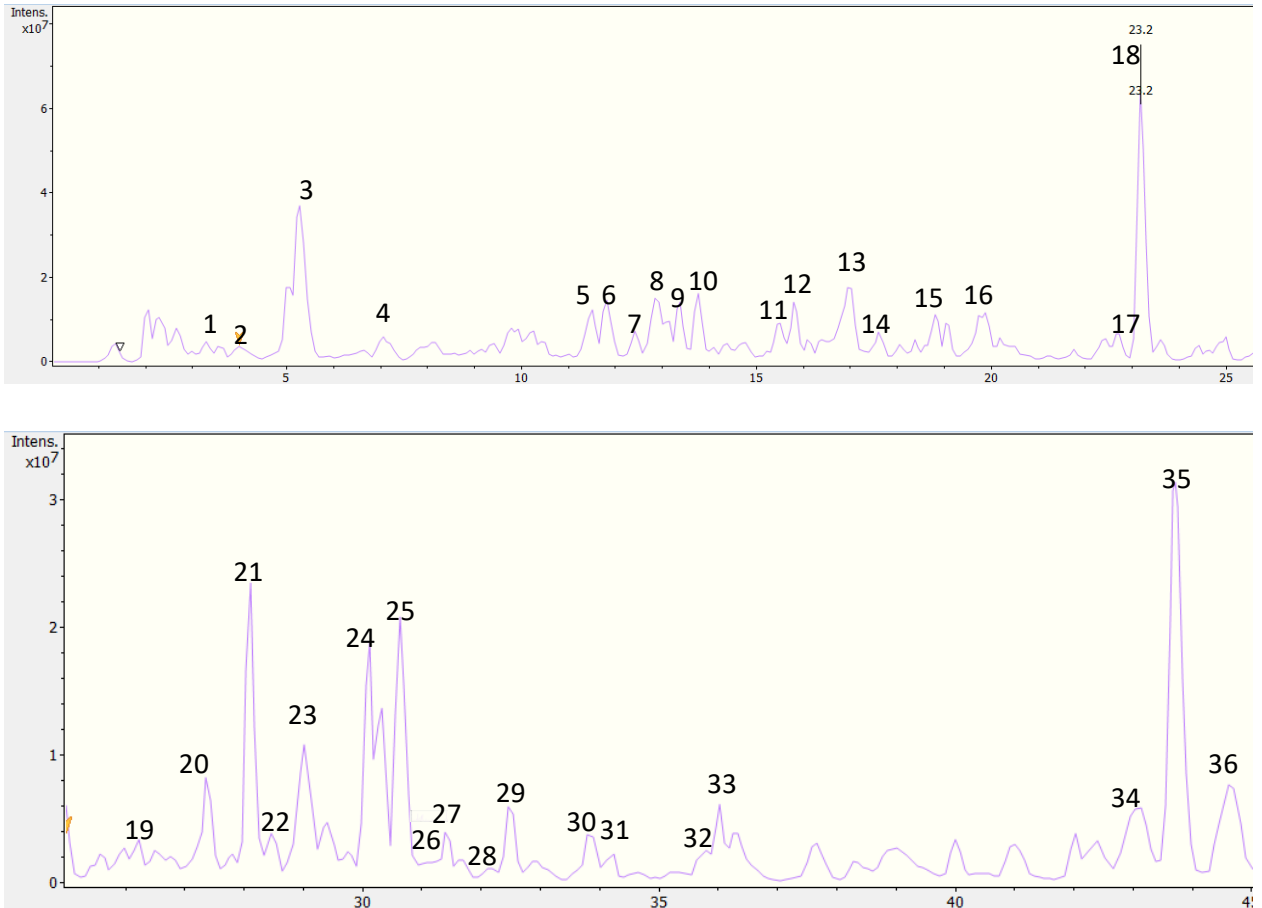


Рис 3.1 ВЕРХ-хроматограми фенольних сполук арніки квіток

Таблиця 3.2

Фенольні сполуки арніки квіток

№	БАР	Час утр., хв.	Кількісний вміст, %
1	2	3	4
1	Ізомер кофейної кислоти	3.3	2.44 ± 0.37
2	Протокатехінова кислота	4.0	25,7 ± 3.5
3	Хлорогенова кислота	5.3	415,1 ± 6
4	Кофейна кислота	7.1	11.8 ± 2,5

1	2	3	4
5	Цинарин	11.5	1,84 ± 0,20
6	Палутенін 3-О глюкозид	11.9	10,8 ± 1,5
7	Палутенін 3-О глюкуронід	12.4	10,27 ± 0,66
8	Ізоквертецин	12.9	18,74 ± 0,57
9	Кверцетин 3-О глюкуронід	13.4	15,1 ± 1,6
10	Лютеонін 7-О глюкуронід	13.8	141 ± 23
11	Еупафолін 7-О глюкозид	15.5	8,6 ± 1,3
12	6-метоксикемпферол-3-О-глюкозид	15.8	4,54 ± 0,42
13	Ізомер кофейної кислоти	17.1	4,86 ± 1,5
14	Еупафолін 7-О- глюкуронід	17.6	14,02 ± 0,54
15	Кемпферол 3-О- глюкуронід	18.9	2,77 ± 0,24
16	Похідне кофейної кислоти	19.9	3,27 ± 0,34
17	3,5 – дикофеїлхінна кислота	22.8	352 ± 48
18	1,5 – дикофеїлхінна кислота	23.2	701,8 ± 6,7
19	4,5 – дикофеїлхінна кислота	26.3	26,0 ± 2,3
20	Апігенен 7-О глюкозид	27.4	11,8 ± 1,0
21	1-метоксиоксалол-3,5- дикофеїлхінна кислота	28.1	425 ± 12
22	Ізомер дикофеїлхінної кислоти	28.6	82,3 ± 9,9
23	Лютеонін 3-О-глюкозид	29.1	17,9 ± 1,4
24	Ізомер дикофеїлхінної кислоти	30.2	48,07 ± 4,14
25	Ферулоїл-дикофейної кислоти	30.7	1,85 ± 0,14
26	Кемпферол 3-О-ацетоглюкозид	31.1	8,9 ± 1,4

1	2	3	4
27	Похідне кофейної кислоти	31.5	3,14 ± 0,34
28	Похідне кофейної кислоти	31.7	32,5 ± 1.8
29	Палютенін	32.5	1,65 ± 0,04
30	6-метоксикемпферол	33.8	2,94 ± 0,33
31	Кверцетин	34.3	3,94 ± 0,09
32	Лютеонін	35.8	72,7 ± 1,3
33	Похідне кофейної кислоти	36.1	11,8 ± 1,8
34	Похідне кофейної кислоти	43.2	177,4 ± 9,1
35	Апігенін	43.7	19,02 ± 0,62
36	Кемпферол	44.6	5,18 ± 0,74

За результатами ВЕРХ аналізу у квітках арніки гірської було ідентифіковано і встановлено кількісний вміст 36 сполук фенольної природи. Серед них 7 флавоноїдів, а саме: ізокверцетин (9), апігенін (36), кемпферол (36), апігенін 7-О-глюкозид (21), лютеолін (33), лютеолін 7-О-глюкозид (11). Усі ці сполуки були раніше ідентифіковані у квітках арніки [21-26, 37]. Спектри ESI/MS сполук 13 і 31 показали подібні УФ-спектри та присутність молекулярного іона $[M+H]^+$ (13) або іона фрагментації $[Ag+H]^+$ (31) при m/z 317, що відповідає молекулярна маса 6-метоксикемпферолу. Молекулярний іон $[M+H]^+$ при m/z 479, видимий у мас-спектрі ESI сполуки 12, вказує на те, що її структура містить одиницю глюкози. У результаті сполуку 12 було ідентифіковано як 6-метоксикемпферол-3-О-глюкозид [19], а сполуку 30 – як вільний аглікон: 6-метоксикемпферол. Крім того, досить різноманітний набір гідроксикоричних кислот (кофейна (36), 3,5 - дикофеїлхінна кислота (17), 1,5 - дикофеїлхінна кислота (18), 4,5 - дикофеїлхінна кислота (19), 1-метоксиоксалол-3,5-дикофеїлхінна кислота (21), хлорогенова (3),

протокатехінова кислота (2); похідні кофейної кислоти (16, 27, 28, 33, 34), ізомери кофеної (1, 13) та дикофеїлкіної кислоти (22, 24).

Всі ці компоненти відомі своєю біологічною активністю, що дає основу для подальшого вивчення та використання арніки гірської як перспективного фармацевтичного джерела й сировини медичних препаратів та біологічно активних додатків.

3.3 Дубильні речовини

Дубильні речовини є широко поширеними в рослинному світі. Вони мають широкий спектр фармакологічної активності: Р-вітамінну, кровоспинну, антисклеротичну дію, протимікробну, протизапальну. Конденсовані дубильні речовини можуть використовуватися як протипухлинні засоби та антиоксиданти. У медичній практиці дубильні речовини часто призначають при шлункових та гемороїдальних кровотечах, опіках, у терапії таких захворювань як стоматити, фарингіти, гінгівіти, ангіни, ентероколіт, коліт, дизентерія [11, 23]. В людському організмі дубильні речовини осаджують білки, утворюють хелатні комплексні сполуки з металами, тому їх використовують при отруєнні важкими металами [9, 10].

З метою виявлення даної групи БАР у досліджуваній сировині гамамелісу віргінського використовували метод ВЕРХ.

Результати визначення компонентів дубильних речовин у гамамелісу корі методом ВЕРХ наведено на рисунку 3.2 та в таблиці 3.3.

За результатами ВЕРХ-аналізу у гамамелісу корі ідентифіковані такі складові дубильних речовин: галова кислота, галокатехін, катехін, гамамелітанін.

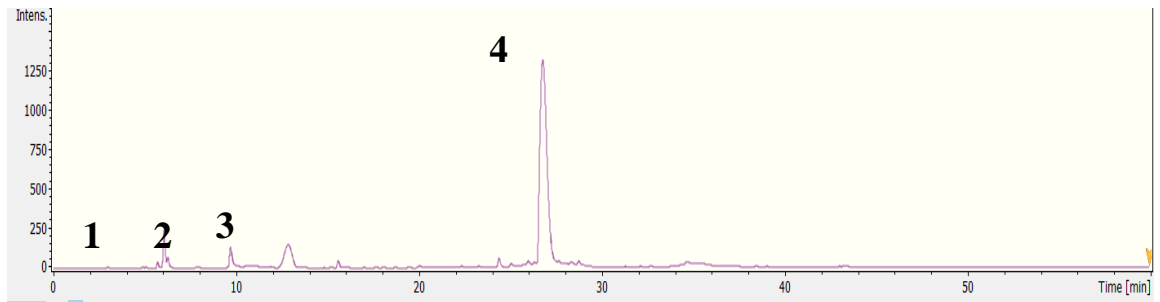


Рис 3.2 ВЕРХ-хроматограма компонентів дубильних речовин гамамелісу кори: 1 – галова кислота, 2 – галокатехін, 3 – катехін, 4 – гамамелітанін.

Таблиця 3.3

Дубильні речовини гамамелісу кори

№	БАР	Час утр., хв	Кількісний вміст, %
1	Галова кислота	6,1	0,56 ± 0,02
2	Галокатехін	9,9	0,24 ± 0,01
3	Катехін	12,9	0,39 ± 0,01
4	Гамамелітанін	26,9	4,81 ± 0,06

Кількісне визначення танінів у гамамелісу кори проводили за методикою, що наведена у монографії ДФУ «Гамамелісу кора» [4].

Вміст суми танінів у гамамелісу кори (X), у перерахунку на пірогалол, у %, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{62.5 \times (A_1 - A_2) \times M_2}{A_3 \times m_1}, \quad (3.2)$$

де:

m_1 – маса випробуваного зразка, г;

A_1 – маса пірогалолу, у г;

A_2 – оптична густина розчину поліфенолів, що не адсорбуються шкірним порошком;

A_3 – оптична густина стандартного розчину пірогалолу.

