

Національний університет «Львівська політехніка»

Міністерство освіти та науки України

Кваліфікаційна наукова праця

на правах рукопису

Карпюк Вікторія Русланівна

УДК 615.014:615.32(043.5)

ДИСЕРТАЦІЯ

ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ РОСЛИН
РОДИНИ *RANUNCULACEAE* ТА РОЗРОБКА СУБСТАНЦІЙ
РІЗНОЇ СПРЯМОВАНOSTІ ДІЇ НА ЇХ ОСНОВІ

Спеціальність 226 – Фармація, промислова фармація.

Галузь знань 22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____В.Р. Карпюк

Науковий керівник: Конечна Роксолана Тарасівна, кандидат фармацевтичних наук, доцент

Львів – 2023

АНОТАЦІЯ

Карпюк В.Р. Фармакогностичне дослідження рослин родини *Ranunculaceae* та розробка субстанцій різної спрямованості дії на їх основі. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація. – Національний університет «Львівська політехніка», Міністерства освіти та науки України, Львів, 2023.

Дисертаційна робота присвячена фармакогностичному дослідженню перспективних видів рослин родини *Ranunculaceae* (Жовтецеві) флори України, а саме: *Caltha palustris* L. (калюжниця болотна), *Ficaria verna* Huds. (пшінка весняна) та *Ranunculus acris* L. (жовтець їдкий), розробці способів отримання екстрактів на їх основі, фітохімічному та фармакологічному дослідженню отриманих екстрактів та розробці складу субстанції різної спрямованості дії.

Проаналізовано фармацевтичний ринок України щодо асортименту сучасних лікарських засобів рослинного походження, зокрема на основі лікарської рослинної сировини рослин родини *Ranunculaceae*.

Опрацьовано та систематизовано дані літературних джерел щодо ботанічної характеристики, ареалу поширення, способу заготівлі, вмісту біологічно активних речовин, фармакологічних властивостей та використання *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L. у фармації та медицині.

Проаналізовано аспекти сучасної фармацевтичної розробки нового лікарського засобу на основі екстрактів з рослинної сировини. Розглянуто алгоритм створення лікарського засобу рослинного походження в основі якого закладено послідовне виконання технологічних, фізико-хімічних та біологічних досліджень.

Висвітлено покрокові етапи дослідження. Представлено основні підходи до вибору об'єктів досліджень. Обґрунтовано вибір рослинних об'єктів дослідження: *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L., на основі отриманих даних інформаційно-пошукового дослідження. Фітохімічні та

фармакологічні дослідження проводили з використанням водно-етанольних екстрактів досліджуваної рослинної сировини. Наведено методологію заготівлі, сушіння та стандартизації досліджуваної рослинної сировини згідно з вимогами аналітично – нормативної документації. Представлено методи визначення фізико-хімічних, технологічних параметрів досліджуваної лікарської рослинної сировини.

Досліджено вплив чотирьох факторів (ступінь подрібнення сировини, природа екстрагента, співвідношення між кількістю сировини та екстрагента, а також час екстракції) на вихід біологічно активних речовин і екстрактивних речовин з трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L.

Екстракцію проводили методом мацерації при температурі 18-20°C. Встановлено, що оптимальними умовами за яких отримано екстракти з максимальною кількістю біологічно активних речовин є: оптимальне співвідношення – суха сировина-екстрагент 1:10, природа екстрагента – 70% водно-етанольний розчин для екстракції трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L. Оптимальний час екстрагування трави *Caltha palustris* L. та трави *Ranunculus acris* L. становить 72 год, для екстракції трави *Ficaria verna* Huds. – 48 год. Розроблено проекти методу контролю якості на «Екстракт трави *Caltha palustris* L.», «Екстракт трави *Ficaria verna* Huds.» та «Екстракт трави *Ranunculus acris* L.».

Проведено фітохімічне дослідження екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L. Встановлено наявність та досліджено кількісний вміст фенольних сполук, флавоноїдів, дубильних речовин, алкалоїдів, кумаринів та сапонінів.

Оцінку якісного складу досліджуваних екстрактів на вміст фенольних сполук проводили за допомогою якісних реакцій. Методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) у зразках досліджуваних об'єктів виявлено хлорогенову кислоту, лютеолін, кавову, ферулову кислоти, кверцетин та хризин. Методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) ідентифіковано та

встановлено кількісний вміст 8 сполук фенольного характеру в екстракті трави *Ficaria verna* Huds., 6 сполук – в екстракті трави *Caltha palustris* L. та 6 сполук у екстракті трави *Ranunculus acris* L.

Суму фенольних сполук у досліджуваних екстрактах трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L. визначили спектрофотометричним методом у перерахунку на галову кислоту. Встановили, що найвищий вміст фенольних сполук міститься в екстрактах отриманих за допомогою 70 % водно-етанольного розчину. Для екстракту *Caltha palustris* L. вміст фенолів становить $50,51 \pm 0,11$ мг/г (міліграм еквівалента галової кислоти на грам екстракту), для екстракту *Ficaria verna* Huds. – $20,35 \pm 0,12$ мг/г та у 70% та екстракту *Ranunculus acris* L. – $18,69 \pm 0,08$ мг/г.

Модифікованим спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст флавоноїдів у екстрактах досліджуваної рослинної сировини у перерахунку на кверцетин. Встановлено, що вміст флавоноїдів вищий в екстрактах отриманих за допомогою 70 % водно-етанольного розчину. Вміст флавоноїдів у 70 % екстракті трави *Caltha palustris* L. становить $19,85 \pm 0,09$ мг/г (міліграм еквівалента кверцетину на грам екстракту), трави *Ficaria verna* Huds. – $18,37 \pm 0,14$ мг/г та трави *Ranunculus acris* L. – $14,85 \pm 0,11$ мг /г.

У траві *Caltha palustris* L., траві *Ranunculus acris* L. та траві *Ficaria verna* Huds. встановлено наявність та визначено кількісний вміст дубильних речовин методами перманганатометрії, комплексонометрії та спектрофотометрії. Вміст дубильних речовин за методом перманганатометрії становив 16,51% для трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. – 6,30 % та трави *Ranunculus acris* L. – 9,84 %. Відповідно до результатів комплексонометричного дослідження вміст дубильних речовин становив для трави *Caltha palustris* L. – 6,89 %, трави *Ficaria verna* Huds. – 0,12 % та траві *Ranunculus acris* L. – 1,98 %. Спектрофотометричним методом встановлено, що кількісний вміст дубильних речовин у траві *Caltha palustris* L. становив 7,81 %, траві *Ficaria verna* Huds. – 0,08% та траві *Ranunculus acris* L. – 2,65 %.

Встановлено якісний і визначено кількісний вміст алкалоїдів у досліджуваній сировині. Отримані результати дослідження підтверджують присутність алкалоїдів у рослинній сировині усіх досліджуваних рослин. Вміст алкалоїдів у траві *Ficaria verna* Huds. становив 4,25 % в перерахунку на суху речовину, у траві *Ranunculus acris* L. – 0,1% на суху речовину та у траві *Caltha palustris* L. – 3,84% на суху речовину.

Спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст кумаринів, що склав для трави *Caltha palustri* L. – 0,47% на суху речовину, трави *Ficaria verna* Huds. – 0,045 % на суху речовину та трави *Ranunculus acris* L. – 0,028 % на суху речовину.

Кількісний вміст сапонінів визначали спектрофотометрично. Сума сапонінів у перерахунку на суху речовину становила: для трави *Caltha palustris* L. 4,47%, трави *Ficaria verna* Huds. – 2,75 % та трави *Ranunculus acris* L. – 0,028%.

Вивчено склад хлороформних фракцій досліджуваних рослин. Вперше проведено дослідження вмісту ліпофільних речовин. Згідно з аналізом отриманих хроматограм експериментальних зразків екстрактів виявлено і встановлено кількісний вміст 26 летких сполук у екстракті трави *Caltha palustris* L., 28 летких сполук в екстракті трави *Ficaria verna* Huds. та 33 летких сполук в екстракті трави *Ranunculus acris* L. серед яких: вищі жирні кислоти, естери жирних кислот, моноциклічні та біциклічні монотерпеноїди, насичені вуглеводні (алкани) тощо.

Запропоновано методи отримання складного екстракту: отримання екстракту з композиції рослинної сировини та отримання екстракту з композиції індивідуальних екстрактів з окремо взятої рослинної сировини. Розроблено склад складного екстракту отриманого композицією індивідуальних екстрактів з окремо взятої рослинної сировини та проведено вивчення біологічної активності та фармакологічної дії отриманої субстанції. Розроблено проєкт методів контролю якості на «Складний екстракт трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L.».

Досліджено гостру токсичність екстрактів і встановлено, що їх можна віднести до малотоксичних засобів (IV клас токсичності, $LD_{50} > 6000$ мг/кг).

Проведено вивчення антимікробної та протигрибкової активності досліджуваних екстрактів методом дифузії в агар (метод «колодязів») та методом серійних розведень (розщеплення резазурину в бульйоні). Встановлено, що 70% екстракти *Ficaria verna* Huds., 90 % екстракт *Ranunculus acris* L. та складний екстракт проявляють активність щодо клінічного штаму *Enterococcus faecalis*. Антимікробну активність відносно клінічних штамів бацил проявляють 90 % екстракт *Caltha palustris* L. та 90 % екстракт *Ficaria verna* Huds. Екстракти трави *Caltha palustris* L., трави *Ranunculus acris* L. та складний екстракт проявляють протигрибкову дію щодо грибів *Candida albicans* 169.

Досліджено антиоксидантну активність екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту визначенням радикал-поглинальної активності радикалу 2,4-динітрофенілгідразину (ДФПГ) та знебарвленням катіон-радикала 2,2'-азинобіс-(3-етилбензтіазолін-6-сульфоїкислоти) (АБТС). Встановлено, що найвищі показники антиоксидантної дії проявили 70% екстракти досліджуваної рослинної сировини: екстракт *Caltha palustris* L. – 77,19% (методом ДФПГ) та 63,15% (методом АБТС), екстракт *Ficaria verna* – 60,94% (методом ДФПГ) та 55,71% (методом АБТС), екстракт *Ranunculus acris* L. – 58,92% (методом ДФПГ) та 55,71% (методом АБТС) та складний екстракт – 67,68% (методом ДФПГ) та 62,14% (методом АБТС). Спосіб отримання екстракту трави *Caltha palustris* L. з антиоксидантною активністю захищено патентом на корисну модель за № 149454. Досліджено антиоксидантні властивості на гепатоцитах печінки щура в умовах ініціювання вільно-радикального окиснення *in vitro*.

Вивчено протизапальну активність досліджуваних водно-етанольних екстрактів та встановлено їх вплив на протікання ексудативної фази запалення на основі карагенінової моделі запального набряку лап білих щурів. Встановлено, що найвищий показник протизапальної активності проявляє складний екстракт, показник пригнічення запальної реакції, якого становив 10,6

%. Екстракти трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. виявили відносно помірний протизапальний ефект на карагеніновій моделі запального набряку кінцівки білих щурів.

Досліджено гепатопротекторну дію екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту в експериментах *in vivo* на фоні ураження печінки білих щурів тетрахлорметаном. Встановлено, що екстракти можуть бути ефективними, як профілактичний лікарський засіб для тривалого застосування при токсичних ураженнях.

Досліджено потенційну можливість застосування екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L. для синтезу наночастинок срібла прямою взаємодією нітрату срібла з досліджуваними екстрактами рослин у водному розчині без застосування додаткових синтетичних та токсичних матеріалів.

Ключові слова: *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L., лікарська рослинна сировина, екстракт, біологічно активні речовини, фітохімічний аналіз, фармакологічна активність.

ANNOTATION

Karpiuk V.R. «Pharmacognostic research of plants of the Ranunculaceae family and the development of substances with various targeted actions based on them»- Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The dissertation on competition of a scientific degree of the doctor of philosophy of a specialty 226 Pharmacy, industrial pharmacy. Lviv Polytechnic National University, Lviv, 2023.

The dissertation work is dedicated to the pharmacognostic study of promising plant species from the *Ranunculaceae* family in the flora of Ukraine, namely: *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., and *Ranunculus acris* L. The research focuses on the development of methods for obtaining extracts based on these plants, phytochemical and pharmacological investigation of the obtained extracts, and the development of a composition with diverse targeted effects based on these substances.

The pharmaceutical market of Ukraine has been analyzed in terms of the assortment of modern plant-based medicinal products, particularly those based on medicinal plant raw materials from the *Ranunculaceae* family.

The data from literary sources regarding the botanical characteristics, distribution range, collection methods, content of biologically active substances, pharmacological properties, and usage of *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., and *Ranunculus acris* L. in pharmacy and medicine have been processed and systematized.

The aspects of modern pharmaceutical development of a new medicinal product based on plant extract have been analyzed. The algorithm for creating a plant-based medicinal product has been considered, which involves a sequential execution of pharmacotechnological, physicochemical, and biological studies.

Step-by-step of the planned research have been outlined. The main approaches to selecting research objects were presented. The choice of plant research objects, namely *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., and *Ranunculus acris* L., was substantiated based on the obtained data from information retrieval research. The obtained extracts of the investigated plant raw materials were the subjects of phytochemical and pharmacological studies. The methodology for collection, drying,

and standardization of the investigated plant raw materials was provided according to the requirements of analytical and regulatory documentation. The methods for determining the physicochemical and technological parameters of the investigated medicinal plant raw materials were presented.

The influence of four factors (degree of raw material fragmentation, nature of the extractant, ratio of raw material to extractant and time parameter) on the yield of biologically active substances and extractive compounds in the extracts of *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., and *Ranunculus acris* L. has been investigated.

The optimal conditions for obtaining plant extracts with a maximum quantity of biologically active substances have been determined, and their standardization has been conducted. It has been established that the extraction of a complex of biologically active substances from *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., and *Ranunculus acris* L. is achieved by using a 70% aqueous-ethanol mixture with a ratio of dry raw material to extractant of 1:10. The optimal extraction time is 72 hours for *Caltha palustris* L. and *Ranunculus acris* L., and 48 hours for *Ficaria verna* Huds. at a temperature of 18-20°C. Quality control method projects have been developed for "*Caltha palustris* L. herb extract," "*Ficaria verna* Huds. herb extract," and "*Ranunculus acris* L. herb extract."

Phytochemical analysis of the extracts of *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., and *Ranunculus acris* L. has been conducted. The presence and quantitative content of phenolic compounds, flavonoids, tannins, alkaloids, coumarins, and saponins have been determined and investigated.

The qualitative assessment of the chemical composition of the investigated extracts regarding the content of phenolic compounds was conducted using qualitative reactions. Chlorogenic acid, luteolin, caffeic acid, ferulic acid, quercetin, and chrysin were detected in the samples of the investigated objects using thin-layer chromatography (TLC) method. High-performance liquid chromatography (HPLC) was employed for the identification and quantitative determination of 8 phenolic compounds in the extract of *Ficaria verna* Huds. herb, 6 compounds in the extract of *Caltha palustris* L. herb, and 6 compounds in the extract of *Ranunculus acris* L. herb.

The total content of phenolic compounds in the investigated extracts of *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., and *Ranunculus acris* L. was determined using the spectrophotometric method, expressed as gallic acid equivalents. It was found that the highest content of phenolic compounds was present in the extracts obtained using a 70% aqueous-ethanol mixture. The content of phenols in the *Caltha palustris* L. extract was 50.51 ± 0.11 mg GAL/g, in the *Ficaria verna* Huds. extract - 20.35 ± 0.12 mg GAL/g, and in the *Ranunculus acris* L. extract obtained using 70% ethanol - 18.69 ± 0.08 mg GAL/g.

The quantitative content of flavonoids in the extracts of the investigated plant material, expressed as quercetin equivalents, was determined using a modified spectrophotometric method. It was found that the content of flavonoids was higher in the extracts obtained using a 70% aqueous-ethanol mixture. The content of flavonoids in the 70% extract of *Caltha palustris* L. was 19.85 ± 0.9 mg QE/g, in the extract of *Ficaria verna* Huds. - 18.37 ± 0.14 mg QE/g, and in the extract of *Ranunculus acris* L. - 14.85 ± 0.11 mg QE/g.

The presence and quantitative content of tannins in *Caltha palustris* L., *Ranunculus acris* L., and *Ficaria verna* Huds. were determined using permanganatometry, complexometry, and spectrophotometry methods. The content of tannins determined by permanganatometry was 16.51% for *Caltha palustris* L., 6.3% for *Ficaria verna* Huds., and 9.84% for *Ranunculus acris* L. According to the results of complexometric analysis, the content of tannins was 6.89% for *Caltha palustris* L., 0.12% for *Ficaria verna* Huds., and 1.98% for *Ranunculus acris* L. Spectrophotometric analysis revealed that the quantitative content of tannins in *Caltha palustris* L. was 7.81%, in *Ficaria verna* Huds. was 0.08%, and in *Ranunculus acris* L. was 2.65%.

The qualitative and quantitative content of alkaloids in the investigated plant material was determined. The obtained results confirm the presence of alkaloids in the plant material of all the investigated plants. The content of alkaloids in *Ficaria verna* Huds. was 4.25% based on dry weight, in *Ranunculus acris* L. was 0.1% based on dry weight, and in *Caltha palustris* L. was 3.84% based on dry weight.