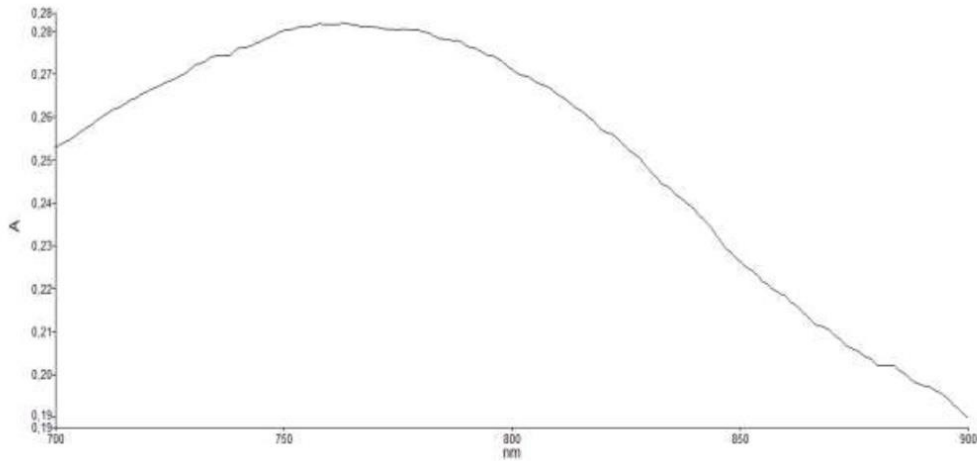


Рис 3.3 Стандартний зразок пірогалолу

Результати визначення танінів у гамамелісу корі наведені в таблиці 3.4.

Таблиця 3.4

Вміст танінів у гамамелісу корі

m	v	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t(P, n)	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$	$\epsilon_{cp}, \%$
5	4	5,485	5,47	0,00024	0,0069	95	2,78	$5,4 \pm 0,0$	0,35
		4							
		5,473							
		2							
		5,490							
2									
		5,453							
		4							
		5,462							
		0							

В результаті дослідження встановлено, що вміст суми танінів у гамамелісу корі, у перерахунку на пірогалол і суху сировину становить $5,47 \pm 0,02 \%$.

Висновки до розділу 3

1. Методом РХ встановлено, що вміст суми сесквітерпенових лактонів у арніки квітках становить $0,41 \pm 0,01$ % м/м, у перерахунку на дигідрогеленаліну тиглат і суху сировину.

2. За результатами ВЕРХ аналізу арніки квіток було встановлено, що сировина містить такі фенольні сполуки: флавоноїди: ізокверцетин, апігенін, кемпферол, апігенін 7-О-глюкозид, лютеолін, лютеолін 7-О-глюкозид; гідроксикоричні кислоти: кофейна, 3,5 - дикофеїлхінна кислота, 1,5 - дикофеїлхінна кислота, 4,5 - дикофеїлхінна кислота, 1-метоксиоксалол-3,5-дикофеїлхінна кислота, хлорогенова, протокатехінова кислота; також похідні кофейної кислоти та ізомери дикофеїлхінної кислоти.

3. Методом ВЕРХ у гамамелісу корі ідентифіковано: галову кислоту, галокатехін, катехін і гамамелітанін.

4. Методом спектрофотометрії у гамамелісу корі визначено, що вміст суми танінів у перерахунку на пірогалол і суху сировину становить $5,47 \pm 0,02$ %.

РОЗДІЛ 4

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ АРНІКИ КВІТОК НА МІКРОБІОТУ ШКІРИ ЛЮДИНИ

Дослідження проводились в лабораторії мікробіоти Варшавського медичного університету (Польща) під керівництвом професора кафедри фармакогнозії та молекулярних основ фітотерапії Себастьяна Граніци.

4.1 Визначення цитотоксичності екстракту арніки квіток за допомогою МТТ – тесту на культуру кератиноцитів людини

Arnica montana L. (Asteraceae) у всьому світі є однією з найважливіших лікарських рослин, і протягом століть різні частини цієї рослини використовувалися в етномедицині для багатьох видів лікування, таких як остеоартрит, біль у кишечнику, кашель, контузія, порізи, гематоми, головний біль і ревматизм [8]. Було виділено та ідентифіковано понад 150 біологічно активних речовин *A. montana*, переважно терпеноїдів (до складу входять монотерпени, ефірні олії, сесквітерпенові лактони, дитерпени, тритерпени та каротиноїди), фенольних сполук (до складу входять фенолкарбонові кислоти, кумарини, флавоноїди та ін [53, 50]. Однак серед них, вагому фармакологічну дію мають сесквітерпенові лактони (такі як, геленалін та 11 α ,13-дигідрогеленалін ацетат) які в основному пов'язані з цитотоксичною та протизапальною дією [31].

Всього 25 г квіток арніки 3 рази екстрагували 70% розчином етанолу з використанням ультразвуку для збільшення виходу сполук, що містяться в квітках. Екстракт фільтрували та випарювали при зниженому тиску за допомогою вакууму LABORANTA 4000 WB (Heidolph, Schwabach, Німеччина), заморожували (-20°C, 24 години) і ліофілізували за допомогою апарату Cryodos (Терраса, Іспанія). Ліофілізат зберігали в щільно закритій тарі при температурі 4°C і використовували для подальших досліджень.

Сухий екстракт арніки квіток розчиняли у H_2O для приготування розчину 10 мг/мл для аналізу ВЕРХ і основного розчину 12 мг/мл для метаболізму мікробіоти шкіри.

Цитотоксичність екстракту арніки квіток досліджували за допомогою МТТ – тесту на культурі кератиноцитів людини.

Кератиноцити культивувались в середовищі DMEM з додаванням FBS (50мл) та пеніцилін / стрептоміцин (5 мл) в загальноприйнятих умовах: атмосфера 5% CO_2 , при температурі 37° C і вологості 5 % в інкубаторі Sanyo (Японія).

Для експерименту в експоненціальну фазу росту кліток були засіяні в 48- лунковий планшет (по 300 мікролітрів) в об'ємі 300 мкл середовища DMEM з додаванням FBS (50мл) та пеніцилін / стрептоміцин (5мл). Клітини інкубували 24 години, потім додавали екстракт арніки гірської квіток в концентраціях від 250 до 3.6 мікролітрів. В якості пасивного контролю використовували розчин медіуму з додаванням DMSO, який додавали в лунки в тому ж об'ємі. Час експозиції з екстрактом арніки гірської квіток склало 48 годин.

Після вказаного вище інтервалу інкубації середовище змінювали на свіже і додавали мікродозатором 300 мкл розчину МТТ (концентрація 5мг/мл). Після чого клітини інкубували протягом 1 години в стандартних умовах інкубатора, потім середовище аспірували і в лунки додавали 150 мкл 100% розчину ДМСО. Далі планшети поміщували в шейкер на 20 хвилин до повного розчинення утвореного формагану. Для оцінки ОГ використовували мікропланшетний ІФА- рідер при довжинні хвилі 570 нм проти відносної 630 нм. Клітинну життєздатність визначали як відношення ОГ зразка до ОГ контролю.

Всі експерименти повторювали 3 рази. Статистичний аналіз даних проводили за допомогою оностороннього дисперсійного аналізу в програмі Statistica 10.0.

За даними МТТ тесту, представленими на малюнку 1 та таблиці 1, було виявлено що, при додаванні екстракту арніки гірської квіток в концентраціях 125 мкг/мл і 62,5 мкг/мл порушується цілісність клітинного шару, з'являються кератиноцити з ознаками дистрофії, зернистістю цитоплазми, а також окремі фрагментовані клітини, виявляються зони деструкції і лізису клітин [10].

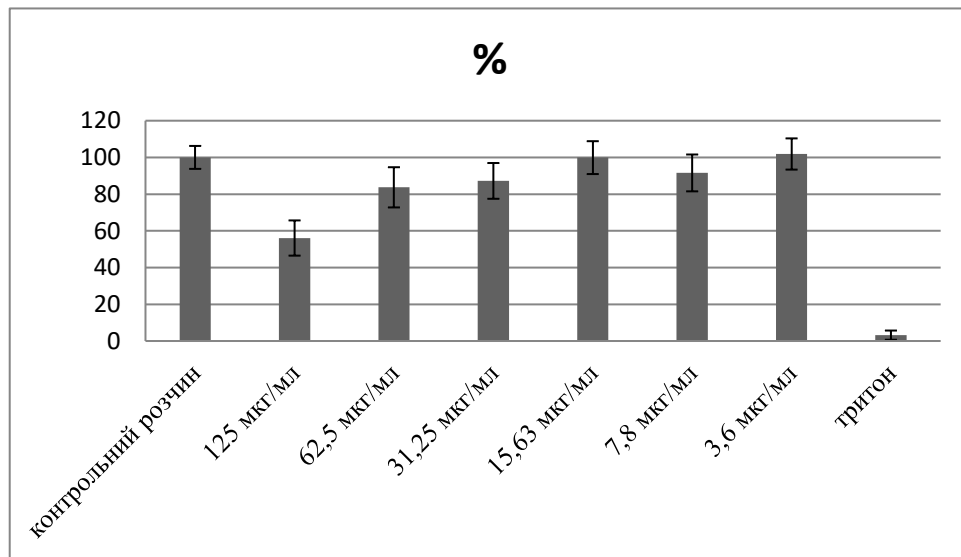


Рис. 4.1 Виживання кератиноцитів на фоні дії екстракту арніки квіток при інкубації протягом 48 годин за даними МТТ – тесту.

Таблиця 4.1

Виживання каротиноцитів на фоні дії екстракту арніки квіток при інкубації протягом 48 годин за даними МТТ – тесту.

Концентрація екстракту арніки квіток	Кількість кератиноцитів	Кількість кератиноцитів, %
1	2	3
Контрольний розчин	100	6,25

1	2	3
125 мкг/мл	56,08	9,58
62,5 мкг/мл	83,69	10,95
31,25 мкг/мл	87,20	9,75
15,63 мкг/мл	99,88	8,95
7,8 мкг/мл	91,55	10,03
3,6 мкг/мл	101,86	8,50
тритон	3,18	2,50

4.2 Метаболізм мікробіоти шкіри компонентами з арніки квіток

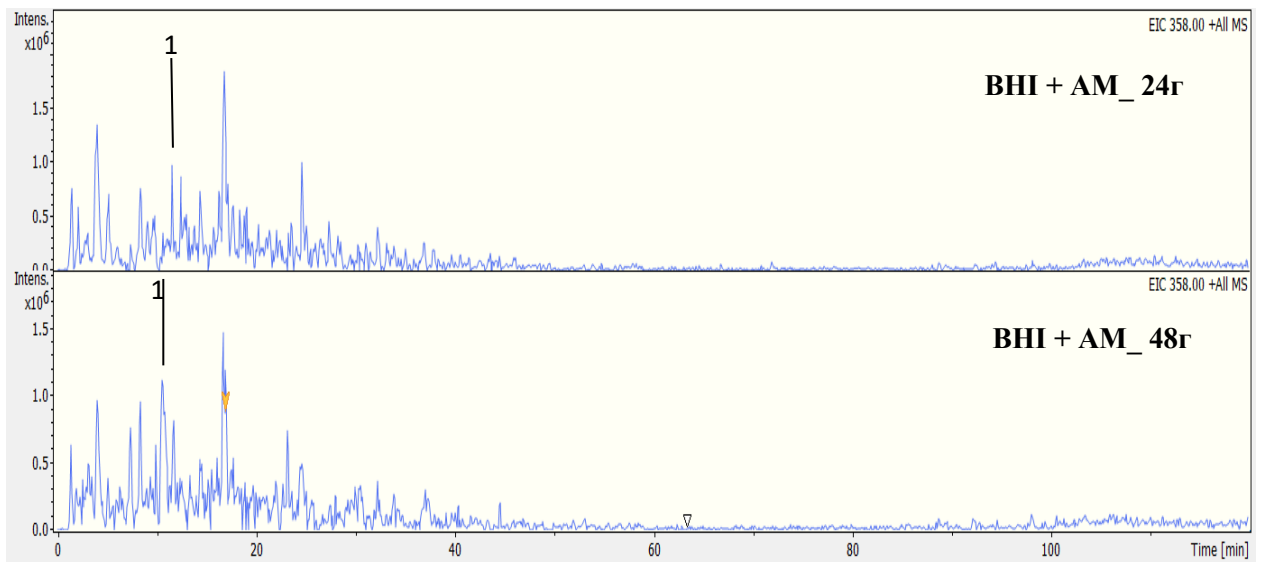
Зразки мікробіоти шкіри людини були отримані від п'яти здорових добровольців і зібрані з передпліч шляхом змочування тампонів стерильним 0,9% NaCl ($\times 10$ з кожного передпліччя) та інкубації в 30 мл ВНІ зі струшуванням (120-140 об/хв, 37°C), 24 години). Донори не приймали душ і не наносили ніяких ліків або косметики на передпліччя принаймні за 24 години до експерименту. Дослідження відповідало принципам Гельсінської декларації які дозволяють збирати мікробіоту шкіри у здорових людей-добровольців для використання в дослідженнях *ex vivo*.

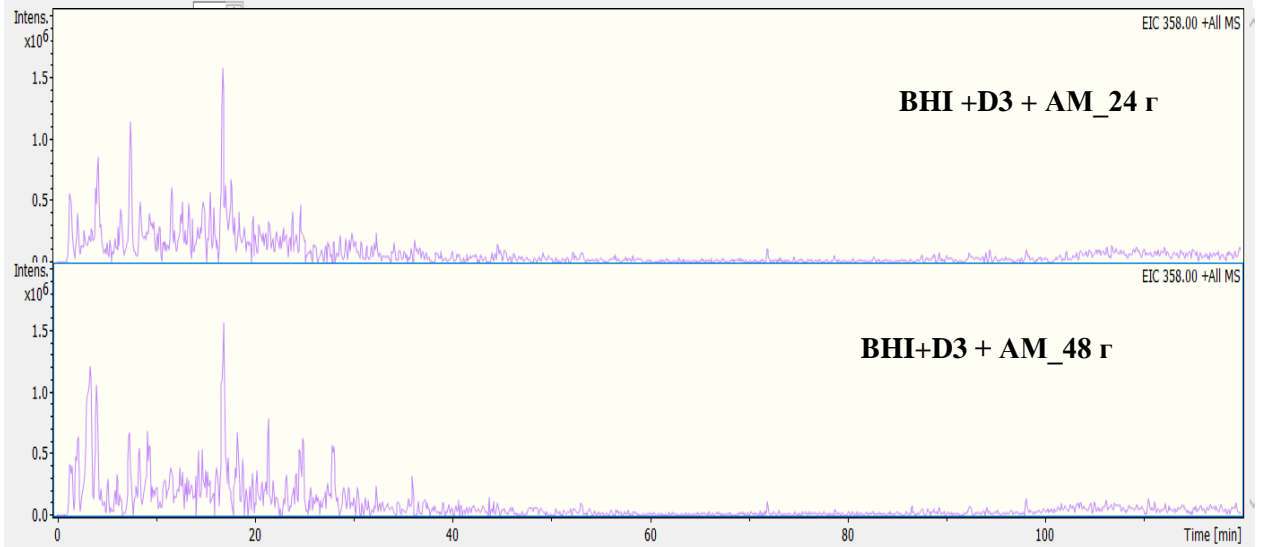
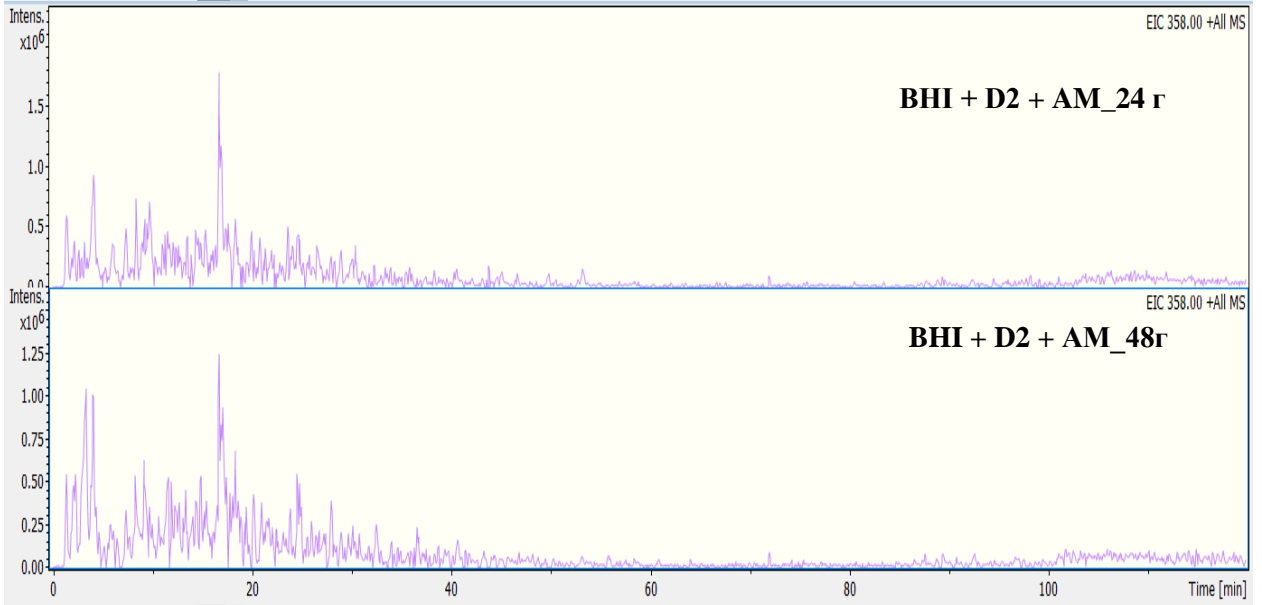
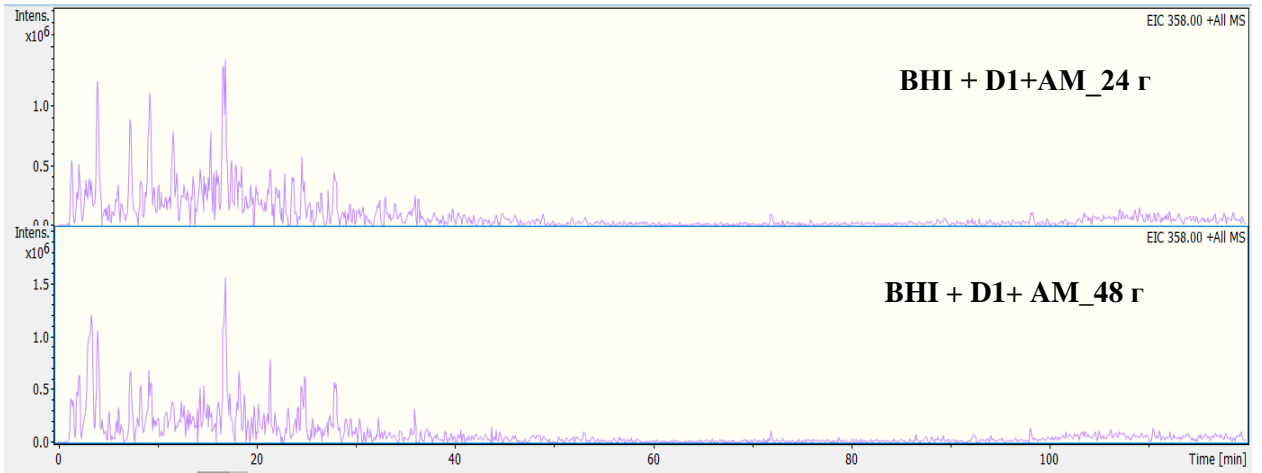
Після 24-годинної інкубації зібраної мікробіоти екстракт додавали до кожного зразка донора для отримання концентрації 2 мг/мл у культурі (D+AM). Перед цим екстракт стерилізували через стерильний шприцевий фільтр ацетатом целюлози 0,45 мкм. Як контроль проводили інкубацію екстракту без мікробіоти (ВНІ+AM) та бланк методу – мікробіоти без екстракту в середовищі (ВНІ+D). Зразки інкубували при 37°C для підтримки температурного режиму тіла людини та струшуванням 120-140 пк забезпечити аерацію за допомогою інкубатора mini Galaxy A (RS Biotech, Nunc GmbH&Co, Wiesbaden, Germany). Потім, через 24 і 48 години, 0,5 мл кожного зразка переносили в центрифужні пробірки в кількості 0,5 мл

і завершували додаванням метанолу: 0,1% HCOOH (1:1, об/об). Потім вміст пробірки змішували та центрифугували протягом 3 хв при 10000 об/хв, щоб відокремити мікробний осад від супернатанту.

Проаналізовано та порівняно хроматограми досліджуваних зразків, контролів і контрольних проб. Для більш точної оцінки інтенсивності піку та порівняння серед донорів сигнали, визначені як потенційні метаболіти, були відібрані та представлені у вигляді екстрагованих іонних хроматограм для п'яти донорів (рис. 4.2).

Сигнал сполуки з $[M+H]^+$ при 358 m/z (пік 1) зменшилися, і в порівнянні з контролем можна стверджувати, що мікробіота шкіри людини посилила біодеградація вихідного складу екстракту. Усі інші компоненти, визначені у вихідному екстракті, були стабільними протягом тривалого часу, і жодних змін у їхніх структурах і чисельності не спостерігалось для всіх донорів.





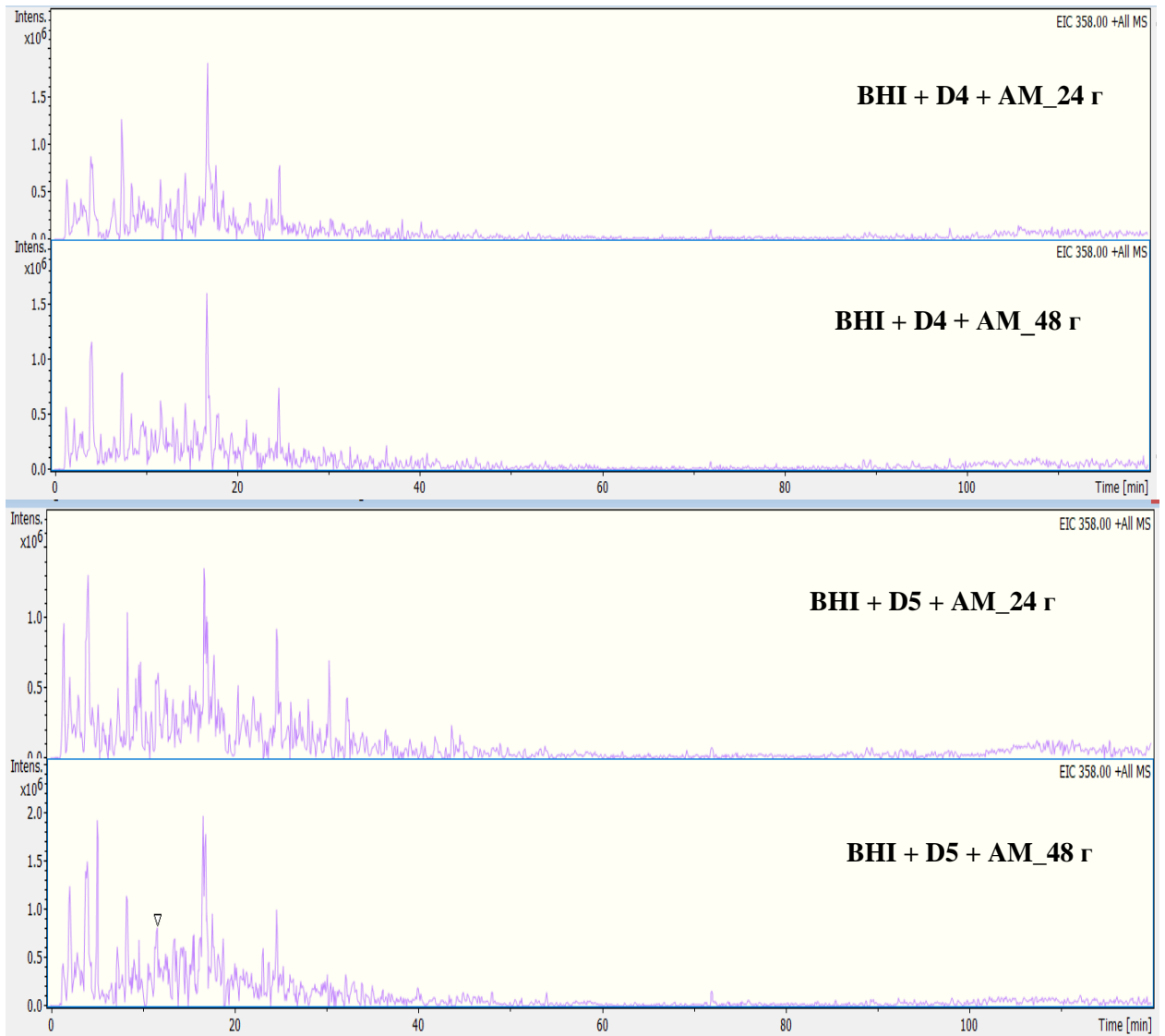


Рис. 4.2 ВЕРХ- екстраговані іонні хроматографи (EIC) репрезентативних зразків екстракту арніки квіток після 24 і 48 годин інкубації з мікробіотою шкіри людини. EIC 358. Перший зразок - D1, другий зразок – D2, третій зразок– D3, четвертий зразок – D4, п'ятий зразок – D5; D1-5, номер донора мікробіоти.