The quantitative content of coumarins was determined spectrophotometrically, resulting in 0.47% based on dry weight for *Caltha palustris* L., 0.045% based on dry weight for *Ficaria verna* Huds., and 0.028% based on dry weight for *Ranunculus acris* L.

The quantitative content of saponins was determined spectrophotometrically. The total saponin content, based on dry weight, was 4.47% for *Caltha palustris* L., 2.75% for *Ficaria verna* Huds., and 0.028% for *Ranunculus acris* L.

The composition of the chloroform fractions of the investigated plants, *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., and *Ranunculus acris* L., was studied. For the first time, the content of lipophilic compounds was analyzed. Based on the chromatographic analysis of the experimental extract samples, the presence and quantitative content of 26 volatile compounds were identified in the extract of *Caltha palustris* L., 28 volatile compounds in the extract of *Ficaria verna* Huds., and 33 volatile compounds in the extract of *Ranunculus acris* L. These compounds include higher fatty acids, fatty acid esters, monocyclic and bicyclic monoterpenoids, saturated hydrocarbons (alkanes), and others.

Two methods for obtaining a complex extract have been proposed: extraction from a composition of plant raw materials and extraction from a composition of individual extracts obtained from separately taken plant raw materials. The composition of the complex extract, obtained by combining individual extracts from separately taken plant raw materials, has been developed, and the biological activity and pharmacological effects of the obtained substance have been studied. A quality control method project has been developed for the "Complex Extract of *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., and *Ranunculus acris* L."

The acute toxicity of the extracts has been investigated, and it has been determined that they can be classified as low-toxicity substances (IV toxicity class, $LD_{50} > 6000$ mg/kg).

The antimicrobial and antifungal activity of the investigated extracts was studied using the agar diffusion method and the serial dilution method. It was found that the 70% extracts of *Ficaria verna* Huds., 90% extract of *Ranunculus acris* L., and the

complex extract exhibited activity against the clinical strain of *Enterococcus faecalis*. The 90% extract of *Caltha palustris* L. and the 90% extract of *Ficaria verna* Huds. demonstrated antimicrobial activity against clinical strains of bacilli. The extracts of *Caltha palustris* L., *Ranunculus acris* L., and the complex extract exhibited antifungal activity against *Candida albicans* 169.

The antioxidant activity of the extracts of *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L., and the complex extract was investigated using the determination of radical scavenging activity of 2,4-dinitrophenylhydrazine (DPPH) radical and the discoloration of the cation-radical of 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS). It was found that the highest antioxidant activity was exhibited by the 70 % extracts of the investigated plant materials: *Caltha palustris* L. extract - 77.19 % (DPPH method) and 63.15 % (ABTS method), *Ficaria verna* extract - 60.94 % (DPPH method) and 55.71 % (ABTS method), *Ranunculus acris* L. extract - 58.92 % (DPPH method) and 55.71 % (ABTS method), and the complex extract - 67.68 % (DPPH method) and 62.14 % (ABTS method). The method of obtaining the extract from *Caltha palustris* L. with antioxidant activity is protected by a utility model patent under No. 149454. The antioxidant properties were studied on hepatocytes of rat liver under conditions of free radical-induced oxidation *in vitro*.

The anti-inflammatory activity of the investigated water-ethanol extracts was studied, and their impact on the exudative phase of inflammation was determined based on the carrageenan-induced model of inflammatory edema in the paws of white rats. It was found that the complex extract exhibited the highest anti-inflammatory activity, with a suppression index of 10.6%. The extracts of *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., and *Ranunculus acris* L. herbs demonstrated a relatively moderate anti-inflammatory effect in the carrageenan-induced model of inflammatory edema in the limbs of white rats.

The hepatoprotective effects of the extracts from *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L., and the complex extract were investigated in *in vivo* experiments using white rats with liver damage induced by carbon tetrachloride. It was

found that the extracts can be effective as a preventive therapeutic agent for long-term use in toxic liver injuries.

The potential application of the extracts of *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., and *Ranunculus acris* L. herbs for the synthesis of silver nanoparticles through the direct interaction of silver nitrate with the investigated plant extracts in an aqueous solution, without the use of additional synthetic or toxic materials, has been investigated.

Keywords: *Caltha palustris*, *Ficaria verna*, *Ranunculus acris* L., medicinal plant raw material, extracts, biologically active substances, phytochemical analysis, pharmacological activity

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Статті

1. Liakh V., Konechna R., Mylyanych A., Zhurakhivska L., Hubytska I., Novikov V. *Caltha palustris*. Analytical overview. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2020. № 2 (24). С. 51–56. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, узагальнення та обробка одержаних результатів, підготовка статті).
2. Viktoriia Karpiuk, Roksolana Konechna, Yulian Konechnyi, Wieczorek Piotr Pawel, Jasicka Misiak Izabela, Lesia Zhurakhivska, Lilia Bolibrukh. The Study of the Composition of Chloroform Fraction of *Caltha palustris*. *Research Journal of Pharmacy and Technology* .2023, Vol : 16 (3).P. 1254-1258. (Особистий внесок – участь у постановці завдань дослідження, проведенні експерименту, узагальнення результатів, написання статті).
3. Карпюк В. Р., Юзьків С. Л., Журахівська Л. Р., Конечна Р. Т., Конечний Ю. Т. *Ficaria verna*. Аналітичний огляд. *Фітотерапія. Часопис*. 2021. № 4. С. 40–46. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел і теоретичні відомості про сировину, оформлення статті).
4. Карпюк В.Р., Юзьків С.Л., Журахівська Л.Р., Конечна Р.Т., Конечний Ю.Т. Жовтець їдкий (*Ranunculus acris* L.) аналітичний огляд поширення, хімічного складу, біологічної активності та медичного застосування. *Фармацевтичний часопис*. 2021. № 3 (59). С. 74–82. (Особистий внесок – участь у постановці завдань та проведенні дослідження, обробці результатів, оформленні статті).
5. Даруга В.В., Карпюк В.Р., Конечний Ю.Т., Конечна Р.Т. *Clematis vitalba*. Аналітичний огляд літератури. *Фітотерапія. Часопис*. № 4. 2021.С.30-35. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, узагальнення та обробка одержаних результатів).
6. Карпюк В.Р., Конечний Ю.Т., Журахівська Л.Р., Конечна Р. Т. Визначення кількісного вмісту дубильних речовин, алкалоїдів та кумаринів у *Caltha palustris*, *Ficaria verna*, *Ranunculus acris* L. *Фітотерапія. Часопис*. 2022.

№ 1. С. 53–58. (Особистий внесок – участь у постановці завдань дослідження, проведенні експерименту, узагальнення результатів, написання статті).

7. В.Р. Карпюк, Н.В. Поліш, Н.Я. Качмар-Кос, І.В. Павлюк, Р.Т. Конечна. Дослідження складу та антиоксидантної дії хлороформного екстракту трави *Ficaria verna*. *Chemistry, technology and application of substances*. 2022. №5(1). С.61-66. (Особистий внесок – участь у постановці завдань дослідження, проведенні експерименту, узагальнення результатів, написання статті).

8. В.Р. Карпюк. Дослідження з розробки складного екстракту на основі рослин родини Жовтецеві. *Chemistry, technology and application of substances*. 2022. Vol. 5, No. 2. С. 94-99. (Особистий внесок – участь у постановці завдань дослідження, проведенні експерименту, узагальнення результатів, написання статті).

9. Karpiuk V., Konechna R. Total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity of *Ficaria verna*. *Periodyk Naukowy Akademii Polonijnej (PNAP)*. 2021. T. 46, No. 3. S. 229–234. (Особистий внесок – участь у постановці завдань, визначення вмісту фенольних сполук і флавоноїдів, аналіз одержаних результатів, написання статті).

10. Спосіб одержання екстракту з трави *Caltha palustris* з антиоксидантною активністю : пат. 149454 UA. № u202104122 ; заявл. 15.07.2021 ; опубл. 17.11.2021, Бюл. № 46.

Монографії

11. Лях В. Р., Конечна Р. Т. Прикладні аспекти застосування лікарських рослин родини *Ranunculaceae* в етномедицині та фармації. *Conceptual options for the development of medical science and education : collective monograph* / Medical University of Lublin. Riga : Baltija Publishing, 2020. Р. 203-217. (Особистий внесок – участь у постановці завдань дослідження, узагальнення та обробка отриманих результатів, оформленні монографії).

Тези доповідей

12. Лях В. Р., Конечна Р. Т., Новіков В. П. Перспективи використання складних екстрактів при розробці нових лікарських засобів. *Технологічні та*

біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії : матеріали IV Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, 14–15 листопада 2019 р., м. Харків. 2019. С. 120–121.

13. Лях В. Р., Конечна Р. Т., Червецова В. Г., Журахівська Л. Р., Новіков В. П. Дослідження вмісту флавоноїдів у траві *Caltha palustris*. Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження : матеріали II Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, 11 березня 2020 року, м. Харків. 2020. С. 95–96.

14. Лях В. Р., Конечна Р. Т. Калюжниця болотна *Caltha palustris* – перспективна лікарська рослина . Науковий підхід до сфери практичної косметології: актуальні питання й тренди : матеріали Міжнародної науково-практичної конференції (Харків, 11 березня 2020 р.). 2020. С. 136–137.

15. Лях В.Р., Конечна Р.Т, Новіков В.П. Аспекти дослідження *Caltha palustris*. *Proceeding of International scientific and practical conference* (25-26 вересня 2020р., Люблін) – 2020 – с.100-104.

16. Ревякіна Н.А., Лях В.Р., Конечна Р.Т, Новіков В.П. Зелений наносинтез в екстракті *Caltha palustris* . V Міжнародна практично-наукова інтернет-конференція (26 листопада 2020р., Харків) -2020 - с.407-410.

17. Лях В.Р., Конечна Р.Т., Юзьків С.Л., Новіков В.П. Аспекти наносинтезу в екстрактах *Ficaria verna*. V Міжнародна практично-наукова інтернет-конференція (26 листопада 2020 р., Харків) -2020 - с.225-526

18. Юзьків С.Л., Гамада В.Р., Лях В.Р., Микитюк О.М., Конечна Р.Т., Новіков В.П. Аспекти введення деяких перспективних видів *Ranunculaceae* в культуру *in vitro*. Міжнародна наукова конференція. (22-24 вересня 2020 р., Київ) -2020 - с.249- 251

19. Лях В.Р., Конечна Р.Т, Новіков В.П. Пшінка весняна *Ficaria verna* перспективна рослина для створення лікувально-косметичних засобів. III Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю (19 листопада 2020 р., Харків) -2020 - с.225-526

20. Юзьків С.Л., Карпюк В.Р. Конечна Р.Т. *Ficaria verna* перспективна рослина для застосування у фармації і біотехнології. *PLANTA+ Міжнародна практично-наукова конференція*(19 лютого 2021р., Київ) -2021 - с.195-197
21. Карпюк В. Р., Конечна Р. Т., Курка М. С., Миляннич А. О., Хоменко О. І. Порівняльний аналіз кількісного вмісту флавоноїдів у траві *Caltha palustris*, заготовленої в 2018-2020 роках. *Scientific progress of medicine and pharmacy of the EU countries : proceedings of the International scientific and practical conference*, Czestochowa, Republic of Poland, April 23–24, 2021. –2021. С. 162–165.
22. Юзьків С. Л., Карпюк В. Р., Червецова В. Г., Конечна Р. Т. Перспективи використання *Ranunculus acris* у фармації. *The concept of modern pharmacy and medicine in Ukraine and EU countries : conference proceedings of the International scientific and practical conference*, July 9–10, 2021, Wloclawek. 2021. С. 126–128.
23. Karpiuk V., Konechna R. Total phenolic content of *Caltha palustris*. *1st International conference on botany and mycology : abstracts book*, 25–26 October 2021, Sofia, Bulgaria. 2021. С. 39.
24. Карпюк В. Р., Конечна Р. Т., Конечний Ю. Т. Дослідження протимікробної дії екстрактів *Ranunculus acris*. *PLANTA+. Наука, практика та освіта : матеріали III Науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 180-річчю Національного медичного університету імені О. О. Богомольця*, 18 лютого 2022 року, м. Київ. 2022. С. 21–23.
25. Карпюк В., Пошивак О., Піняжко О., Конечна Р. Вивчення гострої токсичності екстрактів *Caltha palustris*. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : матеріали їх науково-практичної конференції з міжнародною участю*, 22–23 вересня 2022 року, Тернопіль. 2022. С. 148–149.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	22
ВСТУП.....	23
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНИЙ СТАН ДОСЛІДЖЕННЯ РОСЛИН РОДИНИ <i>RANUNCULACEAE</i> (Літературний огляд)	30
1.1. Маркетингові дослідження фармацевтичного ринку лікарських засобів на основі лікарської рослинної сировини рослин родини <i>Ranunculaceae</i>	32
1.2. Виявлення потенційних неофіціальних видів рослин родини <i>Ranunculaceae</i> та перспективи їх фармакогностичних і фармакологічних досліджень	36
1.3. Характеристика, поширення, вміст біологічно активних речовин, фармакологічні властивості та застосування у фармації та медицині <i>Caltha</i> <i>palustris</i> L.	37
1.4. Характеристика, поширення, вміст біологічно активних речовин, фармакологічні властивості та застосування у фармації та медицині <i>Ficaria verna</i> Huds.	42
1.5. Характеристика, поширення, вміст біологічно активних речовин, фармакологічні властивості та застосування у фармації та медицині <i>Ranunculus acris</i> L.	49
1.6. Екстракція рослинної сировини та аспекти розробки нових лікарських засобів на основі складних екстрактів	54
Висновки до розділу 1	57
РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАГАЛЬНОЇ КОНЦЕПЦІЇ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	59
2.1 Обґрунтування загальної концепції досліджень	59
2.2 Об'єкти дослідження	63
2.2.1. Заготівля рослинної сировини	64
2.2.2. Характеристика отриманих екстрактів.	65
2.3 Методи дослідження	67
2.3.1. Фізико-хімічні та технологічні параметри лікарської рослинної сировини.....	68

Висновки до розділу 2.	71
РОЗДІЛ 3. РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ТА ВИБІР УМОВ ЕКСТРАКЦІЇ ДЛЯ ОТРИМАННЯ РОСЛИННОГО ЕКСТРАКТУ	72
3.1. Підбір умов екстракції рослинної сировини <i>Caltha palustris</i> L., <i>Ficaria verna</i> Huds. та <i>Ranunculus acris</i> L.....	72
3.2. Отримання та стандартизація екстрактів з рослинної сировини <i>Caltha</i> <i>palustris</i> L., <i>Ficaria verna</i> Huds. та <i>Ranunculus acris</i> L.....	79
Висновки до розділу 3.	83
РОЗДІЛ 4. ЯКІСНИЙ ФІТОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ ТА КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У <i>CALTHA</i> <i>PALUSTRIS</i> L., <i>FICARIA VERNA</i> HUDS. ТА <i>RANUNCULUS ACRIS</i> L.	85
4.1. Виявлення і дослідження фенольних сполук	85
4.1.1. Якісний аналіз вмісту фенольних сполук	85
4.1.2. Кількісний аналіз вмісту фенольних сполук	90
4.2. Виявлення і кількісне визначення флавоноїдів	92
4.2.1. Якісний аналіз досліджуваних екстрактів на вміст флавоноїдів	92
4.2.2 Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів.....	94
4.3 Ідентифікація фенольних сполук за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ)	96
4.4. Виявлення і кількісне визначення дубильних речовин	99
4.4.1. Аналіз досліджуваних екстрактів на якісний вміст дубильних речовин	99
4.4.2. Визначення кількісного вмісту дубильних речовин у досліджуваних екстрактах	101
4.5. Виявлення і кількісне визначення алкалоїдів	103
4.5.1. Виявлення алкалоїдів у досліджуваних екстрактах	103
4.5.2. Визначення кількісного вмісту алкалоїдів	104
4.6. Виявлення і кількісне визначення кумаринів	106
4.6.1. Якісний аналіз вмісту кумаринів	106
4.6.2. Визначення кількісного вмісту кумаринів	107

4.7 Виявлення і кількісне визначення сапонінів.	108
4.7.1. Якісний аналіз вмісту сапонінів	108
4.7.2. Визначення кількісного вмісту сапонінів	109
4.8. Вивчення складу хлороформних фракцій досліджуваних рослин	110
4.8.1. Загальна методологія дослідження	110
4.8.2. Дослідження складу хлороформного екстракту <i>Caltha palustris</i> L.	111
4.8.3. Дослідження складу хлороформного екстракту <i>Ficaria verna</i> Huds.	111
4.8.4. Дослідження складу хлороформного екстракту <i>Ranunculus acris</i> L.	112
Висновки до розділу 4.	113
РОЗДІЛ 5. РОЗРОБКА СКЛАДУ СКЛАДНОГО ЕКСТРАКТУ НА ОСНОВІ РОСЛИН РОДИНИ <i>RANUNCULACEAE</i>	117
5.1. Теоретичне та експериментальне обґрунтування отримання екстракту складного	118
5.1.1. Отримання екстракту з композиції рослинної сировини	120
5.1.2. Отримання складного екстракту з композиції екстрактів рослинної сировини	121
5.2. Дослідження отриманих складних екстрактів	121
5.2.1. Вивчення органолептичних показників складних екстрактів	122
5.2.2. Визначення вмісту екстрактивних речовин у складних екстрактах	123
5.2.3. Дослідження вмісту фенольних сполук та флавоноїдів у складних екстрактах	125
5.3. Проєкт МКЯ складного екстракту на основі композиції екстрактів рослинної сировини	127
Висновки до розділу 5.	129

РОЗДІЛ 6. ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ, ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ ДІЇ ТА ВИКОРИСТАННЯ ЕКСТРАКТІВ <i>CALTHA PALUSTRIS</i> L., <i>FICARIA VERN</i> A HUDS. ТА <i>RANUNCULUS ACRIS</i> L.	130
6.1. Вивчення гострої токсичності екстрактів.	130
6.2. Дослідження антимікробної дії	132
6.3. Вивчення протигрибкової активності досліджуваних екстрактів	141
6.4. Вивчення антиоксидантної дії	144
6.4.1. Дослідження радикал-поглинальної активності	144
6.4.2. Визначення за знебарвленням катіон-радикалу АБТС.	146
6.4.3. Дослідження показників оксидативного стресу на тваринних тканинах	148
6.5. Вивчення протизапальної дії екстрактів	154
6.6. Дослідження гепатопротекторної дії	157
6.7. «Зелений синтез» наночастинок за допомогою екстракту трави <i>Caltha palustris</i> L., трави <i>Ficaria verna</i> Huds та трави <i>Ranunculus acris</i> L.....	161
Висновки до розділу 6.	165
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ	169
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	172
ДОДАТКИ.....	193

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АБТС – 2,2'-азино-біс-(3-етилбензтіазолін-6-сульфо кислоти);

АНД – аналітично-нормативна документація;

БАР – біологічно активні речовини;

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я;

ДНФГ – 2,4-динітрофенілгідрозин;

ДФУ – Державна Фармакопея України;

КГ - карбонільні групи;

ЛЗ – лікарський засіб;

ЛФ – лікарська форма;

ЛРС – лікарська рослинна сировина;

МКЯ – методи контролю якості;

ОМБ – окисна модифікація білків;

ОМП – окисна модифікація протеїнів;

ПОЛ – пероксидне окислення ліпідів;

ТБК – тіобарбітурова кислота;

ТШХ – тонкошарова хроматографія;

ФР – фармацевтична розробка.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Незважаючи на значні досягнення у створенні синтетичних лікарських препаратів різної спрямованості дії, збільшується попит на використання препаратів на основі природної сировини. Ринок фітопрепаратів інтенсивно розширюється як в Україні, так і в інших країнах світу.