Проаналізовано та порівняно хроматографи досліджуваних зразків, контролів і контрольних проб. Для більш точної оцінки інтенсивності піку та порівняння серед донорів сигнали, визначені як потенційні метаболіти, були відібрані та представлені у вигляді екстрагованих іонних хроматограм для п'яти донорів (рис. 4.2).

Сигнал сполуки з $[M+H]^+$ при 358 m/z (пік 1) зменшилися, і в порівнянні з контролем можна стверджувати, що мікробіота шкіри людини посилила біодеградація вихідного складу екстракту. Усі інші компоненти, визначені у вихідному екстракті, були стабільними протягом тривалого часу, і жодних змін у їхніх структурах і чисельності не спостерігалось для всіх донорів [46].

Висновки до розділу 4

1. Дослідження цитотоксичності екстракту арніки квіток за допомогою МТТ- теста виявило, що при концентраціях 125 мкг/мл і 62,5 мкг/мл екстракт надає найбільш статистично значущу цитотоксичну дію на кератиноцити при інкубації протягом 48 годин.

2. Метаболізм мікробіоти шкіри компонентами екстракту арніки квіток незначно змінив склад мікробіоти шкіри людини, всі інші компоненти залишилися сталими та не мали суттєвої різниці в порівнянні з контрольним розчином.

3. Для повного з'ясування внеску мікроорганізмів шкіри в ефективність екстракту арніки квіток будуть продовжені подальші дослідження щодо точного механізму дії.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. Аналіз джерел літератури показав, що арніка гірська та гамамеліс віргінський містять у своєму складі вуглеводи, терпеноїди, органічні кислоти, фенольні та інші сполуки, які виявляють широкий спектр фармакологічної активності, а саме протизапальну, бактеріостатичну, репаративну, спазмолітичну тощо. Проаналізовано дані про вплив бактерій на мікробіоту шкіри та використання фітозасобів для лікування захворювань епідерми. Подальше фітохімічне та фармакологічне дослідження гамамелісу кори, арніки квіток та отриманого із них екстракту є актуальним.

2. Проведено якісний аналіз (методом ТШХ досліджено фенольні сполуки) арніки квіток та гамамемісу кори згідно з монографіями на відповідну сировину в ДФУ. Досліджувана сировина є доброякісною і може бути застосована для подальшого фітохімічного і фармакологічного дослідження.

3. Методом РХ встановлено, що вміст суми сесквітерпенових лактонів у арніки квітках становить $0,41 \pm 0,01$ % м/м, у перерахунку на дигідрогеленаліну тиглат і суху сировину.

4. За результатами ВЕРХ аналізу арніки квіток було встановлено, що сировина містить такі фенольні сполуки: флавоноїди: ізокверцетин, апігенін, кемпферол, апігенін 7-О-глюкозид, лютеолін, лютеолін 7-О-глюкозид; гідроксикоричні кислоти: кофейна, 3,5 - дикофеїлхінна кислота, 1,5 - дикофеїлхінна кислота, 4,5 - дикофеїлхінна кислота, 1-метоксиоксалол-3,5-дикофеїлхінна кислота, хлорогенова, протокатехінова кислота; також похідні кофейної кислоти та ізомери дикофеїлхінної кислоти.

5. Методом ВЕРХ у гамамелісу корі ідентифіковано: галову кислоту, галокатехін, катехін і гамамелітанін. Методом спектрофотометрії у гамамелісу корі визначено, що вміст суми танінів у перерахунку на пірогалол і суху сировину становить $5,47 \pm 0,02$ %.

7. Дослідження цитотоксичності екстракту арніки квіток за допомогою МТТ- теста виявило, що при концентраціях 125 мкг/мл і 62,5 мкг/мл екстракт надає найбільш статистично значущу цитотоксичну дію на кератиноцити при інкубації протягом 48 годин.

8. Метаболізм мікробіоти шкіри компонентами екстракту арніки квіток незначно змінив склад мікробіоти шкіри людини, всі інші компоненти залишилися сталими та не мали суттєвої різниці в порівнянні з контрольним розчином. Для повного з'ясування внеску мікроорганізмів шкіри в ефективність екстракту арніки квіток будуть продовжені подальші дослідження щодо точного механізму дії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Биологическая активность полифенолов растительного происхождения. Перспектива использования антоцианов в медицинской практике / Д. И. Писарев, О. О. Новиков, О. А. Селютина и др. *Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация*. 2012. № 10 (129). Вып. 18/2. С. 17 – 24.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доповнення 2. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. 336 с.
3. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Х.: Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. 233 с.
4. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доповнення 1. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 139 с.
5. Зузук Б. М., Куцик Р. В. Арника горная (*Arnica montana* L.). Аналитический обзор. *Провизор*. 2001. № 2. С. 31–33.
6. Зузук Б. М., Куцик Р. В. Арника горная (*Arnica montana* L.). Аналитический обзор. *Провизор*. 2001. № 3. С. 34–36.
7. Карпюк У. В., Кисличенко В. С. Дубильні речовини шкірки та ендосперму насіння гіркокаштану кінського. *Зб. наук. праць співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2015. Вип. 24 (5). С. 113-118
8. Марчишин С. М. Влияние флавоноидов арники горной на желчеобразование у белых крыс. *Фармакол. токсикол.*: Респ. межвед. сб. К.: Здоров'я, 1980. Вып. 15. С. 72–75.

9. Шостак О., Граніца С., Криворучко О. Дослідження складу арніки квіток методом ВЕРХ. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин: матеріали V Міжнар. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 23-25 листопада 2022 р.: X. : НФаУ, 2022. С. 121.*

10. Шостак О.І., Граніца С., Криворучко О.В. Визначення цитотоксичності арніки квіток екстракту за допомогою МТТ-тесту на культурі кератиноцитів людини. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження: матеріали V Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 14 квітня 2023 р. X.: НФаУ, 2023. С. 177.*

11. Фармацевтична енциклопедія / гол. ред. ради та автор передмови В. П. Черних. Вид. 3-тє, переробл. і доп. К. : МОПІОН, 2016. 1952 с.

12. Abate G., Etse Debdabe. Ethiopian traditional medicine. Addis Ababa University. *Addis Ababa*. 1989. P. 10 -184.

13. Abbasi A.M. Khan M.A. Ahmad M. Ethnopharmacological application of medicinal plants to cure skin diseases and in folk cosmetics among the tribal communities of North-West Frontier Province. *Ethnopharmacol.* 2010. T.128. P. 322-335.

14. Assessment report on *Arnica montana L.*, flos. *European Medicines Agency (Science medicines agency)*, EMA. HMPC. 2012. P. 1–25.

15. Barnes J. Anderson L. A. Phillipson J. D. Herbal Medicines. *3rd ed. London: Pharmaceutical Press*. 2004. P. 338-346

16. Belkaid Y; Segre J.A. Dialogue Between Skin Microbiota and Immunity. *Science*. 2014. T. 346. P. 954–959.

17. Bos J.D., Kapsenberg M.L. The Skin Immune System Its Cellular Constituents and their Interactions. *Immunol Today*. 1986. T. 7. P. 235–240.

18. Bruck Messele. Studies On Extracts Of Some Medicinal Plants Traditionally Used For Dermatological Disorders In Ethiopia. *J Ethnopharmacol.* 2004. P. 4.

19. Committee for Veterinary Medicinal Products (*Arnica Montana*). *European agency for the evaluation of medicinal products, veterinary medicinal evaluation*. 1999. Vol. 54. P. 433-439.
20. Dadi T. H., Vahjen W., Zentek J. *Lythrum salicaria* L. herb and gut microbiota of healthy post-weaning piglets. Focus on prebiotic properties and formation of postbiotic metabolites in ex vivo cultures. *J. Ethnopharmacol.* 2020. P. 261.
21. Duckstein, S.M.; Stintzing, F.C. Investigation on the Phenolic Constituents in *Hamamelis Virginiana* Leaves by HPLC-DAD and LC-MS/MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 2011, Vol. 401. P. 677–688.
22. Duke J.A. *CRC Handbook of Medicinal Herbs*. Boca Raton. *CRC Press*. 1985.
23. Hagerman A. E. *Tannin Handbook*. *Miami University. Oxford*, 2002. P. 116.
24. Hanrahan C., Odle T., Frey R. *Botanical Medicine*. *Gale Encyclopedia of Alternative Medicine. Pharmacology/botanical-medicine*. 2021. P. 17.
25. HMPC. *Assessment Report on Hamamelis virginiana L., Cortex, Hamamelis virginiana L. Folium, Hamamelis virginiana L., Folium et Cortex Aut Ramunculus Destillatum*. *European Medicines Agency*. London, UK. 2009.
26. Tiliae flos metabolites and their beneficial influence on human gut microbiota biodiversity ex vivo. Kruk A., Granica S., Popowski, D., Malinowska N., Piwowarski J.P. *J. Ethnopharmacol.* 2022. P. 294.
27. Lewis WH, Elvin-Lewis MPF. *Medical Botany: Plants Affecting Human Health*. 2nd ed. *Hoboken, NJ: John Wiley and Sons*; 2003.
28. Mantle D., Gok M. A., Lennard T. W. Adverse and beneficial effects of plant extracts in skin and skin disorders. *Adverse Drug React. Toxicol. Rev.* 2001. P. 89-103.
29. Marks J. G, Miller J. *Principles of Dermatology*. *Elsevier Inc; Lookingbill and Marks*. 2006. P. 356-359.