Питання пошуку нових перспективних рослин чи переосмислення використання вже давно відомих є актуальним, враховуючи значний інтерес до лікарських рослин та їхнє застосування в медицині. Лікарські рослини містять еволюційно сформовані комплекси природних речовин, що беруть участь у складних взаємодіях. Таким чином, попри виражену фармакологічну дію біологічно активних речовин (БАР), що входять до складу препаратів рослинного походження, їхня терапевтична дія на органи та функціональні системи людини зумовлена численними ефектами та взаємодією всіх компонентів комплексу біоактивних сполук.

Актуальним завданням фармацевтичної науки, зважаючи на збільшення попиту на фітозасоби, є пошук нових видів рослин, які могли б стати джерелом біологічно активних сполук, а саме: кумаринів, сапонінів, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, ефірних олій, амінокислот, алкалоїдів та ін.

Перспективними об'єктами для проведення досліджень є лікарські рослини, представники родини *Ranunculaceae* (Жовтецеві), оскільки вони містять комплекси БАР (алкалоїди, сапоніни, кардіостероїди, фенольні сполуки тощо), що зумовлюють різноманітну фармакологічну дію і дозволяють використовувати їх у виробництві лікарських засобів для потреб традиційної медицини. Проте, хімічний склад лікарських рослин родини *Ranunculaceae* залишається недостатньо вивченим.

Дослідження окремих представників родини *Ranunculaceae*, з метою розробки субстанцій різної спрямованості дії, є перспективним напрямком фармацевтичної науки.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами та темами

Дисертаційна робота виконана в межах науково-дослідної роботи НДР ТБСФБ-17 0119U101965 «Біотехнологічні та фітохімічні аспекти дослідження процесу одержання біологічно активних сполук з лікарських рослин».

Мета і завдання дослідження

Мета роботи полягає у фармакогностичному дослідженні окремих представників родини *Ranunculaceae* та встановленні можливості розробки лікарських субстанцій на основі БАР досліджуваної сировини.

Для досягнення мети потрібно було виконати такі завдання:

- Здійснити інформаційний пошук та провести аналіз літературних даних щодо ботанічної характеристики, ареалу поширення, хімічного складу та використання у медицині рослин родини *Ranunculaceae*: *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L.
- Провести вибір, заготівлю, встановити фізико-хімічні та технологічні параметри сировини для отримання екстрактів.
- Здійснити підбір оптимальних параметрів екстракції біологічно активних речовин трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L.
- Дослідити якісний та кількісний вміст БАР у рослинній сировині та отриманих екстрактах з трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L.
- Розробити склад та провести вибір методу отримання складного екстракту на основі трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L., як субстанції з потенційними біологічними активностями та фармакологічною дією.
- Провести вивчення гострої токсичності досліджуваних водно-етанольних екстрактів.
- Дослідити біологічну активність, фармакологічну дію та використання отриманих екстрактів *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L.

- Провести стандартизацію та розробити проєкти методів контролю якості на екстракт трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складний екстракт.

Об'єкти дослідження: трава *Caltha palustris* L., трава *Ficaria verna* Huds. та трава *Ranunculus acris* L. та водно-етанольні екстракти на їх основі, складний екстракт.

Предмет дослідження: ідентифікація та кількісне визначення БАР сировини та екстрактів *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L.; отримання екстрактів з трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L. та розробка методів контролю якості; розробка складу складного екстракту; вивчення біологічної активності і фармакологічної дії досліджуваних екстрактів.

Методи дослідження.

В експериментальному дослідженні використовувалися такі методи: фізико-хімічні – вискоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), тонкошарова хроматографія (ТШХ), газорідинна хроматографія, спектрофотометрія в УФ-областях спектра; хімічні – проведення якісних реакцій; фізичні – визначення втрати в масі при висушуванні, визначення вмісту загальної золи. Фармакологічні дослідження проводили *in vivo* та *in vitro*. Обробку результатів експериментальних досліджень здійснювали за допомогою математично-статистичних методів.

Наукова новизна отриманих результатів.

Вперше проведено фітохімічний аналіз рослин родини *Ranunculaceae* - *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L. флори України. Ідентифіковано та визначено кількісний вміст фенольних сполук, флавоноїдів, алкалоїдів, дубильних речовин, сапонінів та кумаринів у траві *Caltha palustris* L., траві *Ficaria verna* Huds. та траві *Ranunculus acris* L.

Вперше вивчено склад хлороформних фракцій досліджуваних рослин. Виявлено і встановлено кількісний вміст 26 летких сполук у екстракті трави *Caltha palustris* L., 28 летких сполук у екстракті трави *Ficaria verna* Huds. та 33

леткі сполуки у екстракті трави *Ranunculus acris* L. серед яких: вищі жирні кислоти, естери жирних кислот, моноциклічні та біциклічні монотерпеноїди, насичені вуглеводні (алкани) тощо.

Вперше запропоновано методику отримання та розроблено склад складного екстракту з трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L.

Досліджено гостру токсичність екстрактів, вивчено антимікробну та фунгіцидну активність екстрактів, встановлено антиоксидантну, протизапальну, гепатопротекторну дії. Вперше проведено дослідження показників оксидативного стресу на тваринних тканинах.

Практичне значення отриманих результатів

Розроблено спосіб отримання екстракту з трави *Caltha palustris* з антиоксидантною дією (підтверджено та захищено патентом України на корисну модель №149454 «Спосіб одержання екстракту з трави *Caltha palustris* з антиоксидантною активністю»). Розроблено проекти МКЯ на отримані екстракти з трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту.

Результати дослідження хімічного складу, ботанічної характеристики, ареалу поширення впроваджено в наукову роботу та навчальний процес 4 профільних кафедр ЗВО України: кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» при вивченні дисциплін «Ресурсознавство лікарських рослин», «Фармакогнозія» та «Технологія біологічно активних речовин, біомедполімерів і наноструктур» для студентів спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація»; кафедри органічної хімії та фармації Волинського національного університету імені Лесі Українки при вивченні дисципліни «Ресурсознавство лікарських рослин» для студентів спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація»; кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського та кафедри

мікробіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Отримано свідоцтво на реєстрацію авторського права на твір наукова стаття «Total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity of *Ficaria verna*» (№114614).

Особистий внесок здобувача

Дисертаційна робота є завершеною самостійною працею. Спільно з науковим керівником визначено мету та задачі наукових досліджень.

Безпосередньо автором проведено:

- літературний пошук та аналітичний огляд наукової літератури щодо розповсюдження, хімічного складу та використання *Caltha palustris* L., *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L. у медицині та фармації;
- планування та виконання експериментальної частини роботи;
- збір та заготівлю рослинної сировини;
- підбір оптимальних параметрів отримання екстрактів з рослинної сировини;
- дослідження якісного складу та кількісного вмісту БАР в отриманих екстрактах трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L.;
- теоретично та експериментально обґрунтовано метод отримання складного екстракту на основі трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L.
- узагальнення даних отриманих у ході фармакологічних досліджень досліджуваних екстрактів;
- одержані результати експериментальних досліджень узагальнено та статистично опрацьовано;
- підготовку матеріалів до публікацій, що відображено у наукових працях, опублікованих у вітчизняних та іноземних виданнях.

Хроматографічні дослідження проведені у співпраці з проф. П. Вечореком в Університеті Ополе (Польща). Біологічні дослідження – з д.мед.н., проф. О.Р. Піняжком та с.н.с. І.О. Нектегаєвим (Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького). Дослідження протимікробної та фунгіцидної активності виконано сумісно з доктором філософії Ю.Т. Конечним (Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького). Визначення показників оксидативного стресу на тваринних тканинах здійснені спільно з к.б.н., доц. О.С. Яремкевич (Національний університет «Львівська політехніка»).

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи викладено та обговорено на IV Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції (м. Харків, 2019); II Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції (м. Харків, 2020); міжнародній науково-практичній конференції (м. Харків, 2020); міжнародній науковій конференції (м. Київ, 2020); IV міжнародній практично-науковій конференції (м. Київ, 2020); Proceeding of International scientific and practical conference (м. Люблін, 2020); V міжнародній практично-науковій інтернет-конференції (м. Харків, 2020); III науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю (м. Харків, 2020); PLANTA+ міжнародна практично-наукова конференція (м. Київ, 2021); the International scientific and practical conference (Czestochowa, Republic of Poland, 2021); International scientific and practical conference (Wloclawek, Republic of Poland, 2021); 1st International conference on botany and mycology (Sofia, Bulgaria, 2021); III науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченої 180-річчю Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (м. Київ, 2022); науково-практичній конференції з міжнародною участю (м. Тернопіль, 2022).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 24 наукові праці з них 1 стаття у виданнях, що включені до наукометричних баз Scopus та Web of Science, 6 статей у фахових наукових виданнях України, 2 статті є опубліковані у наукових періодичних виданнях іншої держави, 1 розділ колективної монографії

та 1 патент на корисну модель. Апробацію наукових результатів було проведено на 14 вітчизняних та міжнародних науково-практичних конференціях.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу та шістьох розділів, загальних висновків, списку використаних джерел літератури, додатків. Обсяг основного тексту – 146 сторінок. Робота проілюстрована 51 таблицею та 50 рисунками. Список використаних літературних джерел включає 182 найменування, з яких 88 кирилицею та 94 латиною.

РОЗДІЛ 1
СУЧАСНИЙ СТАН ДОСЛІДЖЕННЯ РОСЛИН
РОДИНИ *RANUNCULACEAE*
(Літературний огляд)

Використання лікарських рослин для лікування різноманітних хвороб має тисячолітню історію та не втрачає своєї актуальності і по сьогодні. [1]. Згідно з оцінками Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), попит на рослинну сировину для виробництва лікарських засобів (ЛЗ) продовжує зростати як у країнах, що розвиваються, так і у розвинених країнах. Це свідчить про поширення інтересу до природних джерел лікування та використання рослинних компонентів у медицині [2,3].

В останні роки популярність фітотерапії, незважаючи на великі успіхи в створенні синтетичних ліків, зростає. Інтерес до природних цілющих речовин і препаратів, створених на їх основі, не зменшується завдяки унікальним властивостям фітопрепаратів. Інтенсивно розвиваються технології досліджень в біології, медицині і, зокрема, у фармації [4].

Сьогодні фітотерапія істотно розширює рамки своєї компетенції. Наприклад, розвиваються нові підходи в фітотерапії важких хронічних хвороб і онкологічних захворювань. Це обумовлено як експериментальними дослідженнями чинників, що викликають захворювання (порушення імунітету, алергії, запалення і т.д.), глибшим розумінням процесів виникнення захворювань, так і розробкою сучасних технологій їхнього лікування [5].

Тепер в багатьох країнах бурхливо розвивається нова область фармакології - фармакологія здорової людини. Її мета - створення ліків для здорових людей, ліків, які б не лікували, а покращували здоров'я і працездатність людей. Фітотерапія, поряд з профілактикою хвороб, здатна підвищувати адаптаційні резерви здорового організму [6].

Фітопрепарати, призначені своєчасно, дозволяють відновити добові біоритми, знизити розвиток соматичної патології, викликаній психогенними

факторами, поліпшити якість життя, пом'якшити негативний вплив на організм людини стресових і несприятливих екологічних та виробничих чинників.

Якість сучасних лікарських засобів (ЛЗ) з лікарських рослин постійно поліпшується завдяки широкому застосуванню в їх виробництві інноваційних технологій, починаючи з вибору лікарської рослинної сировини (ЛРС), виділення біологічно активних речовин (БАР) лікарських рослин і закінчуючи методами виробництва препаратів і їх стандартизації.

ЛЗ на основі ЛРС застосовуються при первинній та вторинній профілактиці різних захворювань, а також при оздоровленні, реабілітації та підвищенні адаптаційних резервів здорового організму в спортивній медицині [7].

Рослини родини *Ranunculaceae* (Жовтецеві) є цікавим об'єктом для фітохімічних та фармакологічних досліджень вчених різних країн.

Фармакофілогенетичний аналіз рослин родини *Ranunculaceae* проводили китайські вчені [8]. Філогенетичні дослідження представників родини *Ranunculaceae* представлено у роботах науковців з університету Париж-Південь (Франція) і Геттінгенського університету (Німеччина)[9,10].

Фітохімічні дослідження рослин родів *Anemone*, *Aquilegia*, *Caltha*, *Pulsatilla*, *Ranunculus* та *Trollius* родини *Ranunculaceae* проводили вчені з Байройтського університету (Німеччина) [11].

Дослідники з Університету Британської Колумбії та індійські науковці з Центрального науково-дослідного інституту лікарських засобів вивчали вміст тритерпенів у рослинній сировині *Caltha palustris* [12,14]. Вплив виділеної полісахаридної фракції *Caltha palustris* на клітинну імунну відповідь при колаген-індукованому артриті досліджували вчені Вроцлавського університету природничих наук (Польща) [13,15].

В Україні вивченням поширення рослин родини *Ranunculaceae* займалися науковці Херсонського державного університету та Прикарпатського національного університету ім. В. Стефаника [16,17].

Українські науковці також займалися вивченням фітохімічного складу окремих представників родини *Ranunculaceae*. Проводились дослідження з

вивчення вмісту моносахаридів у траві рутвиці смердючої *Thalictrum foetidum* L. [18], визначали екстрактивні речовини у сировині *Thalictrum foetidum* [19], досліджували вміст фенольних сполук у сировині *Anemona nemorosa* [20].

1.1. Маркетингові дослідження фармацевтичного ринку лікарських засобів на основі лікарської рослинної сировини рослин родини *Ranunculaceae*

В останні роки в Україні спостерігається тенденція розширення асортименту лікарських фітозасобів. Українські виробники активно розробляють нові фітопрепарати і можуть запропонувати їх споживачеві за нижчою ціною, ніж імпортовані. Однак повністю задовольнити потреби фармацевтичного ринку у вітчизняних засобах рослинного походження поки немає можливості, оскільки власні розробки не завжди становлять повноцінну альтернативу імпортом. З розширенням асортименту фітопрепаратів збільшується різноманіття лікарських рослин, сировину яких використовують для їх виробництва [1].

Зазвичай, виявлення нових перспективних видів лікарських рослин з метою використання їх у науковій медицині найчастіше відбувається шляхом вивчення досвіду народної медицини [21].

За даними Державного Реєстру Лікарських Засобів України на 2021 р., на вітчизняному ринку було зареєстровано 1459 торгових назв ЛЗ, на основі рослинної сировини [22].

На основі аналізу ЛЗ за лікарськими формами препаратів встановлено, що найбільша частка припадає на тверді лікарські форми (ЛФ), а саме: таблетки, капсули та порошки. Значна частка ЛЗ на основі ЛРС представлена зборами, квітками, листям, плодами, корою та іншим. Узагальнені результати наведено на рисунку 1.1.

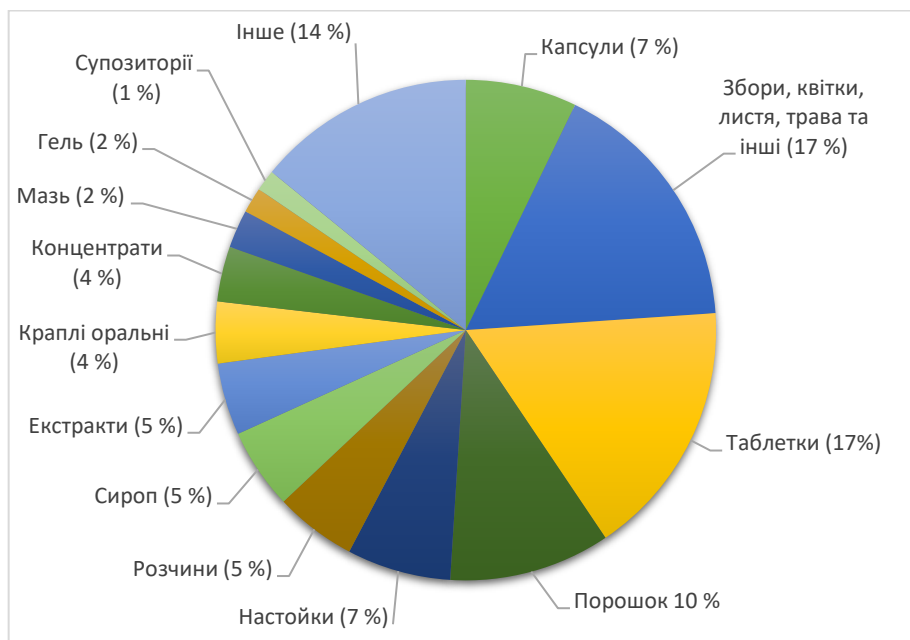


Рисунок 1.1 – Асортимент ЛЗ на фармацевтичному ринку України, на основі ЛРС

Серед ЛЗ на основі ЛРС, які представлені на ринку України, основні групи складають ЛЗ, які впливають на травну систему і метаболізм, засоби, що діють на респіраторну систему та засоби, які діють на нервову та серцево-судинну системи. Дані представлено на рисунку 1.2.

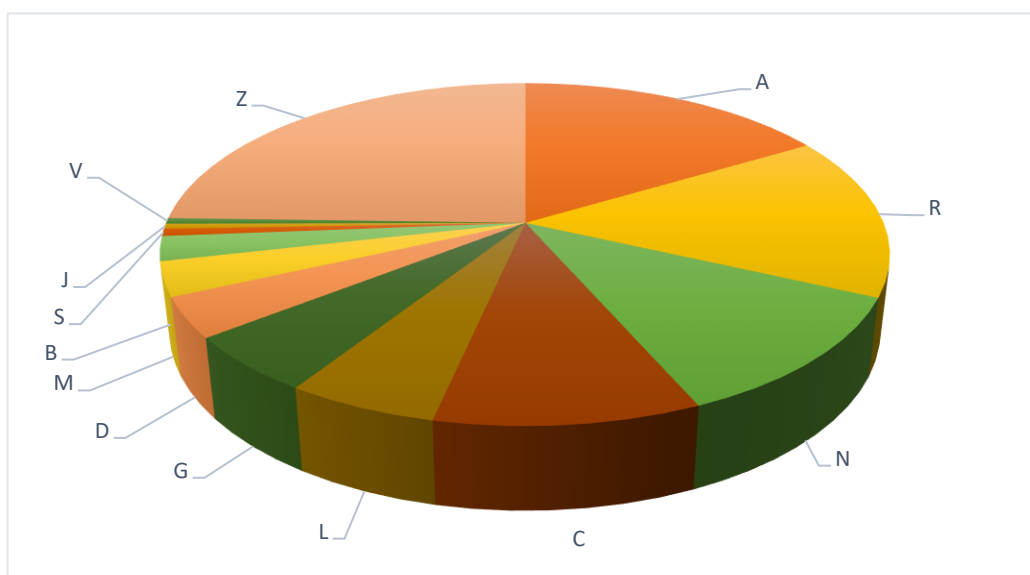


Рисунок 1.2 – Співвідношення груп ЛЗ на основі ЛРС представлених на ринку України: А - Лікарські засоби, що впливають на травну систему та обмін речовин (16%); В - Лікарські засоби, що впливають на кровотворення та кров (3 %); С - Лікарські засоби для лікування

захворювань серцево-судинної системи (10 %); D - Лікарські засоби для лікування захворювань шкіри (4 %); G - Лікарські засоби для лікування захворювань уrogenітальних органів та статеві гормони (5 %); J - Протимікробні лікарські засоби для системного використання (0,38 %); L - Протипухлинні лікарські засоби та імуномодулятори (6 %); M - Лікарські засоби для лікування захворювань кістково-м'язової системи (3 %); N - Засоби, що діють на нервову систему (12 %); R - Лікарські засоби для лікування захворювань дихальної системи (15 %); S - Лікарські засоби для лікування захворювань органів чуттів (0,61 %); V - Інші лікарські засоби (1 %); Z - Товари без коду АТС (25 %)

Серед вітчизняних компаній-виробників із виробництва ЛЗ на основі ЛРС основними є ПрАТ «Ліктрави», фармацевтична фабрика «Віола», ПАТ «Хімфармзавод «Червона Зірка», ПрАТ «Фітофарм» [22, 23].

До основних країн імпортерів лікарських засобів, які містять лікарську рослину сировину належать Індія, Німеччина, Італія, Китай та інші.

До видів лікарських рослин, які традиційно мають значний попит і їх сировина чи БАР наявні у багатьох лікарських засобах відносяться: ромашка лікарська, собача кропива п'ятилопатева, хміль звичайний, звіробій звичайний, алтей лікарський, шипшина (кілька видів), хвощ польовий, айр, лепеха звичайна, деревій звичайний, кропива дводомна, чебрець повзучий та звичайний, м'ята перцева, шавлія лікарська, гірчак звичайний (спориш), елеутерокок колючий, бузина чорна, материнка звичайна, чистотіл великий та ін.

На фармацевтичному ринку України представлені ЛЗ на основі ЛРС певних представників родини *Ranunculaceae* (таблиця 1.1 Додаток А.1) [22,24]. Близько 60 % ЛЗ на основі ЛРС рослин родини *Ranunculaceae* виготовлені та імпортовані німецькими фармацевтичними компаніями і лише 15 % – становлять ЛЗ вітчизняного виробництва (рисунок 1.3).

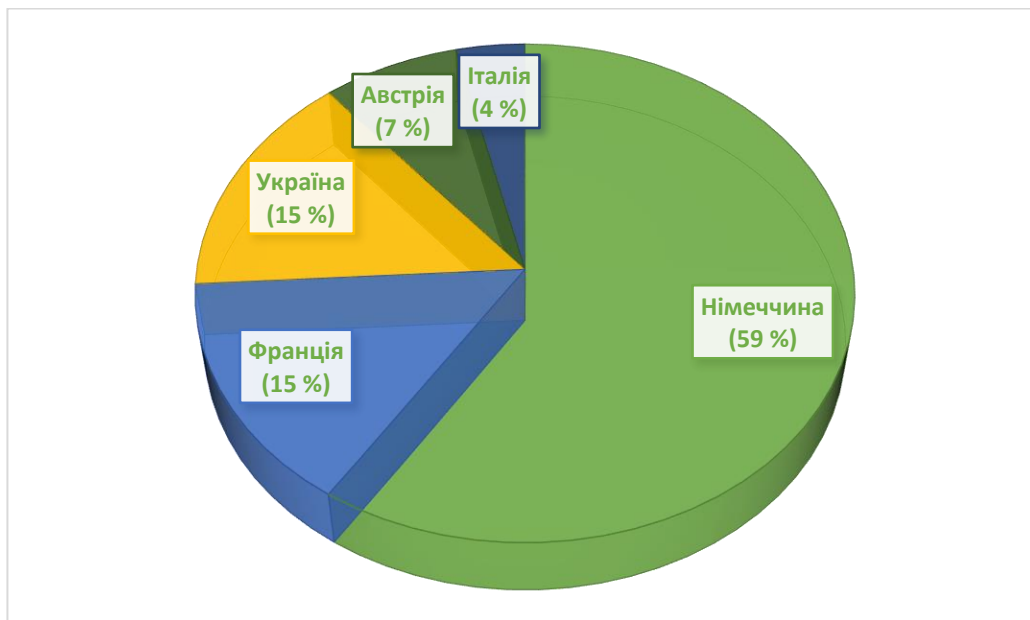


Рисунок 1.3 – Співвідношення країн-виробників ЛЗ на основі ЛРС рослин родини *Ranunculaceae* представлених на фармацевтичному ринку України

Аналіз асортименту ЛЗ на основі рослин родини *Ranunculaceae* свідчить про те, що препарати на основі рослин родини *Ranunculaceae* найчастіше випускаються у формі таблеток, розчинів для ін'єкцій та рідких ЛФ для орального застосування (краплі, розчини, сиропи). Рідше вони застосовуються у ЛЗ для зовнішнього застосування (мазі, гелі) (рисунок 1.4).

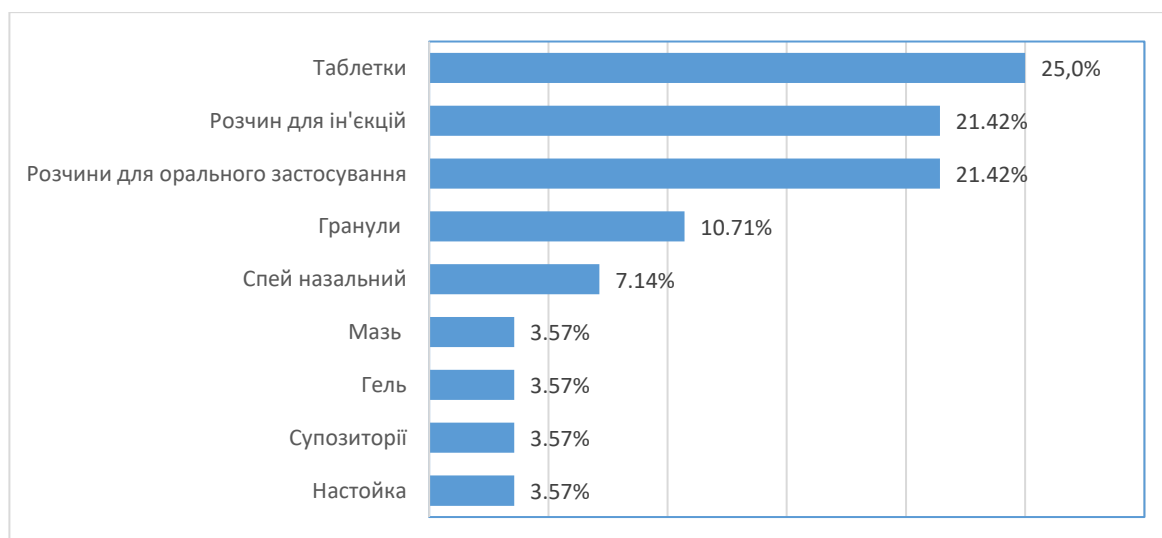


Рисунок 1.4 – Співвідношення ЛФ лікарських засобів на основі ЛРС рослин родини *Ranunculaceae*

В основному ЛЗ на основі ЛРС рослин родини *Ranunculaceae* проявляють протизапальну, імуномодулюючу та седативну дії.

У результаті проведених досліджень асортименту ЛЗ на основі ЛРС представлених на фармацевтичному ринку України встановлено, що лише невелику частку займають ЛЗ на основі ЛРС рослин родини *Ranunculaceae*. Зважаючи на вищесказане, доцільно проводити дослідження та впроваджувати рослини родини *Ranunculaceae* до переліку офіційних з метою розробки ЛЗ на їх основі.

1.2. Виявлення потенційних неофіційних видів рослин родини *Ranunculaceae* та перспективи їх фармакогностичних і фармакологічних досліджень

Родина *Ranunculaceae* включає близько 60 родів і понад 2000 видів рослин, які поширені переважно в помірних і холодних областях земної кулі. Вони широко поширені по всіх континентах, особливо у Північній зоні. В Арктиці число родів і видів не значне, але вони складають важливий елемент флори. У тропіках і субтропіках *Ranunculaceae* зустрічаються значно рідше і в основному в гірських районах. [25]. Первинна диференціація цієї родини мала місце ще у крейдовий період [26].

В Україні зростають рослини 25 родів родини *Ranunculaceae*, які налічують близько 150 видів у різних природних зонах та адміністративних територіях [21, 27-30].

Окремі види рослин (*Anemone narcissiflora* L., *Delphinium sergii* Wissjul., *Delphinium rossicum* L., *Pulsatilla pratensis* (L.) Mill., *Pulsatilla taurica* Juz. та інші) родини *Ranunculaceae* знаходяться під охороною та занесені до Червоної книги України [27, 31, 32].

В останні десятиліття фітохімічному та фармакологічному дослідженню сировини представників родини *Ranunculaceae*, присвячено цілий ряд наукових праць, зокрема, дисертаційних робіт захищених в Україні та за кордоном [33-39, 11-15], що свідчить про значний інтерес дослідників до рослин родини *Ranunculaceae*.

Аналіз даних наукової літератури показав перспективність комплексних фармакогностичних досліджень неофіційних видів з родів *Nigella*, *Pulsatilla*,

Anemone, Aconitum, Caltha, Fucaria. Перелічені представники належать до п'яти триб підродини *Ranunculoideae*: *Nigelleae, Anemoneae, Delphiniaea, Caltheae, Ranuculeae*.

Станом на сьогодні сировина жодного із вище перерахованих видів не входить до ДФУ [40-44], а окремі представники входять у Фармакопеї певних країн. Наприклад, *Ficaria verna* входила у фармакопеї Франції та США [46]. Свого часу *Anemone narcissiflora* L., була уведена до провідних фармакопей: Единбурзької Фармакопеї (1804 р.); Фармакопеї Сполучених Штатів (1833 – 1834 р.). У багатьох країнах *Anemone narcissiflora* L. була офіційною рослиною: у Швеції (1817 р.), в Турині (1833 р.), включена у перше видання Медичного словника (1817 р.) [45]. *Pulsatilla vulgaris* входить у фармакопеї Франції [45].

Виходячи з даних літературних джерел до потенційно перспективних видів можна віднести: *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L., *Clematis vitalba*, *Anemone Nemorosa* L, *Pulsatila alba* та інші. Представники родини *Ranunculaceae* є перспективними об'єктами для проведення досліджень, оскільки вони містять БАР (алкалоїди, сапоніни, кардіостероїди, фенольні сполуки тощо), які давно використовують у традиційній медицині як ЛЗ з різноманітною фармакологічною дією [47-51].

1.3. Характеристика, поширення, вміст біологічно активних речовин, фармакологічні властивості та застосування у фармації та медицині *Caltha palustris* L.

Caltha palustris L. (калюжниця болотна) (рисунок 1.5) - це рослина родини *Ranunculaceae*, роду Калюжниця (*Caltha*). У народі часто поширені назви болотянок, болох, вотап, жабник, жаб'яча трава, жовтковий колір, калужниця, кальожниця, лапики, латач [52]. Це трав'яниста рослина з прямостоячим, простим чи зверху галузистим стеблом, яке має висоту до 20-50 см. Листки великі, зарубчасті, нижні листки великі округлосерцевидні, а верхні майже сидячі, наполовину стеблообгортні, мають нирковидно-серцевидні пластинки.



Рисунок 1.5 – *Caltha palustris* L.

Забарвлення блискучих листків темно-зелене, розміщення на стеблі чергове. Корені у рослини ниткоподібні, зібрані у пучок. Квіти оцвітини овальні або яйцеподібні, яскраво-жовті, 14-24 мм завдовжки, квіти 2,5-3,0 см у діаметрі, п'ять пелюсток розміщуються на довгих квітконіжках. Цвіте рослина у квітні-травні. Перше цвітіння рослини починається лише на 10-й рік її життя. Плоди листянки, які містять до 10 чорних блискучих насінин, що випадають після дозрівання в травні-липні [53].

Caltha palustris L. поширена в Українських Карпатах у високогірних районах. Росте на берегах водойм, вологих луках, озерах, заболочених лісах, по болотах, вздовж річок у повільно текучих та стоячих водах, біля сирих каналів. Карта поширення представлена на рисунку 1.6 [54-56].



Рисунок 1.6 – Поширення *Caltha palustris* L. в Україні

Caltha palustris L. містить БАР як первинного, так вторинного синтезу. До її складу входять алкалоїди, сапоніни, γ -лактони: протоанемонін, анемонін, дубильні речовини (8,1 %), аскорбінова кислота (37 мг %). [11]

Усі частини рослини містять тритерпеноїди (палюстролід, калтолід, епікалтолід, 16,17-дигідроксикаурунову-19 і хедерагенову кислоти), стероїди (ситостерин), каротиноїди(3-епілутеїн), кумарини (скополетин, умбелліферон).

У підземних органах знайдено гетероциклічні сполуки гелеборину. Квіти містять флавоноїди – кемпферол, кверцетин, 7-рамнозид, 3-глюкозид та 3-глюкозидо-7-рамнозид кемпферолу, 7-рамнозид, 3-глюкозид, 3-глюкозидо-7-рамнозид кверцетину.

Квітки *Caltha palustris* L. містять пігменти троліксантин, ксантофіл, епоксантин, алоксантин, насіння - жирну олію (30%). У кореневищах і коренях калюжниці лісової, яка зростає на Далекому Сході, виявлено кальтозиди (глікозиди хедерагеніну та олеанолової кислоти), які мають андрогенну властивість. В насінні знайдені алкалоїди, олії та вітамін С.