30. Masaki H., Atsumi T., Sakurai H. Hamamelitannin as a New Potent Active Oxygen Scavenger. *Phytochemistry* 1994. Vol. 37. P. 337–343.
31. Merfort I. Caffeoylquinic acids from flowers of *Arnica montana* and *Arnica chamissonis*. *Phytochemistry*. 1992. Vol. 31. P. 2111–2113.
32. Michael R., Karen N. Diseases management: A Guide to Clinical Pharmacology. 2014. P. 413.
33. Paßreiter M. Co-occurrence of 2- pyrrolidineacetic acid with the pyrrolizidines tussilaginic acid and isotussilaginic acid and their 1-epimers in *Arnica* species and *Tussilago farfara*. *Phytochemistry*. 1992. Vol. 131. P. 4135–4137.
34. Pelkonen O., Xu Q., Fan T-P.J. Why is research on herbal medicinal products important and how can we improve its quality. *Tradit Complement Med*. 2014. Vol. 4 (1). P. 1–7.
35. Sesquiterpene lactones in *Arnica montana*: Helenalin and dihydrohelenalin chemotypes in Spain / Perry N. B., Burgess E.J., Rodríguez Guitián M.A. et al. *Planta Med*. 2009. Vol. 75. P. 660-666.
36. The skin: An indispensable barrier / Proksch E., Brandner J.M., Jensen J.M. *Exp Dermatol*. 2008. № 17. P. 72.
37. Quave C.L., Pieroni A., Bennett J. Dermatological remedies in the traditional pharmacopoeia of Vulture-Alto Bradano, inland southern Italy. *Ethnobiol Ethnomed*. 2008. Vol. 4. P. 5-10.
38. The Role of Food Supplementation in Microcirculation / Raposo A., Saraiva A., Ramos F. et al. *A Comprehensive Review*. 2021. Vol. 10. P. 616.
39. Flavonoids and essential oil in flower heads of introduced *Arnica chamissonis* / Roki D., Menkovic N., Savikin-Fodulovic K. et al. *J Herbs Spices Med Plants*. 2001. №. 8(4). P. 19-27.
40. Role of Natural Phenolics in Hepatoprotection: A Mechanistic Review and Analysis of Regulatory Network of Associated Genes / P. Saha., A. D. Talukdar., R. Nath. et al. *Front Pharmacol*. 2019. № 10. P. 509-534.

41. Saikia A. P., Ryakala V. K., Sharma P. Ethnobotany of medicinal plants used by Assamese people for various skin ailments and cosmetics. *J Ethnopharmacol.* 2006. Vol. 106. P. 149-157.
42. Samraj K., Thillaivanan S., Parthiban P. A review of beneficial effects of medicinal plants on skin and skin diseases. *Int J Pharm Res Bio Sci.* 2014. № 3(1). P. 93–106.
43. Lignans from Arnica species / Schmidt T.J., Strausberg S., Raison J.V. et al. *Nat Prod Res.* 2006. №. 20(5). P. 443-453.
44. Sharma KK., Kotoky J., Kalita J.C. Traditional use of medicinal plants for anti-ringworm therapy in some parts of Kamrup District of Assam, a North Eastern State of India. *APJPM.* 2012. P. 316-319.
45. Shehab N. G., Gharbieh A.E., Bayoumi F. Impact of phenolic composition on hepatoprotective and antioxidant effects of four desert medicinal plants. *BMC Complement Altern Med.* 2015. № 15. P. 401-413.
46. Shostak O.I., Granica S., Krivoruchko O. V. Investigation the properties of arnica flower extract of the human skin microbiota. *Modern achievements of pharmaceutical technology: Collection of X International Scientific-Practical Conference, dedicated to the 60th anniversary of the birth of Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor Gladukh Ievgenii Volodymyrovych, Kharkiv, May 10-11, 2023. Kharkiv : NUPh, 2023. P. 189.*
47. Smeriglio A.; Barreca D.; Bellocco E. Proanthocyanidins and Hydrolysable Tannins: Occurrence, Dietary Intake and Pharmacological Effects. *Br. J. Pharmacol.* 2017. Vol. 174. P. 1244–1262.
48. Spitaler R., Schlorhauser P.D., Ellmerer E.P. Altitudinal variation of secondary metabolite profiles in flowering heads of *Arnica montana*. *Phytochemistry.* 2006. Vol. 67. P. 409.
49. Sesquiterpene lactones and phenolic compounds content in *Arnica montana* flowers and leaves samples harvested from wild sites in North-East Romania / Stefanache C.P., Bujor O.C., Necula R. et al. *Planta Med.* 2016. Vol. 82. P. 1-381.

50. Phytochemical study of *Arnica chamissonis* subsp. *foliosa* (Nutt.) Maguire / Todorova M., Staneva J., Evstatieva L. *C Rend Acad Bulg Sci.* 2008. Vol. 61. P. 451-454.

51. Wang H.; Provan G.J.; Helliwell K. J. Determination of Hamamelitannin, Catechins and Gallic Acid in Witch Hazel Bark, Twig and Leaf by HPLC. *Pharm. Biomed. Anal.* 2003. Vol. 33. P. 539–544.

52. Wichtl M., Brinckmann J.A., Lindenmaier M.P. *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*. Medpharm GmbH. 3rd ed. Stuttgart, Germany. 2004. 704 p.

53. Willuhn G., Kresken J. Sesquiterpenelactone from *Arnica chamissonis* [Sesquiterpenelactone aus *Arnica chamissonis*]. *Planta Med.* 1981. № 42 (2) P. 107.

ДОДАТКИ

Додаток А.1

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА ФАРМАКОГНОЗІЇ

MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY
PHARMACOGNOSY DEPARTMENT

**ТЕОРЕТИЧНІ ТА ПРАКТИЧНІ АСПЕКТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ
РОСЛИН**

**THEORETICAL AND PRACTICAL ASPECTS OF THE RESEARCH OF
MEDICINAL PLANTS**

Матеріали V Міжнародної науково-практичної internet-конференції

**The Proceedings of the Vth International Scientific and Practical
Internet-Conference**

Харків

Kharkiv

2022

Продовж. дод. А.1

УДК: 615:581/582

Редакційна колегія: проф. Котвіцька А.А., проф. Владимірова І. М., доц. Мала О.С.

Укладачі: ас. Комісаренко М.А., доц. Бородіна Н.В., ас. Горяча О.В.

Конференція зареєстрована в Українському інституті науково-технічної і економічної інформації (УкрІНТЕІ) посвідчення № 597 від 02 серпня 2021 р.

Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин : матеріали V Міжнародної науково-практичної internet-конференції (м. Харків, 23-25 листопада 2022 р.) – Харків: НФаУ, 2022. – 130 с.

Збірник містить матеріали V Міжнародної науково-практичної internet-конференції студентів, магістрантів, аспірантів, викладачів, науковців та практиків.

Напрямами конференції є: підготовка спеціалістів для фармацевтичної галузі; біохімія рослин; питання термінології та систематики рослин; ресурсознавство, культивування, інтродукція, збереження та відновлення біорізноманіття рослин; пошук та вивчення перспективних лікарських рослин; контроль якості лікарської рослинної сировини; технологія та контроль якості лікарських рослинних засобів, домішок до харчових продуктів, парфумерно-косметичних засобів; фармакологічні дослідження біологічно активних речовин, лікарських рослинних засобів; фармацевтичне правознавство; фармакоекономічні дослідження; ветеринарна фармація; інформаційні технології у фармації.

Для широкого кола науковців, магістрантів, аспірантів, докторантів, викладачів фармацевтичних та медичних закладів вищої освіти, співробітників фармацевтичних підприємств, фармацевтичних фірм.

Матеріали подаються мовою оригіналу.

За достовірність матеріалів відповідальність несуть автори.

Продовж. дод. А.1

Дослідження складу арніки квіток методом ВЕРХ

Шостак О.¹, Граніка С.², Криворучко О.¹¹Національний фармацевтичний університет,
Кафедра фармакогнозії (м. Харків, Україна)²Варшавський медичний університет,
Лабораторія мікробіоти (м. Варшава, Польща)
ssostak5@gmail.com

Вступ. Арніка гірська (*Arnica montana* L.) з родини айстрові (*Asteraceae*) – багаторічна трав'яниста рослина з прямостоячим стеблом, до 80 см заввишки, біля основи з розеткою довгасто-овальних листків. Стеблові листки сидячі, супротивні, довгасті або ланцетні. Квітки жовтогарячі, в поодиноких кошиках діаметром 5–6 см на верхівці стебла і гілок; крайові – язичкові, серединні – трубчасті, двостатеві. Цвіте у червні–серпні, плід – двосім'янка. Походить із степових районів Північної Америки, широко поширена у більшій частині Європи. В Україні арніка гірська росте в Карпатах, дуже рідко на Поліссі. Культивується. Офіційною сировиною арніки гірської є квітки – *Arnicae flores*, які містять арніцину 4 %, який є сумішшю двох тритерпендіолів типу бетуліну-арнідіолу та його ізомеру фарадіолу; β -псевдотараксастерол, β -ситостеринацетат, β -лактучерол; сесквітерпенові лактони (0,4 %): псевдогваяноліди (геленалін, тетрагідрогеленалін, 11 α ,13-дигідрогеленалін); арніколіди А, В, С, D, Е та G; 11 α -метиловий ефір дигідрогеленаліну; арніфолін (ефір оксикетолактону і тиглінової кислоти); ксанталонгін (ксантанолід); дитерпеновий лактон лоліолід та ін. Квітки рослини також містять ефірну олію (0,15 %); понад 20 флавоноїдів (0,2–0,3 %): 3-глікозиди кемпферолу та кверцетину, астрагалін, глюкогалактуронід кверцетину, метильовані флавоноїди; гідроксикоричні кислоти; дубильні речовини (5 %); органічні кислоти (молочну, фумарову, яблучну); каротиноїди; аскорбінову кислоту; полісахариди: інулін, слиз; холін, бетаїн, смоли та ін. Квітки арніки гірської виявляють кровоспинну, жарознижувальну, протизапальні, кардіотонічну, спазмолітичну, в'язучу, знеболювальну, жовчогінну, протисклеротичну дію. Але лікарські засоби, що містять геленалін, можуть спричинити алергічну реакцію організму, отруєння. Сировина включена до БТФ, Європейської Фармакопеї, ДФУ. У народній медицині використовується при бронхітах, грипі, подагрі, серцевих захворюваннях, шлункових та кишкових спазмах, епілепсії, струсу мозку, як діуретик; зовнішньо – при ранах, забиттях [1].

Метою роботи було проведення якісного та кількісного аналізу арніки квіток методом ВЕРХ.

Матеріали та методи. Для дослідження використовували аптечну сировину – арніки квітки (Гостинь, Польща). ВЕРХ-аналіз виконували за допомогою Dionex Ultimate 3000 RS UHPLC System [2].

Результати та їх обговорення. В результаті дослідження в сировині ідентифіковано: хлорогенову кислоту, похідні дикофеїлхіної кислоти, флавоноїди (лютеолін, лютеоліну-7-О-глюкозид, 7-метиллютеолін, кемпферолу 3-О-ацетилглюкозид, патулетину 3-О-глюкуронід, 6-метоксиапігенін), сесквітерпеновий лактон геленалін та його похідні. Превалювали у сировині похідні дикофеїлхіної кислоти.

Висновок. Фармакогностичне дослідження арніки квіток буде продовжено.

Література. 1. Ковальова А. М. Арніка. Фармацевтична енциклопедія / гол. ред. ради та автор передмови В. П. Черних. 3-те вид., переробл. і доповн. К.: «МОПІОН», 2016. С. 136–137.

2. Duckstein S.M., Stintzing F.C. Investigation on the phenolic constituents in *Hamamelis virginiana* leaves by HPLC-DAD and LC-MS/MS. *Anal Bioanal Chem.* 2011. Vol. 401, № 2. P. 677–688.

Продовж. дод. А.1

Вміст гідроксикоричних кислот у траві арахіса культурного Романова С. В., Мала О. С., Демешко О. В., Дученко М. А.	104
Питання взаємодії лікарських засобів та фітопрепаратів у професійній діяльності фармацевтів Рубан Я. В., Степанова С. І.	105
Характеристика видів глоду та їх використання у фармації і медицині Северин М. А., Владимірова І. М.	106
Аспекти використання перцю стручкового у медицині та фармації Сиплива С. А., Владимірова І. М.	108
Вплив факторів навколишнього середовища на концентрацію флавоноїду рутину у лікарській рослинній сировині Степанов Є. В., Пасічник С. В.	110
Елементний склад плодів <i>Robinia viscosa</i> Vent Талер О. Ю., Гонтова Т. М.	112
Визначення кількісного вмісту антоціанів у квітках цинії витонченої (<i>Zinnia elegans</i> Jacq.) Тулуб І. О., Бурда Н. Є.	114
Аспекти використання чистотілу великого у медицині та фармації Уманець Л. В., Владимірова І. М.	115
До питання впровадження сучасної систематики в освіту фармацевтів Філатова О. В., Волкова Р. Є., Гонтова Т. М., Машталер В. В.	117
Фітохімічний склад і фармакологічні властивості <i>Morus nigra</i> L. листя А. Цегельний, О. Нікітіна	118
Пошук перспективних лікарських рослин противірусної дії Шаповалова Н. В.	119
Дослідження складу арніки квіток методом ВЕРХ Шостак О., Граніка С., Криворучко О.	121
Дослідження протизапальних властивостей густого екстракту коренів лопуха великого Щокіна К. Г., Арусханян Р. С., Белік Г. В.	122
Аналіз хімічного складу та застосування рослин-символів України Яворська В. С., Демешко О. В.	124

Продовж. дод. А.1

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА ФАРМАКОГНОЗІЇ



Сертифікат

цим засвідчується, що

Шостак О. І.