Через наявність токсичної речовини протоанемоніну рослина є отруйною, проте після сушіння токсичні властивості втрачаються оскільки протоанемонін перетворюється в анемонін [57].

Вміст протоанемоніну у рослині порівняно з іншими представниками родини *Ranunculaceae* доволі низький – 0,26p.g/g fro wt. Протоанемонін є метаболітом стресу і слугує захистом представників родини *Ranunculaceae* від зовнішніх подразників, тому його кількість може змінюватись [58].

Caltha palustris L. є неофіційною рослиною, її використовують в традиційній медицині найчастіше зовнішньо, як протизапальний і знеболюючий засіб при опіках, ранах, забиттях, ревматизмі, нейродерматитах, екземі тощо [59].

В невеликих дозах відвар або настій трави *Caltha palustris* L. вживають усередину при гарячкових станах, коклюші, бронхітах, астмі, порушенні обміну речовин, діатезі, анемії, цинзі, болісних менструаціях і карциномі матки, а також як сечогінний засіб при водянці й захворюваннях сечовивідних органів [60]. У

тибетській медицині використовували настій квіток *Caltha palustris* L. для лікування асцитів.

У гомеопатії використовують рослину для лікування бронхіту та кашлю, при порушеннях менструального циклу та ін. Гомеопатичний протикашльовий препарат виготовляють зі свіжих квітучих рослин.

На вітчизняному фармацевтичному ринку України представлені препарати, які містять *Caltha palustris* L. До них належить комплексний гомеопатичний препарат Галіум-Хеель, який у формі крапель для перорального застосування виготовляє німецька фірма Biologische Heilmittel Heel GmbH [22]. Препарат має імуномодулювальну, протизапальну, дезінтоксикаційну та дренажну дію, яка базується на активації захисних сил організму і нормалізації порушених функцій завдяки речовинам рослинного, мінерального та тваринного походження, які входять до складу препарату.

Також Галіум-Хеель застосовується при хронічних захворюваннях, що часто загострюються; інфекціях, що потребують стимуляції неспецифічного імунітету; після наслідків токсичної дії медикаментозної терапії (антибіотики, хіміотерапія, радіотерапія) [61].

Американська компанія WHP (Washington Homeopathic Products), що заснована у 1873 році під назвою Вашингтонська гомеопатична аптека пропонує однокомпонентні гомеопатичні засоби з *Caltha palustris* L. у вигляді таблеток, гранул та пілюль [62].

У традиційній медицині сировину *Caltha palustris* L. застосовують як зовнішньо, так і внутрішньо.

Зовнішньо:

- Відвар зі всієї рослини. ½ чайної ложки подрібненої сухої сировини заливають стаканом кип'ятку, варять 5 хвилин на малому вогні та 1 годину охолоджують, тоді проціджують. Таким відваром промивають обпечені ділянки шкіри.

- Сік зі свіжого листя й квіткових бутонів використовують як ранозагоювальний засіб. Лікують рани, опіки, забої, ревматизм та виводять бородавки.
- Припарки використовують для лікування шкірних захворювань, виведення бородавок, лікування нейродерматитів, екземи, опіків, ран та забоїв, лікування ревматизму. Для цього свіжі листки подрібнюють та обливають кип'ятком, замотують у марлю і прикладають до запалених місць

Внутрішньо:

- Відвар з трави. 1 чайну ложку подрібнених коренів заливають 1 стаканом кип'ятку, тоді ставлять на малий вогонь та доводять до кипіння. Кип'ятять на малому вогні 10 хвилин, охолоджують та проціджують. Приймають відвар 3 рази на день по 1 столовій ложці після їжі при порушенні обміну речовин, неокрів'ї та простудних захворюваннях. По 1 чайній ложці приймають при бронхітах, коклюші, хворобливих менструаціях. Відвар має слабкі протипухлинні властивості.
- Відвар з листя. 1 чайну ложку листя заливають стаканом кип'ятку, кип'ятять 15 хвилин на водяній бані, охолоджують 45 хвилин, проціджують та кип'яченою водою доводять об'єм до вихідного.
- Настій. 1 чайну ложку подрібненої трави заливають склянкою окропу, закутують та настоюють 40 хвилин. Приймають по 1/3 стакана 3 рази на день під час їжі. Лікують коклюш, катару бронхів, хворобливі менструації.
- Відвар зі трави *Caltha palustris* L. Пів чайної ложки подрібненої сухої сировини заливають стаканом кип'ятку, варять 5 хвилин на малому вогні. Після цього охолоджують і проціджують. Приймають по 50 мл 3 рази на день за 30 хвилин до їжі при порушенні обміну речовин, неокрів'ї, діатезі, простуді, лихоманці та як протицинготний засіб [57].

Часто *Caltha palustris* L. застосовують у ЛЗ східної медицини. Її застосовують у комплексних ЛЗ різного спектра дії. Дані представлені у таблиці 1.2 (Додаток А.2) [63].

Аналіз літературних джерел показує, що *Caltha palustris* L. має широке застосування не лише у традиційній медицині, а і у сучасній східній медицині у складі лікувальних засобів різного спектру дії.

1.4. Характеристика, поширення, вміст біологічно активних речовин, фармакологічні властивості та застосування у фармації та медицині *Ficaria verna* Huds.

Ficaria verna Huds. (пшінка весняна) (рисунок 1.7) ще один представник родини *Ranunculaceae*. Місцева назва - маслянка. Латинська назва походить від слова, що в перекладі означає винна ягода [64].

Рослина ефемероїдна, ранньовесняна з бульбоподібно потовщеним коренем при основі стебла, заввишки 9-30 см. Рослина тіньовитривала.

Стебло висхідне, тонке, просте або розгалужене у верхній частині, як і вся рослина, голе. Соковиті листки (2-5 см у діаметрі) зверху блискучі, округло-серцеподібні з виїмчасто-зарубчастими краями; верхні кутасті або трохи лопатеві, при основі широкосерцеподібно виїмчасті, з розсунутими лопатями, що не перекривають одна одну. При основі черешків є білі, видовжені вивідкові бруньки. Нижні листки довгочерешкові, середні та верхні на коротших черешках [21,65].



Рисунок 1.7 – *Ficaria verna* Huds.

Квітки по одній-двох на верхівці гілок, правильні (2,5-3,5 см у діаметрі). Оцвітина подвійна. Чашечка з трьох вільних листочків. Чашолистки (6-10 мм завдовжки) широкояйцеподібні, жовтувато-зеленуваті, тонкоплівчасті. Віночок (10-17 мм завдовжки) роздільнопелюстковий, з 8-10 видовженими оберненояйцеподібними, золотисто-жовтими, блискучими пелюстками. В основі пелюсток є медова залозка, вкрита лусочкою. Цвіте у березні-квітні. Плід - збірна сім'янка. Плодик (2-4 мм завдовжки) до основи сплюснутий [66,67].



Рисунок 1.8 – Поширення *Ficaria verna* Huds. в Україні

Ficaria verna Huds поширена по всій Україні (рисунок 1.8), зростає в лісах, переважно широколистяних, але також хвойно-широколистих, частіше в сирих і вогкуватих, нерідко уздовж водотоків, у чагарниках. Також зустрічається і на відкритих місцях - степах, луках, узліссях і галявинах листяних лісів, а також в заплаві і на берегах річок, струмків. Часто утворює масові скупчення [55].

Для виготовлення ліків використовують надземну частину (траву) або всю рослину (трава разом з корінням). Заготовляють сировину в період цвітіння рослини, сушать під укриттям на вільному повітрі, на горищі або в добре провітрюваному приміщенні. Молоде листя споживають свіжим. Рослина неофіційна [68].

Свіже листя *Ficaria verna* Huds містить сапоніни, протоанемонін, анемонін (у висушеному листі), аскорбінова кислота (до 190 мг %), каротин (5,2 мг %). Кореневі бульби містять крохмаль (13,5 %), цукри (10 %) [21]. Після цвітіння

рослина стає отруйною через вміст алкалоїдів хелідоніну і холеритрину, які утворюються на даному етапі розвитку рослини [65].

Результати хімічного дослідження бульб *Ficaria verna* Huds. доводять наявність тритерпеноїдних сапонінів [69]. З бульб виділено шість відомих сапонінів, глікозиди гедерагеніну та олеанолову кислоту [70]. Окрім того, були ідентифіковані тритерпени та стеарини у квітах рослини [71].

Фітохімічними дослідженнями квіток та листя *Ficaria verna* Huds. було виділено чотири додаткові відомі флавоноїдні сполуки, включаючи: кемпферол 3-O- β -d- (6"- α -l-рамнопіранозил) - глюкопіранозид (нікотифлорин), апігенін 8-C- β -d-глюкопіранозид (вітексин), лютеолін 8-C- β -d-глюкопіранозид (орієнтин) та апігенін 8-C- β -d- (2"-O- β -d-глюко-піранозил) - глюкопіранозид (флавозативазид) [72].

За допомогою інших досліджень було виявлено два триглікозиди флавонолу у вигляді 3-O-[альфа-L-рамнопіранозил - (1-6) - бета-D-глюкопіранозил] -7-O- (бета-D-глюкопіранозил) - кверцетин (1) та 3-O- [альфа-L-рамнопіранозил- (1-6) -бета-D-глюкопіранозил] -7-O- (бета-D -глюкопіранозил) - кемпферол [73].

Окрім цього у квітках *Ficaria verna* Huds. було виявлено тритерпени та стеарини [74].

Завдяки дослідженням, було встановлено, що кемпферол та кверцетин домінують у квіткових бруньках *Ficaria verna* Huds. Вміст похідних C-глікозидів апігеніну та лютеоліну у всіх зразках квітів був у низький. Листя *Ficaria verna* Huds. містить менше флавоноїдів, ніж квіти, проте у листках домінуючими були похідні C-глікозиду, апігеніну та лютеоліну. Найвищий вміст цих сполук відзначався у листі [71].

У надземних частинах рослини були виявлені амінокислоти, мінеральні елементи, а також вітамін C. *Ficaria verna* Huds. є першою рослиною поза сімейством *Gentianaceae*, яка містить дисахарид-гентіобіоза [75].

У свіжих частинах рослини спостерігали ранулінкулін та продукти його розпаду [71]. Протоанемонін, один з найбільш вивчених рослинних лактонів, є отруйною складовою. Ця їдка сполука, що подразнює шкіру, ферментативно

виділяється з глюкозиду ранункуліном після подрібнення рослинної тканини.

Протоанемонін був присутній у всіх частинах рослини, але найбільший вміст був виявлений у стеблах та квітках, 67% та 25% від загальної кількості, відповідно. Аналіз чашолистків, пелюсток, тичинок та плодолистків показав, що репродуктивні органи були основними місцями накопичення протоанемоніну.

Отримані результати вказують на те, що розподіл і накопичення протоанемоніну є органоспецифічним, і цей факт пов'язаний з виконанням певної ролі лактону в рослинах *Ranunculaceae*.

Особливої уваги заслуговує розподіл протоанемоніну в різних частинах квітів. Найвищі концентрації були досягнуті в гінецеї. Тоді як андроцей, віночок і калікс демонстрували нижчу кількість лактону.

Більша частина лактону, знайденого у *Ficaria verna* Huds., накопичується в стеблах і квітках. Зокрема, в частині стебел, що несуть листя, його концентрація була в 21 раз вища, ніж у листі, і в 29 разів більша, ніж у стеблах, які несуть квіти. Накопичення даної сполуки у квітках в 16 разів більше, ніж у листі [76].

Ficaria verna Huds. застосовуються тільки в традиційній медицині. Свіже листя *Ficaria verna* Huds. застосовують в гомеопатії [71].

Ficaria verna Huds. має сечогінні, відхаркувальні, проносні, протизапальні, ранозагоювальні та кровоочисні властивості. ЛЗ на основі даної рослини застосовують при лікуванні бронхіту, запору, трахеїту, геморою, шкірних висипань, вугрів, діатезу, гінгівіту, поліартриту, стоматиту та ран [19].

ЛЗ з *Ficaria verna* Huds. часто застосовують при укусах змій. Чай з висушеної рослини застосовують при шкірних захворюваннях як кровоочисний засіб, а також, як протизапальний і знеболювальний. Відвар застосовують для полоскань ротової порожнини при ураженні ясен і пародонтозі, а також для примочок, компресів та обмивань при різних гнійних ранах [21].

Рослину також застосовують у гомеопатії у складі антигемороїдальних препаратів [77].

Хоча в Україні *Ficaria verna* Huds. не є офіційною рослиною, її екстракт був представлений у фармакопеях Франції та США. Він застосовується як освіжаючий та кондиціонуючий дерматологічний засіб [46].

Буарон – сімейна і незалежна фармацевтична компанія, яка спеціалізується на виробництві гомеопатичних ліків з 1932 року, випускала антигемороїдальну мазь Avenos, до складу якої входить *Ficaria verna* Huds. Мазь застосовується для полегшення симптомів геморою і відновлює комфорт щоденної діяльності шляхом зменшення ректальної кровотечі, усунення болю, свербіння і печіння [77].

ЛЗ на основі ЛРС *Ficaria verna* Huds. застосовуються в традиційній медицині як протизапальний, в'язкий засіб, а також як засіб з антибіотеріальними властивостями [66].

Внутрішньо:

- Відвар трави *Ficaria verna* Huds. 1 столову ложку сировини заливають 400 мл окропу та нагрівають на водяній бані 2 год. Вживають по 1 ст ложці відвару 4 рази на день [77].
- Відвар трави в молочній сироватці застосовують при жовтяниці, весняний авітаміноз, бронхіті і діатезі.
- Сік зі свіжої трави з молоком застосовують для очищення крові, а також для поповнення дефіциту вітаміну С.
- Чай з висушеної рослини використовують при шкірних захворюваннях: 2-3 чайні ложки трави заливають 1/4 л води, повільно нагрівають, доводять до кипіння і проціджують. П'ють для очищення шкіри по кілька ковтків протягом дня, а також роблять теплі ванночки для окремих ділянок шкіри [78].

Зовнішньо:

- Настій від геморою: 2 столові ложки трави заливають 500 мл окропу, настояти протягом 3 годин. Використовують у вигляді примочок, прикладаючи до вузлів.

- Відвар трави *Ficaria verna* Huds. 1 ст. ложка сировини запарюють 200 мл окропу, настоюють 2 год. Застосовують для полоскання і промивання ран, виразок.
- Мазь застосовують для змащування гемороїдальних вузлів. Листя рослини розтирають до однорідної маси змішують з вершковим маслом у співвідношенні 1:1 [21].
- Ванни з травою *Ficaria verna* Huds. і травою ромашки використовують для окремих ділянок шкіри і при геморої (сидячі ванни).
- Настій з висушеної трави, зібраної не пізніше цвітіння, застосовують для промивання ран, виразок, полоскання горла і ротової порожнини при запаленнях(особливо при стоматиті), по 2 - 3 рази на день [78].

ЛРС *Ficaria verna* Huds. є перспективним об'єктом для фармакогностичних, фітохімічних, фармакологічних досліджень. Екстракт даної рослини входить до складу дермато-косметичних засобів різних країн, що підтверджено патентами (таблиця 1.3) [63].

Таблиця 1.3 – Запатентовані засоби, на основі *Ficaria verna* Huds.

№	Назва патенту	Автор	Країна	Номер патенту	Застосування
1.	Шкірна композиція, що містить екстракт <i>Ficaria verna</i> як підсилювач проникнено-сті здатності Шкіри	Leclere, Jacques	Франція	FR2872041 A1	Як агента для підвищення проникності шкіри

2.	Композиція для покращення бар'єрної функції ураженої шкіри	Hansenne, Isabelle	США	US20090053337 A1	Місцево для поліпшення бар'єрної функції ураженої шкіри.
3.	Екстракти коренів <i>Ficaria verna</i>	Pourrat, Henri; Pourrat, Aimee	США	US4033818 A	Як антигемороїдальний та косметичний засіб
4.	Косметична композиція для зменшення гіперемії обличчя	Marini, Jan; Saxena, Subhash J.	США	US20170340554 A1	Для догляду за шкірою та покращення зовнішнього вигляду почервонілої або ураженої розаце шкіри.
5.	Засоби для догляду за шкірою, що містять кілька підсилювачів	Gross, Dennis	World Intellectual Property Organization	WO2009046116 A1	Покращення ефективності засобів для догляду за шкірою.

Відповідно до літературних джерел, *Ficaria verna* Huds. активно використовується у косметології, проте рослина недостатньо широко застосовується у виробництві ЛЗ. Зважаючи на це, доцільно досліджувати фітохімічний потенціал та фармакологічні можливості *Ficaria verna* Huds.

1.5. Характеристика, поширення, вміст біологічно активних речовин, фармакологічні властивості та застосування у фармації та медицині *Ranunculus acris* L.

Ranunculus acris L. (жовтець їдкий) (рисунок 1.9) – це багаторічна трав'яниста рослина, яка досягає у висоту 20-50 см. Нижні листки довгочерешкові, довжиною 5-10 см, п'ятикутні, пальчатороздільні. Листки на верхівках стебел трироздільні з лінійними, зубчатими частками, сидячі. Квіти *Ranunculus acris* L. яскраво-жовтого кольору, досягають 2 см в діаметрі, правильні поодинокі або зібрані в суцвіття напівзонтик. Чашолистків п'ять; пелюсток – п'ять; тичинок і маточок багато.