брав(ла) участь у роботі

V Міжнародної науково – практичної Internet-конференції

ТЕОРЕТИЧНІ ТА ПРАКТИЧНІ АСПЕКТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН

23-25 листопада 2022 року, м. Харків, Україна

Ректор НФаУ



Alła Kotvitska

Алла КОТВИЦЬКА

Проректор з НПР

Inna Vladimirova

Інна ВЛАДИМИРОВА

Завідувач кафедри фармакогнозії

Olyga Mala

Ольга МАЛА



Додаток А.2

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК ВИЩОЇ ОСВІТИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА ХІМІЇ ПРИРОДНИХ СПОЛУК І НУТРИЦІОЛОГІЇ

MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE
MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE
NATIONAL ACADEMY OF HIGHER EDUCATION OF SCIENCES OF
UKRAINE
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY
DEPARTMENT OF CHEMISTRY OF NATURAL COMPOUNDS AND
NUTRICIOLOGY

**СУЧАСНІ ДОСЯГНЕННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ НАУКИ
В СТВОРЕННІ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЇ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ
І ДІЄТИЧНИХ ДОБАВОК, ЩО МІСТЯТЬ КОМПОНЕНТИ
ПРИРОДНОГО ПОХОДЖЕННЯ**

**CURRENT APPROACHES OF PHARMACEUTICAL SCIENCE IN
DEVELOPMENT AND STANDARDIZATION OF MEDICINES AND
DIETARY SUPPLEMENTS THAT CONTAIN COMPONENTS OF
NATURAL ORIGIN**

**Матеріали V Міжнародної науково-практичної
інтернет-конференції**

**The Proceedings of the V International Scientific and Practical
Internet-Conference**

ХАРКІВ
KHARKIV
2023

Продовж. дод. А.2

УДК 615.1 : 615.32 : 615.07

С 89

Електронне видання мережне

Редакційна колегія: проф. А. А. Котвіцька, проф. А. І. Федосов, проф. І. М. Владимірова, проф. В. С. Кисличенко, асист. В. В. Процька, ст. лаб. О. О. Іосипенко

Конференція зареєстрована в Українському інституті науково-технічної і економічної інформації (УкрІНТЕІ), посвідчення № 546 від 19.12.2022 року

С 89 *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження : матеріали V Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції (м. Харків, 14 квітня 2023 р.). – Електрон. дані. – Х. : НФаУ, 2023. – 186 с. – Назва з тит. екрана.*

У збірнику розглянуто теоретичні та практичні аспекти розробки, виробництва лікарських засобів рослинного походження і дієтичних добавок, контролю якості, стандартизації лікарських засобів рослинного походження та визначення безпечності дієтичних добавок, а також їх реалізації в умовах сучасного фармацевтичного ринку.

Для широкого кола науковців, магістрантів, аспірантів, докторантів, викладачів вищих фармацевтичних та медичних навчальних закладів, співробітників фармацевтичних підприємств, фармацевтичних фірм.

Друкується в авторській редакції. Автори опублікованих матеріалів несуть повну відповідальність за підбір, точність наведених фактів, цитат, економіко-статистичних даних, власних імен та інших відомостей. Матеріали подаються мовою оригіналу. Матеріали пройшли антиплагіатну перевірку за допомогою програмного забезпечення StrikePlagiarism.

УДК 615.1 : 615.32 : 615.07

© НФаУ, 2023

© Колектив авторів, 2023

Продовж. дод. А.2

ВИЗНАЧЕННЯ ЦИТОТОКСИЧНОСТІ АРНІКИ КВІТОК ЕКСТРАКТУ ЗА ДОПОМОГОЮ МТТ-ТЕСТУ НА КУЛЬТУРІ КЕРАТИНОЦИТІВ ЛЮДИНИ

Шостак О.І.¹, Граніца С.², Криворучко О.В.¹

¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

²Варшавський медичний університет, м. Варшава, Польща

Вступ. Дослідження цитотоксичності є важливим кроком у визначенні потенційної токсичності досліджуваних речовин, у тому числі й рослинних екстрактів. Мінімальна або повна відсутність токсичності є важливою для успішної розробки лікарських засобів, в цьому відношенні дослідження клітинної токсичності відіграють вирішальну роль. Концепція базальної цитотоксичності, де відзначається шкідливий вплив на структури та функції, загальні для всіх клітин людини, є актуальною [2]. Квітки арніки містять терпеноїди, органічні кислоти, флавоноїди, кумарини, фенолокислоти, дубильні та інші речовини, які обумовлюють їх антибактеріальну, протипухлинну, антиоксидантну, протизапальну, протигрибкову, кровоспинну, спазмолітичну, жовчогінну, протисклеротичну та імуномодулюючу дії [1].

Метою роботи є дослідження цитотоксичності арніки квіток екстракту, його вплив на кератиноцити людини.

Матеріали та методи. Цитотоксичність арніки квіток спиртового екстракту в концентраціях: 125 мкг/мл, 62,5 мкг/мл, 31,25 мкг/мл, 15,63 мкг/мл, 7,8 мкг/мл, 3,6 мкг/мл досліджували за допомогою МТТ-тесту на культурі кератиноцитів людини. Кератиноцити культивували в середовищі DMEM з додаванням FBS (50 мл) та пеніцилін/стрептоміцин (5 мл) в загальноприйнятих умовах: атмосфера 5 % CO₂, при температурі 37°C і вологості 5 % в інкубаторі Sanyo (Японія). Для експерименту в експоненціальну фазу росту клітин були засіяні в 48-лунковий планшет (по 300 мкл) в об'ємі 300 мкл середовища DMEM з додаванням FBS (50 мл) та пеніцилін/стрептоміцин (5 мл). Клітини інкубували 24 години, потім додавали арніки квіток екстракт в концентраціях від 250 до 3,6 мкл. В якості пасивного контролю використовували середовище DMEM з додаванням DMSO, який додавали в лунки у тому ж об'ємі. Час експозиції з арніки квіток екстрактом склав 48 годин. Всі експерименти повторювали 3 рази. Статистичний аналіз даних проводили за допомогою одностороннього дисперсійного аналізу в програмі Statistica 10.0.

Результати та їх обговорення. За даними МТТ-тесту було виявлено, що арніки квіток екстракт густий в концентраціях 125 мкг/мл і 62,5 мкг/мл надавав найбільш статистично значущу цитотоксичну дію на кератиноцити при інкубації протягом 48 годин.

Список літератури:

1. Kriplani P., Guarve K., Baghael U.S. *Arnica montana* L. – a plant of healing: review. *J Pharm Pharmacol*. 2017. Vol. 69, № 8. P. 925-945.
2. McGaw L., Elgorashi E., Eloff J. N. Cytotoxicity of African Medicinal Plants Against Normal Animal and Human Cells. *Toxicological Survey of African Medicinal Plants*. 2014. P. 181–233.

Продовж. дод. А.2

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ АНТРАЦЕНПОХІДНИХ У КОРЕНЕВИЩАХ І КОРЕНЯХ МАРЕНИ СЕРЦЕЛИСТОЇ	
<i>Фатмі Отман, Маслов О.Ю., Комісаренко А.М.</i>	165
ВІДБИВАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ КВІТОК ЗЛИНКИ КАНАДСЬКОЇ	
<i>Феденко В.С.</i>	166
<i>POLYGONUM AVICULARE</i> ЯК ПЕРСПЕКТИВНА СИРОВИНА ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ	
<i>Франчук Є.Р.</i>	167
ТОВАРОЗНАВЧИЙ АНАЛІЗ СИРОВИНИ ОРТИЛІЇ ОДНОБІЧНОЇ	
<i>Хворост О. П., Венрук О. М.</i>	169
ТОВАРОЗНАВЧИЙ АНАЛІЗ СИРОВИНИ РОДІОЛИ ЧОТИРИРОЗДІЛЬНОЇ	
<i>Хворост О. П., Поліщук Т. П.</i>	170
КІЛЬКІСНИЙ ВМІСТ СУМИ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК В СЕРІЯХ СИРОВИНИ ЛАВРУ БЛАГОРОДНОГО	
<i>Хворост О. П., Посохова І. Ю.</i>	171
ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЖОВЧОГІННОГО ЗБОРУ	
<i>Чуприна І.С., Криворучко О.В.</i>	172
ХРОМАТОГРАФІЧНІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ ЛРС У ДФУ	
<i>Чухонкіна А.С., Дармограй Р.Є.</i>	173
СУЧАСНИЙ СТАН І ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ ЕРУКИ ПОСІВНОЇ В МЕДИЦИНІ	
<i>Шаповалова Н.В., Ленчко Я.І.</i>	174
ПРОГНОЗ ФІТОТЕРАПЕВТИЧНОГО ЕФЕКТУ ЗАЛЕЖНО ВІД СКЛАДУ БАГАТОКОМПОНЕНТНОГО ЕКСТРАКТУ КОМПЛЕКСНОЇ ДІЇ	
<i>Шмалько О. О., Вишневецька Л. І.</i>	176
ВИЗНАЧЕННЯ ЦИТОТОКСИЧНОСТІ АРНІКИ КВІТОК ЕКСТРАКТУ ЗА ДОПОМОГОЮ МТТ-ТЕСТУ НА КУЛЬТУРІ КЕРАТИНОЦИТІВ ЛЮДИНИ	
<i>Шостак О.І., Граніца С., Криворучко О.В.</i>	177
ВИВЧЕННЯ АНТИРАДИКАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ОТРИМАНИХ ЗА ДОПОМОГОЮ РІЗНИХ ЕКСТРАГЕНТІВ ЕКСТРАКТІВ СЛАНЕЙ <i>SETRARIA ISLANDICA</i> (L.) АСН., ЗАГОТОВЛЕНИХ В УКРАЇНІ	
<i>Шпичак А.О., Хворост О.П.</i>	178

Продовж. дод. А.2



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
 МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
 НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК ВИЩОЇ ОСВІТИ УКРАЇНИ
 НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
 КАФЕДРА ХІМІЇ ПРИРОДНИХ СПЛУК І НУТРИЦІОЛОГІЇ

СЕРТИФІКАТ

№ 216

Цим засвідчується, що

Шостак О.І.

брав(ла) участь у роботі V Міжнародної науково-практичної Інтернет-конференції

**"СУЧАСНІ ДОСЯГНЕННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ НАУКИ
 В СТВОРЕННІ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЇ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ
 І ДІЄТИЧНИХ ДОБАВОК, ЩО МІСТЯТЬ КОМПОНЕНТИ
 ПРИРОДНОГО ПОХОДЖЕННЯ"**

(тривалість - 6 годин)

14 квітня 2023 р., м. Харків, Україна

Ректор НФаУ,
 д. фарм. н., проф.

Проректор з науково-педагогічної
 роботи НФаУ, д. фарм. н., проф.

Завідувач кафедри хімії природних сполук
 і нутриціології НФаУ, д. фарм. н., проф.