Формула квітки: $*C_5 S_5 A_{\infty} G_{\infty}$. Плоди у рослини – збірні головчасті багатосім'янки. Цвіте з травня по серпень [79]. Рослина з двостатевими квітками, запилюється комахами (бджолами, мухами, жуками). Вегетативне розмноження відбувається восени, коли від короткого кореневища виростає новий вегетативний пагін поблизу материнської рослини, тому з роками утворюється невелике скупчення як правило, із 3-6 рослин [80].



Рисунок 1.9 – *Ranunculus acris* L.

Вид *Ranunculus acris* L. є дикорослим для великого регіону, що охоплює більшу частину Європи (Великобританія, Ісландія, Україна, Іспанія), Азію (Китай, Японія), Північну Америку. Росте майже по всій території України крім південних областей, переважно на вапнякових ґрунтах на луках, лісових галявинах і узліссях [80, 81-85].

Карта поширення *Ranunculus acris* L. на території України представлена на рисунку 1.10 [56]. *Ranunculus acris* L. вважається бур'яном старих пасовищ і сінокосів та індикатором перезволожених ґрунтів.



Рисунок 1.10 – Карта поширення *Ranunculus acris* L. на території України

Як ЛРС використовують надземну частину *Ranunculus acris* L. (траву). Заготовляють сировину в період цвітіння рослини; сушать під укриттям на вільному повітрі, на горищі або в добре провітрюваному приміщенні. Рослина неофіційальна, застосовується лише в традиційній медицині [79].

Трава *Ranunculus acris* L. містить алкалоїди (0,1 %), дубильні речовини (2,6 %), γ -лактони (ранункулін, анемонін, протоанемонін), вітаміни (аскорбінова кислота – 170 мг%, каротин – 12 мг %), флавоноїди (кемпферол, кверцетин) сапонін та серцеві глікозиди [86].

Усі частини квітки, окрім тичинок, містять фітонциди – сесквітерпени та ізопреноїди, в основному переважає транс- β -оцимен. У тичинках було виявлено високий рівень 5-метилен-2(5H)-фуранону. Ефірна олія *Ranunculus acris* L. відзначається високим вмістом жирних кислот, домінуючою кислотою є октадієнова кислота. Також в ефірній олії *Ranunculus acris* L. було виявлено високий вміст фітолу. У пилку квіток було виявлено амінокислоти: глютамінову кислоту, аспарагінову кислоту та лейцин [87].

У коренях рослини були виявлені ряд фенольних сполук [88]. У листках *Ranunculus acris* L. було виявлено п'ять галактоліпідів: Ліполіпіл І (β -D-галактопіранозид, (2S)-3-[[[(9Z,11E)-12-[(1Z,3Z)-1,3-гексадієн-1-локси]-1-оксо-9,11-додекадієн-1-ил]окси]-2-[(1-оксигексадецил)окси]пропіл 6-O- α -D-галактопіранозил-), ліполіпіл Н (β -D- галактопіранозид, (2S)-3-[[[(9Z,11E)-12-[(1Z,3Z)-1,3-гексадієн-1-локси]-1-оксо-9,11-додекадієн-1-ил]окси]-2-[[[(9Z,12Z,15Z)-1-оксо-9,12,15-октадекатрієн-1-ил]окси]пропіл), ліполіпіл G (β -D-галактопіранозид, (2S)-3-[[[(9Z,11E)-12-[(1Z,3Z)-1,3-гексадієн-1-локси]-1-оксо-9,11-додекадієн-1-ил]окси]-2-[[[(7Z,10Z)-1-оксо-7,10-гексадієн-1-ил]окси]пропіл), ліполіпіл F (β -D-галактопіранозид,(2S)-3-[[[(9Z,11E)-12-[(1Z,3Z)-1,3-гексадієн-1-локси]-1-оксо-9,11-додекадієн-1-ил]окси]-2-[[[(7Z,10Z,13Z)-1-оксо-7,10,13-гексадекадієн-1-ил]окси]пропіл), ліполіпіл E (β -D-галактопіранозид (2S)-2-[[[(7Z,9E)-10-[(1Z,3Z)-1,3-гексадієн-1-локси]-1-оксо-7,9-декадієн-1-ил]окси]-3-[[[(9Z,11E)-12-[(1Z,3Z)-1,3-гексадієн-1-локси]-1-оксо-9,11-додекадієн-1-ил]окси]пропіл) [89].

Ranunculus acris L. застосовується тільки в традиційній медицині. Експериментальними та клінічними дослідженнями з'ясовано, що рослина має антибактеріальні, протизапальні, антитоксичні, епітелізуючі та протитуберкульозні властивості. Використовують *Ranunculus acris* L. в основному як зовнішній засіб для лікування ран, інфікованих дерматозів та туберкульозу шкіри. Внутрішньо (у невеликих дозах) використовують при захворюваннях печінки.

Ranunculus acris L. використовується: корінними американцями при абсцесах, кандидозі ротової порожнини і як заспокійливий засіб [90]; у традиційній медицині Польщі при екземі [91]; в Казахстані в гомеопатії при шкірних захворюваннях, подагрі, невралгії та туберкульозі; у тибетській медицині для підвищення температури тіла та при лікуванні гнійних ран [92].

Лікарські форми. У традиційній медицині *Ranunculus acris* L. застосовують як зовнішньо, так і внутрішньо.

Зовнішньо [91]:

- Відвар листя *Ranunculus acris* L. ефективний при екземі.
- Настоянка для лікування ревматизму і подагри. Для цього 100 г етанолу (40% водно-етанольний розчин) заливають 10 г свіжих квітів і настоюють в темному місці протягом 1 місяця. Після цього, настойку проціджують і використовують.
- Настій для лікування туберкульозу шкіри. Дрібно нарізану надземну частину *Ranunculus acris* L. заливають 0,5 л окропу і настоюють 3 години. Отриманий настій використовують для компресів та примочок.
- Мазь із квітів *Ranunculus acris* L. Її використовують при застудах та запаленнях лімфатичних вузлів. Для цього беруть подрібнені квіти *Ranunculus acris* L., сухе листя евкалипта і свинячий топлений жир у співвідношенні 1:1:4 відповідно. Суміш розтирають до отримання однорідної консистенції. Отриману мазь використовують для розтирання горла і грудей.
- Настоянка з екстракту *Ranunculus acris* L. Свіжі квіти (50 г) заливають медичним спиртом (0,5 л) та настоюють 3 тижні у темному місці. Отриману настойку фільтрують та використовують при хворобах горла, м'язових болях, для полоскання волосся.
- Сік *Ranunculus acris* L. Свіжовідтиснутий сік з квітів та надземної частини застосовують при катаракті та зубному болі.

Внутрішньо [91-93]:

- Відвар *Ranunculus acris* L. Траву заливають окропом і витримують 15 хвилин на водяній бані. Відвар в охолоджену вигляді приймають щодня по 1,5 чайної ложки при печінкових хворобах.
- Настоянка *Ranunculus acris* L. Розтерту траву заливають 0,5 л 9% оцту. Настоюють 1 добу і приймають при болях в підшлунковій залозі у співвідношенні настоянки і води 1:10.

Ranunculus acris L. включений до складу окремих фітозасобів, які розроблялись у Швейцарії, Китаї, США. Патенти, отримані для цих засобів, представлені у таблиці 1.4 [63].

Таблиця 1.4 – *Ranunculus acris* L. у складі фітокомпозицій (патенти)

№	Назва	Автор	Країна	Номер патенту	Застосування
1.	Композиція для використання і лікування доброякісних та злоякісних захворювань	Temper Rupert	Женева, Швейцарія	WO2015000946 A1	Для лікування та профілактики ознак пухлин.
2.	Спосіб приготування традиційного китайського засобу для лікування гострого гнійного лімфаденіту типу пахв під пахвами	Dong, Jiamei	Китай	US20090053337 A1	Для лікування гострого гнійного лімфаденіту під пахвами.
3.	Антимікробний засіб	O'Neil, Deborah	США	US20040127385 A1	Очищуюча антимікробна суміш для дезінфекції.
4.	Препарат для лікування туберкульозу кісток та спосіб її приготування		Китай	CN105194389 A	Для лікування туберкульозу кісток.

Ranunculus acris L. належить до отруйних рослин, тому у давнину використовувався для приготування отрут. Препарати на його основі слід приймати тільки після рекомендацій лікаря і виключно з дотриманням точного дозування [94, 95]. Приймання ЛЗ *Ranunculus acris* L. всередину може спричинити розвиток гострого гастроентериту з геморагічним синдромом, що проявляється кривавим проносом, нудотою, болями в животі. Застосовувати ЛЗ на основі *Ranunculus acris* L. забороняється вагітним і годуючим матерям, а також особам з індивідуальною непереносимістю [90].

1.6. Екстракція рослинної сировини та аспекти розробки нових лікарських засобів на основі складних екстрактів

Екстракція ЛРС дозволяє отримати БАР для виготовлення ЛЗ та дієтичних добавок. Цей процес дозволяє вилучати корисні сполуки з рослин, такі як фітонциди, алкалоїди, флавоноїди, терпени та інші речовини, які мають терапевтичні властивості.

Існує багато методів екстракції ЛРС серед яких найпоширенішими є мацерація, перколяція та їх різновиди. Кожен із методів має свої переваги, недоліки та застосовуються залежно від цільових БАР з ЛРС [96].

Важливими факторами при отриманні рослинних екстрактів є тип екстрагента, ступінь подрібнення ЛРС та температура екстракції. Враховуючи те, що технологічні параметри є взаємозалежними, їх правильний вибір забезпечує високу ефективність екстракції [97, 98].

Фармацевтична розробка ЛЗ з рослинної сировини - це комплексний процес, який включає створення та оптимізацію складу і технології ЛЗ на основі активних речовин рослин. Цей процес передбачає розробку ефективних, безпечних і стабільних субстанцій з потенційними лікувальними властивостями рослин [96].

Особливістю розробки ЛЗ рослинного походження є вибір рослинних субстанцій, отриманих в результаті вивчення їх фізико-хімічних та біологічних властивостей.

Першим етапом створення ЛЗ рослинного походження є вибір вихідної рослини та її сировини. Якість ЛРС забезпечується належними умовами культивування, заготівлі, сортування, сушіння, подрібнення та зберігання.

Екстракти рослинної сировини можна застосовувати як готові ЛЗ (екстракти рідкі, настойки, новогаленові препарати, екстракти-концентрати), так і у якості напівпродуктів (густі, сухі екстракти) для отримання лікарських препаратів у різних ЛФ (гелі, мазі, таблетки, капсули та інші) [99-105].

При виробництві екстракційних препаратів основна мета полягає у максимальному вилученні БАР з ЛРС. Для цього важливо правильно вибрати також метод екстрагування [106].

Значну частку рослинних ЛЗ складають багатокomпонентні препарати. Для їх аналізу перспективним є спосіб застосування маркерів – маркерних сполук, які є хімічними речовинами або фізичними властивостями ідентифікації, кількісного вимірювання або оцінки якості певних компонентів у зразках [106].

Застосування маркерів у аналізі багатокomпонентних ЛЗ на рослинній основі має ряд переваг: селективність, кількісне вимірювання, валідація, ефективність, стандартизація.

Застосування маркерів у модернізації аналізу багатокomпонентних ЛЗ рослинного походження може покращити точність, ефективність та надійність процесу контролю якості та допомогти встановити стандартизовані параметри для цих продуктів. Це дає можливість розробити методи контролю якості (МКЯ) на відповідний багатокomпонентний ЛЗ згідно з сучасними фармакопейними вимогами [106].

Відповідно до наказу МОЗ України № 944 від 14.12.2009 року [107], що стосується нових ЛЗ на основі рослинної сировини, які не мають фармакопейних або інших стандартів та базуються на назві рослини або її частини, проводяться наступні дослідження:

1. Визначення гострої токсичності.
2. Вивчення токсичності діючої речовини та готової форми ЛЗ при повторних дозах.

3. Вивчення тератогенності.
4. Вивчення мутагенності.
5. Експериментальне лікування отруєнь при передозуванні.
6. Вивчення алергенності, імунотоксичності та подразнювальної дії.

Ці дослідження допомагають оцінити безпеку та токсичність нових лікарських засобів на рослинній основі і встановити відповідні заходи безпеки та рекомендації для їх використання.

Також проводяться вивчення фармакологічної дії створеного ЛЗ на рослинній основі за допомогою наступних методів:

- вивчення первинної фармакодинаміки.
- вивчення вторинної фармакодинаміки.
- оцінка лікарської взаємодії.

Ці дослідження фармакологічної дії допомагають зрозуміти, як новий лікарський засіб впливає на організм, його ефективність у лікуванні та можливість взаємодії з іншими препаратами. Отримані дані є важливими для подальшого використання нового ЛЗ на рослинній основі. Оцінка лікарської взаємодії препаратів рослинного походження встановлюється, коли передбачене одночасне їх застосування з іншими препаратами [105,106].

На основі аналізу літературних джерел та з урахуванням усіх вимог фармацевтичної розробки до створення ЛЗ було розроблено наступний алгоритм створення ЛЗ рослинного походження наведено в схемі на рисунку 1.11.



Рисунок 1.11 – Алгоритм розробки складу і технології ЛЗ на основі ЛРС

Висновки до розділу 1

1. Проведено аналіз номенклатури рослинних ЛЗ на фармацевтичному ринку України. Встановлено, що станом на 2021 було зареєстровано 1459 торговельних назв ЛЗ на основі ЛРС серед яких найбільша частка припадає на тверді лікарські форми (ЛФ), а саме: таблетки (17 %), капсули (7 %) та порошки (10 %). Значну частку, 17 % становлять ЛЗ на основі ЛРС представлені зборами, квітками, листям, плодами, корою та іншим. Встановлено, що представники родини *Ranunculaceae* входять до складу незначної частини ЛЗ представлених на вітчизняному ринку України.

2. Опрацьовано літературні дані щодо ботанічної характеристики, ареалу поширення, способу заготівлі, хімічного складу сировини, фармакологічної дії та використання у традиційній медицині окремих представників родини *Ranunculaceae*: *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L.

3. Розроблено алгоритм створення ЛЗ рослинного походження на основі неофіціальних видів рослин з урахуванням усіх вимог фармацевтичної розробки до створення ЛЗ.

РОЗДІЛ 2.

ОБГРУНТУВАННЯ ЗАГАЛЬНОЇ КОНЦЕПЦІЇ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Обґрунтування загальної концепції досліджень

Підхід до розробки та дослідження субстанцій для створення нових ЛЗ - це складний процес, що вимагає інформаційно-пошукових досліджень фармацевтичних ринків. Реалізація поставленої мети проводилась наступними етапами дослідження:

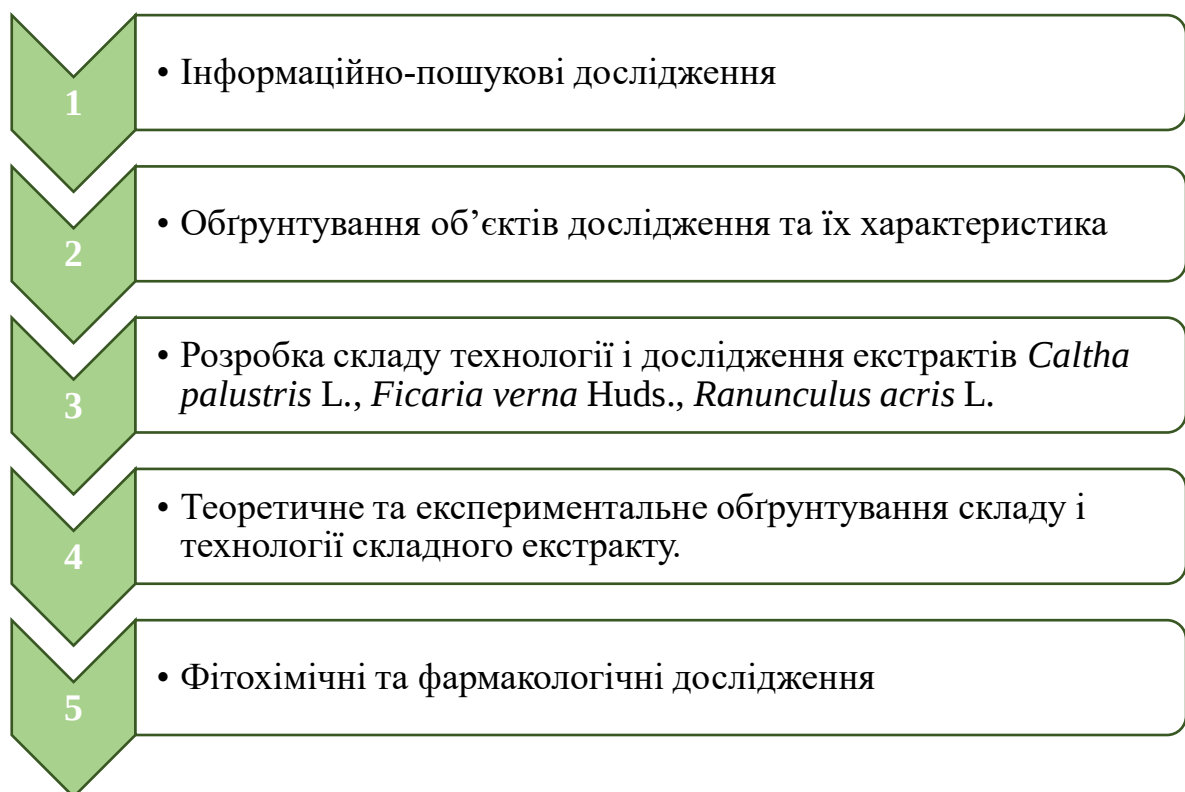


Рисунок 2.1 – Етапи дослідження

Дослідження спрямовані на пошук та створення нових ЛЗ розроблених на основі відомих та маловідомих лікарських рослин повинні базуватися на ґрунтовному інформаційно-пошуковому аналізі, а саме: робота з літературними джерелами інформації (науковими, фаховими джерелами), електронними ресурсами (Державний реєстр лікарських засобів України, База патентів України, Компендіум). (рис. 2.2) [22, 23, 108-113].