Алла КОТВИЦЬКА

Інна ВЛАДИМИРОВА

Вікторія КИСЛИЧЕНКО

Додаток А.3

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК ВИЩОЇ ОСВІТИ УКРАЇНИ
КАФЕДРА ТЕХНОЛОГІЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ

MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE
MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY
NATIONAL ACADEMY OF HIGHER EDUCATION SCIENCES OF UKRAINE
DEPARTMENT OF TECHNOLOGIES OF PHARMACEUTICAL PREPARATIONS

X МІЖНАРОДНА НАУКОВО-ПРАКТИЧНА КОНФЕРЕНЦІЯ
«СУЧАСНІ ДОСЯГНЕННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ
ТЕХНОЛОГІЇ»

присвячена 60-річчю з дня народження
доктора фармацевтичних наук,
професора Гладуха Євгенія Володимировича

X INTERNATIONAL SCIENTIFIC-PRACTICAL CONFERENCE
«MODERN ACHIEVEMENTS OF PHARMACEUTICAL
TECHNOLOGY»

dedicated to the 60th anniversary of the birth of
Doctor of Pharmaceutical Sciences,
Professor Gladukh Ievgenii Volodymyrovych

ЗБІРНИК НАУКОВИХ ПРАЦЬ
COLLECTION OF SCIENTIFIC WORKS

ХАРКІВ
KHARKIV
2023

Продовж. дод. А.3

УДК: 615.1

© НФаУ, 2023

Редакційна колегія:

проф. Котвицька А.А., проф. Владимирова І.М., проф. Кухтенко О.С.,
доц. Солдатов Д.П.

Сучасні досягнення фармацевтичної технології : матеріали X міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. 60-річчю з дня народж. д-ра фармацевт. наук, проф. Гладуха Євгенія Володимировича, м. Харків, 10-11 трав. 2023 р. – Харків : НФаУ, 2023. – 292 с.

Modern achievements of pharmaceutical technology : Collection of X International Scientific-Practical Conference, dedicated to the 60th anniversary of the birth of Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor Gladukh Ievgenii Volodymyrovych, Kharkiv, May 10-11, 2023. – Kharkiv : NUPh, 2023. – 292 p.

Збірник містить матеріали X Міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної технології», присвяченої 60-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора Гладуха Євгенія Володимировича (10-11 травня 2023, м. Харків).

Розглянуто теоретичні та практичні аспекти розробки, виробництва, перспективи створення, контролю якості, стандартизації та реалізації лікарських засобів природного, синтетичного та біотехнологічного походження на сучасному етапі у промислових умовах та екстемпоральних лікарських засобів, питання підготовки здобувачів вищої освіти за освітніми програмами «Фармація», «Технології фармацевтичних препаратів», «Біотехнологія», «Промислова біотехнологія», «Фармацевтична біотехнологія» тощо.

Для широкого кола науковців, співробітників фармацевтичних та біотехнологічних підприємств, науково-дослідних установ, фармацевтичних фірм, науково-педагогічних працівників закладів вищої освіти.

Collection contains materials of the X International Scientific-Practical Internet-Conference «Modern achievements of pharmaceutical technology» dedicated to the 60th anniversary of the birth of Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor Gladukh Ievgenii Volodymyrovych (May 10-11, 2023, Kharkiv).

Theoretical and practical aspects of development, production, prospects of creation, quality control, standardization and realization of medicines of natural, synthetic and biotechnological origin at the present stage in industrial conditions and extemporaneous medicines, questions of preparation of applicants for higher education on educational programs "Pharmacy", "Technologies of pharmaceuticals", "Biotechnology", "Industrial biotechnology" and "Pharmaceutical biotechnology", etc are considered.

For a wide range of scientists, employees of pharmaceutical and biotechnological enterprises, research institutions, pharmaceutical companies, teachers of higher education institutions.

Редколегія не завжди поділяє погляди авторів статей.

Автори опублікованих матеріалів несуть повну відповідальність за підбір, точність наведених фактів, цитат, отриманих даних, висновків, власних імен та інших відомостей.

Матеріали подаються мовою оригіналу.

Продовж. дод. А.3

«Сучасні досягнення фармацевтичної технології» (10-11 травня 2023 р., м. Харків)

**INVESTIGATION THE PROPERTIES OF ARNICA FLOWER EXTRACT
ON THE HUMAN SKIN MICROBIOTA***Shostak O.I.¹, Granica S², Krivoruchko O.V.¹*¹**National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine**²**Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland**

Introduction. Skin microbial communities and human cells form a dynamic ecosystem with mutual interactions and divergent aftereffects on a patient's health. Beneficial, commensal, and harmful microbes are known to produce bioactive molecules that influence skin condition. Other mechanisms of mutual effects include levels of bacterial colonization (whether it is extensive or limited), diversity of organisms, formation of bacterial biofilm, ability to modify metabolites chemically or alter pH. Thus, the qualitative characteristics of the microbial ecosystem are possibly the underlying factor of many recalcitrant wounds. Furthermore, when using the term 'skin microbiota', it is also necessary to recognize the variability in microbial communities connected with different environmental conditions among hosts and different human body areas. Habitat characteristics depend on the occurrence of eccrine and apocrine sweat glands, sebaceous glands, and hair follicles. Compared with the gut environment, which is plentiful in sources of nourishment, the skin is significantly unstable, nutrient-depleted and relatively dehydrated. Survival in such conditions required adaptation of local microbes, i.e., utilizing the resources present in sweat, sebum and the stratum corneum. Consequently, environmental changes resulting from topical treatment, cosmetics with diverse composition and properties and herbal remedies can significantly impact the local microbiota. Previously, we conducted a study of the composition of arnica montana flowers by HPLC[1].

The aim of the study is investigation the properties of arnica flower extract on the human skin microbiota

Methods of research. Plant material (1g) was extracted with 80% methanol (2x5 ml) in an ultrasonic bath (temperature 35°C, 30 min). The obtained extracts were centrifuged (15 min), then transferred to a flask and 80% methanol was added to a volume of 10 ml. The samples were filtered through a 0.22 µm membrane filter (ChemLand, Szczecinski, Poland).

Main results. The arnica flower extract was incubated with the human skin microbiota from six healthy donors. The research methodology is presented in the work[2]. The microbiota-triggered biotransformation of the arnica flower extract was observed. It should be considered as a potential factor influencing the extracts' activity in the treatment of skin diseases.

Conclusions. So, Arnica montana is a promising type of medicinal plant material for further pharmacognostic research.

References.

1. Дослідження складу арніки квіток методом ВЕРХ. Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин / Шостак О., Граніка С., Криворучко О. *матеріали V Міжнар. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 23-25 листопада 2022 р.:* X. : НФаУ, 2022. С. 121.
2. Skin microbiota metabolism of natural products from comfrey root (*Symphytum officinale* L.) / Natalia Melnyk, Dominik Popowski, Jakub W. Strawab, Klaudia Przygodzińska, Michał Tomczyk, Jakub P. Piwowarski, Sebastian Granica. *SSRN Electronic Journal.* 2023

Продовж. дод. А.3

«Сучасні досягнення фармацевтичної технології» (10-11 травня 2023 р., м. Харків)

SCREENING OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF STAR ANISE ESSENTIAL OIL AGAINST ENTEROCOCCUS FAECALIS STRAINS Halina Tkaczenko, Natalia Kurhaluk, Maryna Opryshko, Oleksandr Gyrenko, Lyudmyla Buyun	169
АНАЛІЗ ЛІПОФІЛЬНОЇ ФРАКЦІЇ МОМОРДИКИ ХАРАНТІЇ НАСІННЯ Бурлака І.С.	174
ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ ТЕХНОЛОГІЇ ОДЕРЖАННЯ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ОРТИЛІЇ ОДНОБІЧНОЇ Хворост О. П., Вепрук О. М.	175
DEVELOPMENT OF THE COMPOSITION OF A HERBAL MEDICINE FOR THE TREATMENT OF ACNE Salma A., Tizrit Ya., Kriukova A.	176
ВИЗНАЧЕННЯ ПОКАЗНИКІВ ЯКОСТІ ЗА ДФУ ВИДІВ ECHEVERIA DC Топтун Ю.В., Новосел О.М.	177
ТЕХНОЛОГІЧНІ ПРИЙОМИ У РОЗРОБЛЕННІ ОПОЛІСКУВАЧА ПОРОЖНИНИ РОТА Мацюк О. Д., Вишневська Л. І.	178
АНАЛІЗ ОСОБЛИВОСТЕЙ ТЕХНОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ТРАНСДЕРМАЛЬНИХ ТЕРАПЕВТИЧНИХ СИСТЕМ Олефір А. І., Вишневська Л. І.	179
АНТИОКСИДАТНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕКСТРАКТІВ ПАРОСТКІВ ТА ПРОРОСТКІВ БРОКОЛІ Іваночко М.В., Луцзяк В.І.	180
ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ВИВЧЕННЯ ЛИСТЯ АКАЦІЇ РОЖЕВОЇ Місан Б.С., Демешко О.В.	182
OVERVIEW OF THE PHARMACOLOGICAL AND THERAPEUTIC PROPERTIES OF F. ASAFOETIDA L. N.A. Rakhymbayev, U.M. Datkhayev, K.S. Zhakipbekov	183
VALINE PREPARATION OF OXYCOCCUS MACROCARPUS LEAVES EXTRACT – A PROMISING HEPATOPROTECTIVE AGENT Vlasova Inna, Hrytsyk Roman, Grytsyk Lyubov, Raal Ain, Koshovyi Oleh	185
ERUCA SATIVA IS A PROMISING PLANT FOR USE IN PHARMACY Пласконіс Ю. Ю., Кукуруза І. В., Захарків І. І.	186
ДИНАМІКА ВИЛУЧЕННЯ ЕКСТРАКТИВНИХ РЕЧОВИН З СИРОВИНИ CETRARIA ISLANDICA (L.) ACH., ЗАГОТОВЛЕНОЇ В УКРАЇНІ, ПРИ ВИКОРИСТАННІ РІЗНИХ ЕКСТРАГЕНТІВ Шпичак А. О., Хворост О. П.	188
INVESTIGATION THE PROPERTIES OF ARNICA FLOWER EXTRACT ON THE HUMAN SKIN MICROBIOTA Shostak O.I.1, Granica S2, Krivoruchko O.V.1	189
THE PHARMACOGNOSTIC STUDY OF THE HERB PLANTAGO MAJOR PURPLE VARIETY Gontova T., Kouritii A.	190
PHARMACOGNOSTIC STUDY OF HELIANTHUS TUBEROSUS VARIETY KIEV WHITE Gontova T., Kerkouri Y.	191

Продовж. дод. А.3



National University of Pharmacy
Національний фармацевтичний
університет

Department of Technologies of
Pharmaceutical preparations
Кафедра технологій фармацевтичних препаратів

CERTIFICATE № 052

СЕРТИФІКАТ

This is to certify that
Цим засвідчується, що

Oleksandra Shostak

has participated in the X International Scientific-Practical Conference
брав(ла) участь у X Міжнародній науково-практичній конференції

"MODERN ACHIEVEMENTS OF PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY"

«СУЧАСНІ ДОСЯГНЕННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ТЕХНОЛОГІЇ»

dedicated to the 60th anniversary of the birth of Doctor of Pharmaceutical Sciences,
присвяченої 60-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук,

професора Гладуха Євгенія Володимировича

May 10-11, 2023, Kharkiv, Ukraine
10-11 травня 2023 року, Харків, Україна

Rector of the NUPh, prof.
Ректор НФаУ, проф.

**Head of the Department of
Technologies of Pharmaceutical
preparations, prof.**

Завідувач кафедри технологій
фармацевтичних препаратів, проф.



Alla KOTVITSKA
Алла КОТВИЦЬКА

Oleksandr KUKHTENKO

Олександр КУХТЕНКО

Національний фармацевтичний університет

Факультет фармацевтичний
Кафедра фармакогнозії
Ступінь вищої освіти магістр
Спеціальність 226 Фармація, промислова фармація
Освітня програма Фармація

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувачка кафедри
фармакогнозії

Ольга МАЛА
«28» вересня 2022 року

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ

Олександри ШОСТАК

1. Тема кваліфікаційної роботи: «Фармакогностичне дослідження арніки гірської та гамамелісу віргінського», керівник кваліфікаційної роботи: Олена КРИВОРУЧКО, д. фарм.н., професор, затверджений наказом НФаУ від «6» березня 2023 року № 59.
2. Строк подання здобувачем вищої освіти кваліфікаційної роботи: квітень 2023 р.
3. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: фармакогностичне дослідження арніки квіток та гамамелісу кори, визначення цитотоксичності екстракту арніки квіток та його вплив на мікробіоту шкіри проводилося згідно з планом НДР кафедри фармакогнозії
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): провести аналіз літературних джерел щодо рослин – арніки гірської та гамамелісу віргінського, а також стосовно мікробіоти шкіри людини і фітотерапії захворювань шкіри; провести якісний аналіз БАР арніки квіток та гамамелісу кори; визначити кількісний вміст БАР арніки квіток та гамамелісу кори; визначити цитотоксичність екстракту арніки квіток та метаболізм впливу екстракту на шкіру людини.
5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень): таблиць – 7; рисунків – 14.

6. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

Розділ	Ім'я, ПРІЗВИЩЕ, посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	Олена КРИВОРУЧКО, професор закладу вищої освіти кафедри фармакогнозії	вересень 2022 р.	вересень 2022 р.
2	Олена КРИВОРУЧКО, професор закладу вищої освіти кафедри фармакогнозії	вересень 2022 р.	вересень 2022 р.
3	Олена КРИВОРУЧКО, професор закладу вищої освіти кафедри фармакогнозії	вересень 2022 р.	вересень 2022 р.
4	Олена КРИВОРУЧКО, професор закладу вищої освіти кафедри фармакогнозії	вересень 2022 р.	вересень 2022 р.

7. Дата видачі завдання: 28 вересня 2022 року.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів кваліфікаційної роботи	Примітка
1	Характеристика мікробіоти шкіри людини. Фітотерапія захворювань шкіри. Коротка характеристика арніки арніки гірської та гамамелісу віргінського(огляд літератури).	вересень – жовтень 2022 р.	виконано
2	Дослідження якісного складу та визначення вмісту БАР у арніки гірської квіткаї та гамамелісу віргінського корі. Дослідження цитотоксичності екстракту арніки квіток та метаболізму мікробіоти шкіри компонентами з арніки квіток.	жовтень 2022 р. – березень 2023 р.	виконано
3	Оформлення роботи та підготовка до захисту.	березень – квітень 2023 р.	виконано

Здобувач вищої освіти

Олександра ШОСТАК

Керівник кваліфікаційної роботи

Олена КРИВОРУЧКО

ВИТЯГ З НАКАЗУ № 59
по Національному фармацевтичному університету
від 06 березня 2023 року

Затвердити тему, керівника та рецензента кваліфікаційної роботи здобувачу вищої освіти денної форми навчання фармацевтичного факультету НФаУ 2023 року випуску:

№ з / п	Прізвище, ім'я по батькові здобувача вищої освіти	Тема кваліфікаційної роботи (українською мовою)	Тема кваліфікаційної роботи (англійською мовою)	Керівник кваліфікаційної роботи	Рецензент кваліфікаційної роботи
1	Шостак Олександра Ігорівна	Фармакогнос-тичне дослідження арніки гірської і гамамелісу віргінського	Pharmacog-nostic study of <i>Arnica montana</i> and <i>Hamamelis virginiana</i>	проф. Криворучко О. В.	проф. Комісаренко А. М.

ПІДСТАВА: службова записка завідувача кафедри про затвердження теми кваліфікаційної роботи, керівника та рецензента.

Вірно: пров. фахівець деканату

Н. В. Фоменко



ВИСНОВОК

**Комісії з академічної доброчесності про проведену експертизу
щодо академічного плагіату у кваліфікаційній роботі
здобувача вищої освіти**

№ 113091 від « 8 » травня 2023 р.

Проаналізувавши випускню кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти денної форми навчання Шостак Олександри Ігорівни, 5 курсу, _____ групи, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, на тему: «Фармакогностичне дослідження арніки гірської і гамамелісу віргінського / Pharmacognostic study of *Arnica montana* and *Hamamelis virginiana*», Комісія з академічної доброчесності дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (копіляції).

Голова комісії,
професор



Інна ВЛАДИМИРОВА

2%

22%

ВІДГУК

**наукового керівника на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти
магістр, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація**

Олександри ШОСТАК

**на тему: «Фармакогностичне дослідження арніки гірської та гамамелісу
віргінського»**

Актуальність теми. Арніка гірська та гамамеліс віргінський здавна використовуються в медицині для лікування різних захворювань. Лікарські засоби з них рекомендуються при набряках, флебітах, забоях, внутрішніх та гемороїдальних кровотечах, варикозному розширенні вен, розладах кишечника. Хоча сировина цих рослин є офіційною, хімічний склад її вивчено недостатньо і мало відомо про її взаємодію з мікробіомом шкіри людини. Тому подальше фітохімічне і фармакологічне дослідження арніки квіток і гамамелісу кори є актуальним.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. Олександром ШОСТАК опрацьовано літературу щодо мікробіоти шкіри людини і фітотерапії захворювань шкіри, стосовно ботанічної характеристики, хімічного складу і застосування рослин арніки гірської та гамамелісу віргінського. У результаті проведеного дослідження сировини за допомогою якісного аналізу підтверджено наявність фенольних сполук, визначено вміст сесквітерпенових лактонів, танінів. З арніки квіток одержано екстракт, визначено його цитотоксичність та метаболізм впливу на шкіру людини. Наукові положення, висновки і рекомендації, що наведені в роботі, є досить обґрунтованими.

Оцінка роботи. Кваліфікаційна робота виконана на достатньо високому та сучасному науковому рівні. Результати експериментів статистично оброблені та представлені у роботі у вигляді таблиць і рисунків. Висновки узагальнені, що є логічним завершенням теоретичних та експериментальних досліджень.

Олександра ШОСТАК засвоїла і застосувала на практиці різні методи фармакогностичного аналізу, проявила себе як відповідальний і працьовитий дослідник, набула досвіду самостійної роботи.

Загальний висновок та рекомендації про допуск до захисту. Отримані результати досліджень за актуальністю, науковим та практичним значенням відповідають вимогам, які висуваються до кваліфікаційних робіт, тому робота Олександри ШОСТАК «Фармакогностичне дослідження арніки гірської та гамамелісу віргінського» може бути представлена до захисту в Екзаменаційній комісії Національного фармацевтичного університету.

Науковий керівник

Олена КРИВОРУЧКО

«15» квітня 2023 р.

РЕЦЕНЗІЯ

на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти магістр,
спеціальності 226 Фармація, промислова фармація

Олександри ШОСТАК

на тему: «Фармакогностичне дослідження арніки гірської та гамамелісу
віргінського»

Актуальність теми. Останнім часом все більшої популярності набувають лікарські рослини і препарати, що створені на основі лікарської рослинної сировини, для лікування захворювань шкіри. Як об'єкт дослідження було обрано арніки квітки та гамамелісу кору, які у своєму складі містять фенольні сполуки, терпеноїди, органічні кислоти та інш. Хімічний склад їх вивчено недостатньо і мало відомо про взаємодію з мікробіомом шкіри людини, тому подальше фармакогностичне дослідження арніки квіток і гамамелісу кори є актуальним

Теоретичний рівень роботи. Здобувачем вищої освіти оброблена велика кількість наукової літератури на досить високому теоретичному рівні. Зміст роботи повністю відповідає завданню, поставленому Олександрі ШОСТАК.

Пропозиції автора з теми дослідження. У кваліфікаційній роботі автором за допомогою якісного аналізу підтверджено наявність фенольних сполук, визначено вміст сесквітерпенових лактонів, танінів. З арніки квіток одержано екстракт, визначено його цитотоксичність та метаболізм впливу на шкіру людини. Показана перспективність використання досліджуваної сировини для створення нових лікарських засобів.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. В роботі є таблиці й рисунки, які забезпечують більш повне інформативне уявлення про виконані дослідження. Наукові положення, висновки і

рекомендації, сформульовані у роботі, базуються на експериментальних даних і логічно витікають з отриманих результатів.

Недоліки роботи. У тексті зустрічаються граматичні помилки, але принципових зауважень до роботи немає.

Загальний висновок і оцінка роботи. Матеріал кваліфікаційної роботи Олександри ШОСТАК викладено методично правильно, послідовно та логічно, що вказує на вміння автора користуватися науковою літературою та узагальнювати експериментальні дані. Робота Олександри ШОСТАК «Фармакогностичне дослідження арніки гірської та гамамелісу віргінського» відповідає вимогам, що пред'являються до кваліфікаційних робіт, тому може бути рекомендована до захисту в Екзаменаційній комісії НФаУ.

Рецензент _____ проф. Андрій КОМІСАРЕНКО

«17» квітня 2023 р.

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**ВИТЯГ З ПРОТОКОЛУ № 13
засідання кафедри фармакогнозії**

«19» квітня 2023 року

м. Харків

**засідання кафедри
фармакогнозії**

Голова: завідувач кафедри, канд. фарм. наук, доцент Мала О.С.

Секретар: канд. фарм. наук, ас. Комісаренко М. А

Присутні: зав. каф. доц. Мала О.С., проф. Ковальова А. М., проф. Гонтова Т.М., проф. Кошовий О.М., проф. Криворучко О.В., доц. Бородіна Н.В., доц. Демешко О.В., доц. Очкур О.В., доц. Машталер В.В., ас. Гончаров О.В., ас. Комісаренко М.А.

ПОРЯДОК ДЕННИЙ:

1. Представлення кваліфікаційних робіт до захисту в Екзаменаційній комісії НФаУ.

СЛУХАЛИ: Про представлення до захисту в Екзаменаційній комісії НФаУ кваліфікаційної роботи здобувача вищої освіти Олександри ШОСТАК на тему «Фармакогностичне дослідження арніки гірської і гамамелісу віргінського».

Науковий керівник : д.фарм.н., проф. Олена КРИВОРУЧКО.

Рецензент: д.фарм.н., проф. Андрій КОМІСАРЕНКО.

В обговоренні кваліфікаційної роботи брали участь зав. каф. доц. Мала О.С., проф. Гонтова Т.М., проф. Кошовий О.М., доц. Машталер В.В., доц. Демешко О.В., ас. Гончаров О.В.

УХВАЛИЛИ: Рекомендувати до захисту у Екзаменаційній комісії НФаУ кваліфікаційну роботу здобувача вищої освіти Олександри ШОСТАК на тему: «Фармакогностичне дослідження арніки гірської і гамамелісу віргінського», науковий керівник: д.фарм.н., проф. Олена КРИВОРУЧКО.

Голова

Завідувачка кафедри фармакогнозії

Секретар

Ольга МАЛА

Микола КОМІСАРЕНКО

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**ПОДАННЯ
ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ
ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ**

Направляється здобувач вищої освіти Олександра ШОСТАК до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація освітньою програмою Фармація на тему: «Фармакогностичне дослідження арніки гірської та гамамелісу віргінського».

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету _____ / Микола ГОЛІК /

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувач вищої освіти Олександра ШОСТАК в процесі виконання кваліфікаційної роботи засвоїла принципи роботи з літературними першоджерелами, опанувала і використала на практиці різні методи фармакогностичного аналізу досліджуваної сировини, що були використані у роботі.

Отримані результати досліджень за актуальністю, науковим та практичним значенням відповідають вимогам, які висуваються до кваліфікаційних робіт, тому представлена робота здобувача вищої освіти Олександри ШОСТАК може бути рекомендована до захисту в Екзаменаційній комісії Національного фармацевтичного університету.

Керівник кваліфікаційної роботи

«15» квітня 2023 року

Олена КРИВОРУЧКО

Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Олександра ШОСТАК допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Завідувачка кафедри
фармакогнозії

«19» квітня 2023 року

Ольга МАЛІА

Кваліфікаційну роботу захищено

у Екзаменаційній комісії

« ___ » _____ 2023 р.

З оцінкою _____

Голова Екзаменаційної комісії,

доктор фармацевтичних наук, професор

_____ /Лена ДАВТЯН/