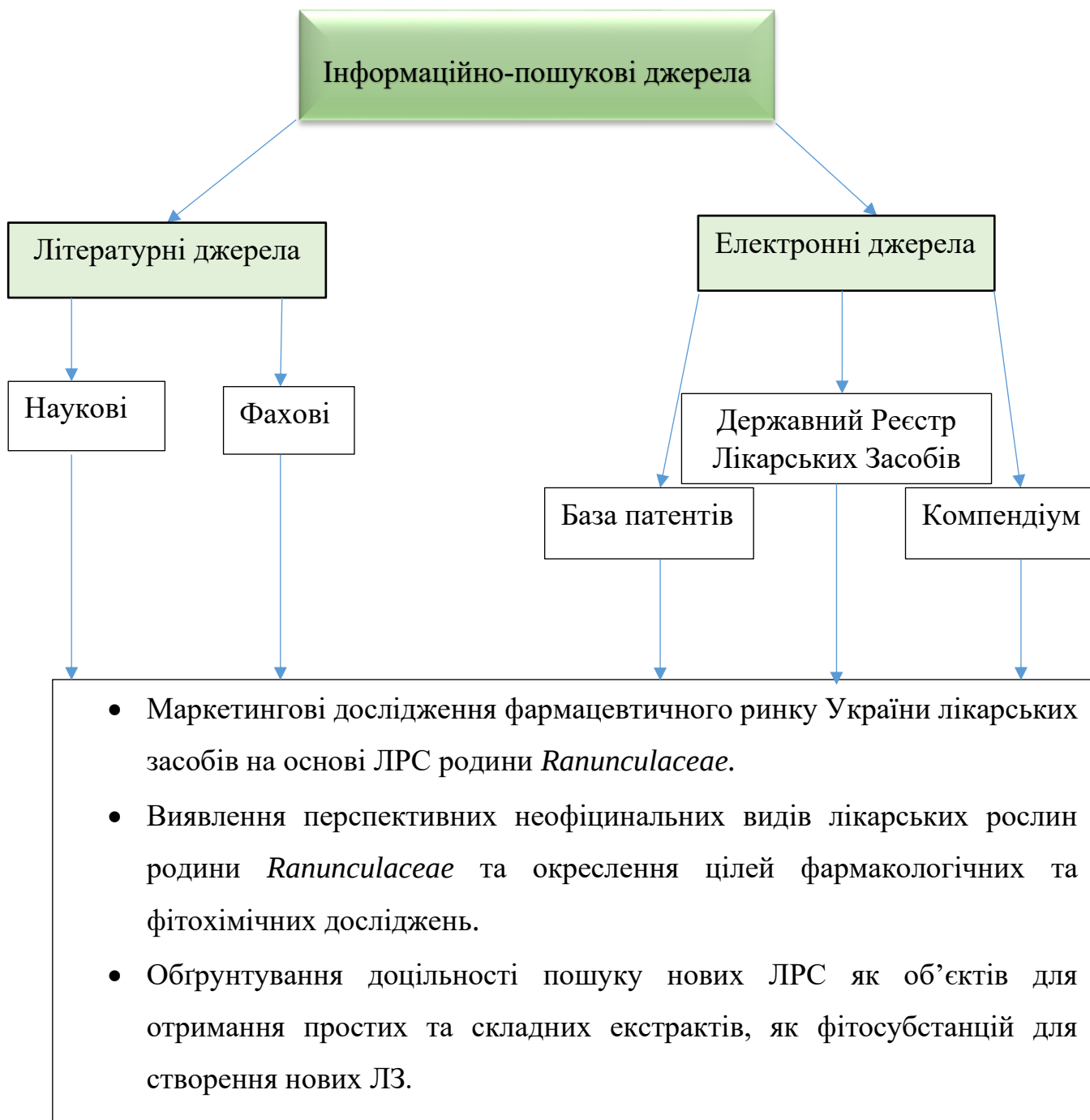


Рисунок 2.2 – Алгоритм інформаційно-пошукових досліджень

Базуючись на проведеному інформаційно-пошуковому дослідженні визначили рослинні об'єкти, які слугуватимуть сировинним джерелом отримання субстанцій різної спрямованості дії, що складуть основу подальшої фармацевтичної розробки. З цією метою проаналізовано спектр рослин родини *Ranunculaceae* флори України та визначено найбільш перспективні види рослини, ефективність яких доведена багаторічним досвідом використання в традиційній медицині, та які є маловивченими на даний час (розділ 1).

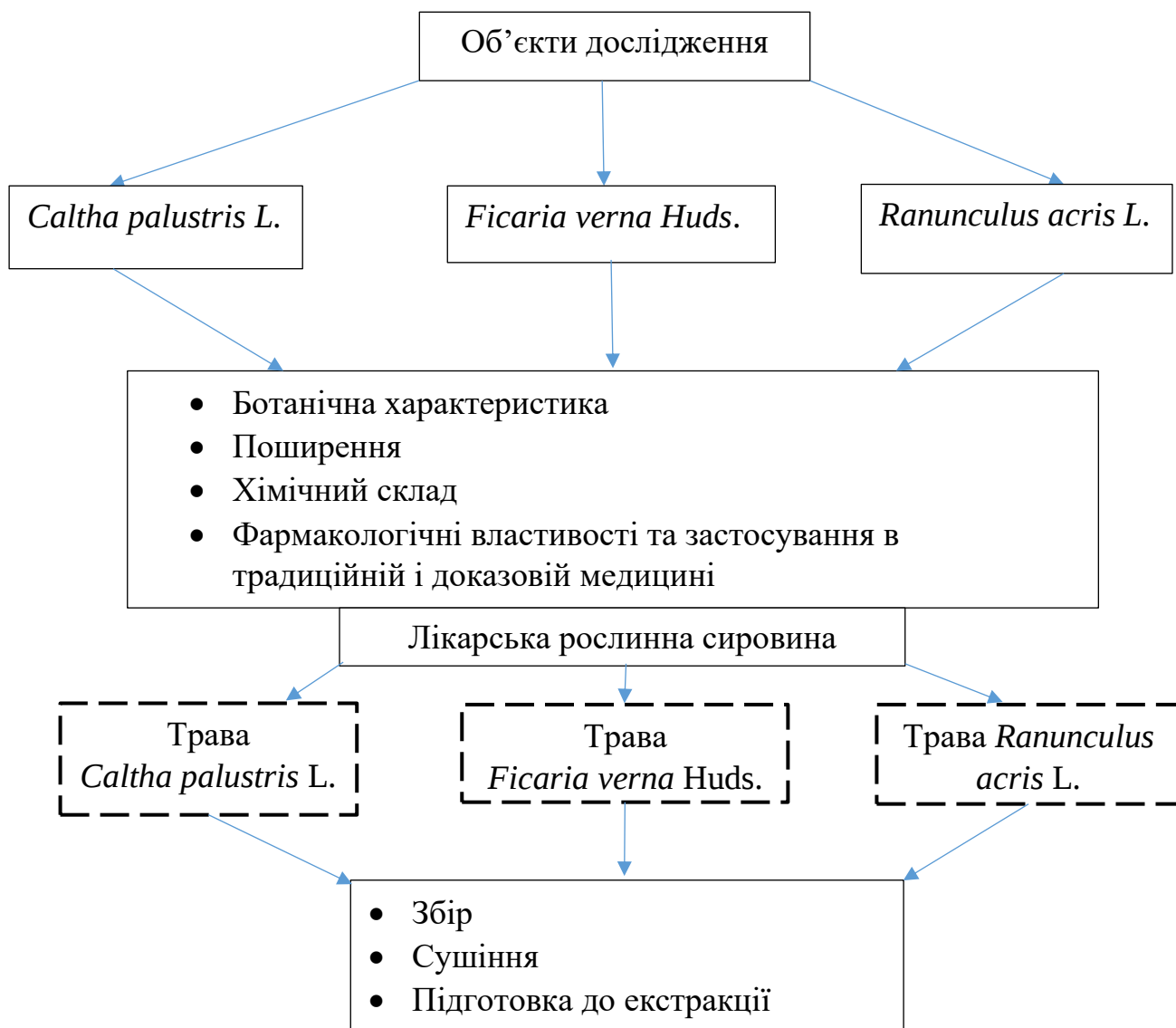


Рисунок 2.3 – Вибір об'єктів досліджень

Після вибору об'єктів дослідження, вивчення їх хімічного складу та фармакологічних властивостей з літературних джерел, наступним етапом досліджень є отримання з досліджуваної ЛРС рідкого екстракту, на основі якого буде розроблено складний рідкий екстракт.

Для отримання екстракту з ЛРС для початку потрібно провести ряд різнопланових досліджень (рис. 2.4), а саме: фізико-хімічних (вміст золи, важких металів, втрати в масі при висушуванні екстракту, вміст подрібнених частинок, сторонні домішки), технологічних (макроскопічний аналіз, визначення показника вологопоглинання та набухання, визначення питомої та насипної маси сировини) [114-117].

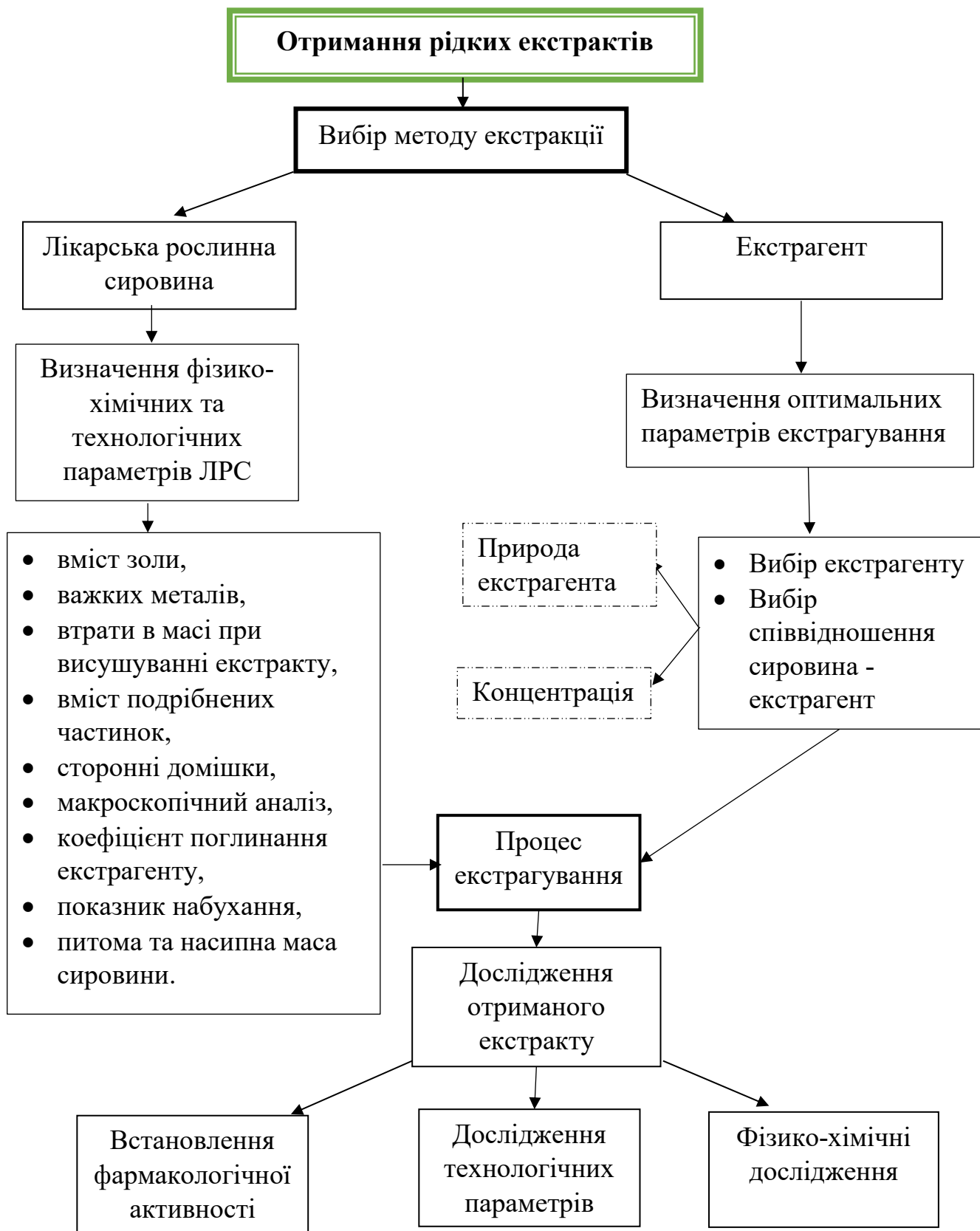


Рисунок 2.4 – Алгоритм досліджень з отримання екстракту рідкого

Наступним етапом досліджень є розробка складу та технології отримання складного екстракту (рис. 2.5). Даний етап складається з наступних досліджень: обґрунтування складу і технології складного екстракту, його дослідження.

Отриманий складний екстракт вивчають за технологічними і фізико-хімічними (ідентифікація та кількісний вміст БАР) показниками, вивчають його антимікробну активність та фармакологічну дію.



Рисунок 2.5 – Алгоритм досліджень з розробки складу і технології складного екстракту

Виконання запланованого дослідження, за вищевказаним алгоритмом, дає можливість розробити оптимальний склад та технологію складного екстракту різної спрямованості дії на основі окремих представників родини *Ranunculaceae*.

2.2 Об'єкти дослідження

Об'єктами дослідження були: лікарська рослинна сировина рослин родини *Ranunculaceae* (трава *Caltha palustris* L., трава *Ficaria verna* Huds., трава *Ranunculus acris* L.) і отримані прості та складні екстракти досліджуваної рослинної сировини (розділ 2.2.2.).

Рослинну сировину заготовляли з природних місць зростання у період цвітіння на території Волинської області (рисунок 2.6).



а

б

в

Рисунок 2.6 – Суха подрібнена сировина: а – трава *Caltha palustris* L.; б – трава *Ficaria verna* Huds.; в – трава *Ranunculus acris* L.

Заготівлю, сушіння та стандартизацію здійснювали до вимог аналітично – нормативної документації (АНД) [40-44].

2.2.1. Заготівля рослинної сировини

Caltha palustris L. Як сировину використовують траву. Її збирають в період повного цвітіння рослини – у квітні – травні. Траву збирають біля самої землі і сушать в темних, прохолодних, добре провітрюваних приміщеннях без доступу сонця. Вихід сухої сировини становить 35-40 % від свіжозібраної маси. Запах калюжниці болотної терпкий, на смак вона гіркувата. Сировина складається з пагонів, окремих листків та квіток. Вологість не більше 10 %. У сировині допускається наявність подрібнених частин, які проходять через сито з діаметром отворів 2 мм не більше 6%; органічних домішок не більше 2 %; мінеральних не більше 1 %; екстрактивних речовин повинно міститись не менше 25 %. Зібраний матеріал зберігають в сухому, прохолодному місці. Термін зберігання (у мішечках або дерев'яній тарі) – 1-2 роки.

Ficaria verna Huds. Як сировину використовують надземну частину (траву) або всю рослину (трава разом з корінням). Заготовляють в період цвітіння рослини – березень - квітень. Рослина не має вираженого запаху, гірка на смак. Сушать сировину під укриттям на вільному повітрі, на горищі або в добре

провітрюваному приміщенні. Зберігають у сухих, добре провітрюваних приміщеннях.

Ranunculus acris L. Як лікарську сировину використовують траву. Збір проводять в період цвітіння з травня по серпень. Рослина без яскраво вираженого запаху та смаку. Сушать під укриттям, на горищі або в добре провітрюваному приміщенні. Суху траву зберігають в сухому, добре провітрюваному місці.

2.2.2. Характеристика отриманих екстрактів.

Для екстрагування досліджуваної рослинної сировини *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L. використовували водно-етанольні розчини з концентрацією етанолу 20, 40, 70 та 90 %. Опис отриманих екстрактів наведено на рисунках 2.7 - 2.9.



Рисунок 2.7 – Водно-етанольні екстракти трави *Caltha palustris* L.: а – 20 %;
б – 40 %; в – 70 %; г – 90 %.

Екстракти *Caltha palustris* L. являють собою:

- 20 % водно-етанольний екстракт – рідина темно-коричневого кольору зі специфічним запахом та терпким смаком;
- 40 % водно-етанольний екстракт – рідина коричневого кольору із характерним запахом та терпким смаком;

- 70 % водно-етанольний екстракт – рідина буро-зеленого кольору зі специфічним запахом та гірким смаком;
- 90 % водно-етанольний екстракт – рідина коричнево-зеленого кольору з трав'яним запахом та терпким смаком;

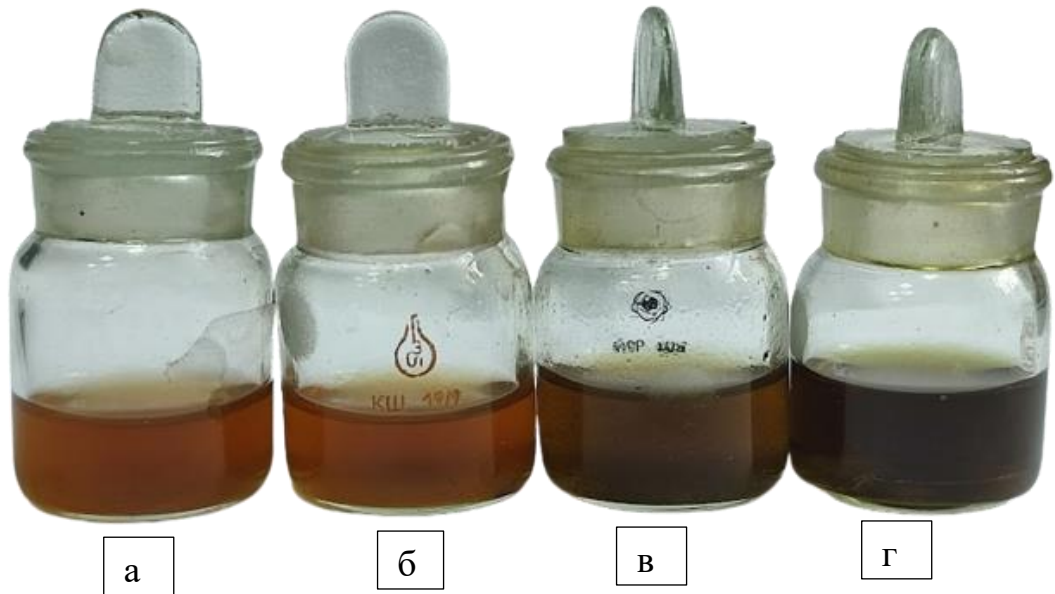


Рисунок 2.8 – Водно-етанольні екстракти трави *Ficaria verna* Huds.: а – 20 %; б – 40 %; в – 70 %; г – 90 %.

Екстракти *Ficaria verna* Huds. являють собою:

- 20 % водно-етанольний екстракт – рідина світло-оранжевого кольору зі характерним запахом та терпким смаком;
- 40 % водно-етанольний екстракт – рідина темно-коричневого кольору із специфічним слабким запахом та терпким смаком;
- 70 % водно-етанольний екстракт – рідина буро-зеленого кольору зі трав'яним запахом та гірким смаком;
- 90 % водно-етанольний екстракт – рідина темно-зеленого кольору з трав'яним запахом та терпким смаком;



Рисунок 2.9 – Водно-етанольні екстракти трави *Ranunculus acris* L.: а – 20 %; б – 40 %; в – 70 %; г – 90 %.

Екстракти *Ranunculus acris* L. являють собою:

- 20 % водно-етанольний екстракт – рідина світло-коричневого кольору зі специфічним запахом та терпким смаком;
- 40 % водно-етанольний екстракт – рідина оранжево-коричневого кольору із характерним запахом та терпким смаком;
- 70 % водно-етанольний екстракт – рідина зеленого кольору зі специфічним запахом та гірким смаком;
- 90 % водно-етанольний екстракт – рідина темно-зеленого кольору з трав'яним запахом та терпким смаком.

Умови екстракції рослинної сировини та метод отримання екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L. представлено у розділі 3.

Характеристика та методи отримання розроблених складних водно-етанольних екстрактів наведена у розділі 5.

2.3 Методи дослідження

З метою розробки субстанцій на основі рослин родини *Ranunculace* використано сучасні фармако-технологічні (розділ 3), фізико-хімічні, фармакологічні (розділ 6) дослідження. Обробку результатів експериментальних

досліджень здійснювали за допомогою математично-статистичних методів. Статистичну обробку виконували за допомогою комп'ютерної програми пакета статистичних функцій програми Microsoft Excel, 2019 та згідно з вимогами ДФУ [40].

ЛРС досліджували згідно з монографіями ДФУ 2.0. Відбір та підготовку проб сировини проводили згідно з вимогами ДФУ 2.8.20 [40].

2.3.1. Фізико-хімічні та технологічні параметри лікарської рослинної сировини

Макроскопічний аналіз. Проводиться для ідентифікації рослинної сировини за морфологічними ознаками (розмір, зовнішні ознаки) та органолептичними показниками (колір, запах, смак)[40-44].

Сторонні домішки. Визначали відповідно до вимог ДФУ 2.8.2. Вміст становив не більше 5,0 % [40].

Втрата в масі при висушуванні. Визначення вмісту вологи проводили на 5-х серіях сировини за методикою Доповнення 4 ДФУ, 2.2.32. Вміст вологи не перевищував 10,0 %. Подрібнену, до порошкоподібного стану, сировину масою 1 г сушили при температурі 105 °С протягом 2 год [40].

Визначення вмісту золи загальної на 5-х серіях сировини проводили згідно з методикою ДФУ, 2.4.16. Вміст загальної золи не перевищував 10,0% [40].

Визначення золи, нерозчинної у 10,0% розчині кислоти хлористоводневої проводили на 5-х серіях сировини відповідно до методики ДФУ 2.0, 2.8.1. Вміст золи, нерозчинної у 10,0% розчині кислоти хлористоводневої, не перевищував 2,0% [40].

Визначення важких металів проводили на 5-х серіях сировини відповідно до методики ДФУ Доповнення 2 ДФУ, 2.4.27. Проводили визначення вмісту кадмію, свинцю та ртуті. Вміст кадмію не перевищував 1,0 ppm, свинцю – був не більше 5,0 ppm, а ртуті – не більше 0,1 ppm [40].

Вміст подрібнених частинок, що проходять крізь сито з отворами діаметром 2 мм, не більше 6,0%.

Визначення показника набухання. Згідно ДФУ 2.0, 2.8.4 – зайнятий об'єм (мл) 1 г випробуваного зразка, після його набухання (протягом 4 год) у водному середовищі з урахуванням клейкого слизу.

Визначення питомої маси сировини. Вимірюється як співвідношення маси абсолютно сухої подрібненої ЛРС до їх повного об'єму [118,119].

Показник розраховували за формулою:

$$d_y = \frac{P \times d_{\text{ж}}}{P + G - F}, \text{ г/см}^3, \quad (2.1)$$

де: P – маса абсолютно сухої ЛРС, г; G – маса пікнометра з водою, г; F – маса пікнометра з водою і ЛРС, г; $d_{\text{ж}}$ – питома маса води, г/см³ ($d_{\text{ж}} = 0,9982$ г/см³).

Коефіцієнт поглинання екстрагента. Визначається як різниця об'ємів залитого екстрагента та злитого об'єму екстрагента після поглинання ЛРС до маси подрібненої ЛРС.

Показник розраховували за формулою:

$$X = \frac{V - V_1}{P} (X, \text{ мл/г}), \quad (2.2)$$

де: V – об'єм залитого екстрагента, мл; V1 – об'єм злитого екстрагента після поглинання ЛРС, мл; P – маса подрібненої ЛРС, г.

Визначення насипної маси. Мірний циліндр наповнювали подрібненою ЛРС, струшували та визначали об'єм, що займає [120, 121].

Показник розраховували за формулою:

$$d_H = \frac{P_H}{V_H}, \text{ г/см}^3, \quad (2.3)$$

де: P_H – маса подрібненої ЛРС при природній або заданій вологості, г; V_H – об'єм, що займає ЛРС, см³.

Зберігання. Сировину зберігають в добре провітрюваних приміщеннях, не більше 3 років.

Показники дослідження основних параметрів рослинної сировини наведено у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1 – Параметри досліджуваної рослинної сировини

№ з/п	Назва параметру	Одиниці Вимірювань	Числові показники		
			<i>Caltha palustris</i> L.	<i>Ficaria verna</i> Huds.	<i>Ranunculus acris</i> L.
1.	Вміст сторонніх домішок	%	4,12±0,08	3,78±0,12	4,21±0,11
2.	Втрата в масі при висушуванні.	%	8,12±0,14	7,32±0,04	6,24±0,12
3.	Вмісту золи загальної	%	7,54±0,08	6,35±0,15	6,94±0,06
4.	Вміст золи, нерозчинної у 10,0% розчині кислоти хлористоводневої	%	1,32±0,21	0,97±0,18	1,02±0,15
5.	Вміст подрібнених частинок	%	3,54±0,07	4,21±0,12	4,36±0,04
6.	Показник набухання	%	2,23±0,08	1,68±0,1	1,87±0,12
7.	Питома маса сировини	г/см ³	1,49±0,21	1,13±0,18	1,08±0,19
8.	Коефіцієнт поглинання екстрагента (етанол 70%)	мл/г	2,38±0,05	1,98±0,08	2,07±0,07
9.	Показник насипної маси	г/см ³	0,21±0,12	0,13±0,15	0,17±0,09

Висновки до розділу 2.

1. Розроблено алгоритм дослідження та представлено основні підходи до вибору об'єктів досліджень.
2. Обґрунтовано вибір та охарактеризовано об'єкти дослідження: траву *Caltha palustris* L., траву *Ficaria verna* Huds., траву *Ranunculus acris* L. та екстракти на основі вказаної рослинної сировини.
3. Наведено методологію заготівлі, сушіння та стандартизації досліджуваної рослинної сировини згідно з вимогами аналітично – нормативної документації.
4. Представлено методи визначення фізико-хімічних (вміст золи, важких металів, втрати в масі при висушуванні, вміст подрібнених частинок, сторонні домішки), технологічних (макроскопічний аналіз, показник вологопоглинання та набухання, питома та насипна маси сировини) параметрів досліджуваної ЛРС та проведено статистичну обробку даних.

РОЗДІЛ 3.

РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ТА ВИБІР УМОВ ЕКСТРАКЦІЇ ДЛЯ ОТРИМАННЯ РОСЛИННОГО ЕКСТРАКТУ

3.1. Підбір умов екстракції рослинної сировини *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L.

Під час процесу екстрагування БАР з ЛРС переходять в екстрагент. На швидкість та повноту екстрагування впливає сукупність різних факторів, таких як: ступінь подрібнення сировини, природа екстрагента, співвідношення сировини та екстрагента, час проведення екстракції і температура. Подрібнення сировини підвищує проникність екстрагента в клітинні структури та збільшує поверхню екстрагування. Природа діючих речовин та ступінь гідрофільності сировини впливають на вибір екстрагента. Більшість речовин у сировині досліджуваних рослин є гідрофільними, тому етиловий спирт, вода очищена, хлороформ та інші полярні розчинники будуть ефективними для екстрагування різних груп БАР. З метою ефективного екстрагування діючих речовин із ЛРС необхідно підібрати відповідну кількість екстрагента [121].

Під час визначення відповідних умов отримання суми БАР із досліджуваних зразків полягало у підборі екстрагента, ступеня подрібнення сировини, співвідношення між сировиною та екстрагентом і часом екстракції. Для встановлення оптимальних умов отримання екстрактів визначали кількісний вміст суми фенольних сполук спектрофотометричним методом та вміст екстрактивних речовин згідно з методикою ДФУ [40-44].

Повнота вилучення БАР, коефіцієнт поглинання та набухання сировини, а також швидкість дифузії залежать від ряду технологічних параметрів серед яких важливим є розмір частинок ЛРС. Висушену сировину подрібнювали та просіювали через сита з діаметром отворів 5; 3; 2; 1; 0,5; 0,25 мм.

З кожної фракції подрібненої сировини відбирали наважку масою 2,0 г та переносили в круглодонну колбу на 100 мл. Після цього, доливали воду очищену у співвідношенні 1:50 сировини до екстрагента та проводили нагрівання на

водяному нагрівнику зі зворотнім холодильником протягом 15 хв при температурі кипіння екстрагента. Отриману витяжку охолоджували до кімнатної температури та фільтрували. Об'єм витяжки доводили водою до початкового значення та проводили визначення вмісту суми фенольних сполук та екстрактивних речовин. Результати дослідження впливу розміру частинок ЛРС на повноту екстракції БАР представлені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1 – Залежність повноти екстракції БАР від розміру частинок подрібненої ЛРС *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L.

Розмір частинок, мм	Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, $\bar{x} \pm \Delta x$, n = 6					
	Сума фенольних сполук			Екстрактивні речовини		
	<i>Caltha palustris</i> L.	<i>Ficaria verna</i> Huds.	<i>Ranunculus acris</i> L.	<i>Caltha palustris</i> L.	<i>Ficaria verna</i> Huds.	<i>Ranunculus acris</i> L.
>5	3,98±0,12	4,02±0,16	3,84±0,18	5,05±0,28	4,85±0,38	4,25±1,21
5	4,43±0,08	3,86±0,07	4,65±0,09	5,35±0,34	4,49±0,18	4,85±0,78
3	5,32±0,15	4,35±0,12	5,12±0,14	5,75±0,78	5,01±0,29	5,17±0,69
2	5,82±0,04	5,01±0,09	5,23±0,07	6,15±0,43	5,25±0,78	5,45±0,48
1	5,61±0,11	5,53±0,10	5,93±0,14	5,91±0,23	5,87±1,03	6,19±0,73
0,5	4,86±0,19	5,24±0,14	5,67±0,13	5,51±0,20	5,39±0,48	5,71±0,31
0,25	4,12±0,15	4,45±0,08	4,34±0,19	5,11±0,51	5,18±0,24	4,61±0,43

Дані свідчать, що оптимальним розміром частинок досліджуваної сировини *Caltha palustris* L. є 1-3 мм, *Ficaria verna* Huds. – 0,5-2 мм та для *Ranunculus acris* L. 0,5-3 мм, відповідно вони були використані у подальших дослідженнях

Важливим критерієм при виборі екстрагента є природа БАР у сировині. Як екстрагент досліджували воду очищену та водно-етанольні розчини з вмістом етанолу 20, 40, 70, 90 %.

Співвідношення сировини до екстрагента становило 1:20. Екстракти отримали методом мацерації протягом 7 діб. Отримані екстракти досліджувались за вмістом суми фенольних сполук методом та вмістом

екстрактивних речовин за методом ДФУ. Результати досліджень наведені у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2 – Вплив природи екстрагента на суму фенольних сполук та вміст екстрактивних речовин у екстрактах *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L.

Екстра- гент	Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, $\bar{x} \pm \Delta x$, n = 6					
	Сума фенольних сполук			Екстрактивні речовини		
	<i>Caltha palustris</i> L.	<i>Ficaria verna</i> Huds.	<i>Ranunculus acris</i> L.	<i>Caltha palustris</i> L.	<i>Ficaria verna</i> Huds.	<i>Ranunculus acris</i> L.
Вода очищена	8,35±0,31	7,08±0,11	6,94±0,24	6,81±0,18	6,19±0,46	5,94±0,38
20% водно-етанольний розчин	9,3±0,34	10,8±0,18	7,03±0,21	6,98±0,24	6,51±0,41	6,12±0,31
40% водно-етанольний розчин	15,48±0,25	14,75±0,19	9,32±0,12	8,55±0,35	8,34±0,18	7,08±0,14
70% водно-етанольний розчин	18,03±0,29	17,36±0,21	10,71±0,18	9,35±0,16	9,17±0,23	7,82±0,28
90% водно-етанольний розчин	16,36±0,18	16,35±0,31	8,36±0,24	8,89±0,27	8,71±0,09	6,83±0,21

Згідно з результатами дослідження найбільший БАР з досліджуваної сировини *Caltha palustris* L. та *Ficaria verna* Huds. отримали при використанні 70 і 90 % водно-етанольних розчинів, а з сировини *Ranunculus acris* L. – 40 та 70% водно-етанольних розчинів.

З метою визначення оптимального співвідношення між сировиною та екстрагентом для отримання екстракту досліджували наступні співвідношення: 1:5; 1:10; 1:20. Отримані екстракти досліджувались за вмістом суми фенольних

сполук спектрофотометричним методом та вмістом екстрактивних речовин за методом ДФУ. Результати підбору оптимального співвідношення сировини до екстрагента у екстрактах, наведено у таблицях 3.3-3.5.

Таблиця 3.3 – Вплив співвідношення між сировиною *Caltha palustris* L. та екстрагентом на ефективність вилучення БАР

Концентрація водно-етанольного розчину, %	Співвідношення між сировиною і екстрагентом	Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, $\bar{x} \pm \Delta x$, n = 6	
		Сума фенольних сполук	Екстрактивні речовини
70	1:5	29,34±0,31	10,36±0,13
	1:10	50,51±0,11	12,58±0,26
	1:20	18,03±0,29	9,35±0,16
90	1:5	12,35±0,07	6,54±0,15
	1:10	27,58±0,18	9,96±0,27
	1:20	16,36±0,16	8,89±0,12

В результаті проведених досліджень встановлено, що оптимальним співвідношенням між сировиною і екстрагентами для сировини *Caltha palustris* L. є 1:10, при використанні 70 та 90 % водно-етанольного розчину як екстрагенту.

Таблиця 3.4 – Вибір оптимального співвідношення між сировиною *Ficaria verna* Huds. та екстрагентом

Концентрація водно-етанольного розчину, %	Співвідношення між сировиною і екстрагентом	Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, $\bar{x} \pm \Delta x$, n = 6	
		Сума фенольних сполук	Екстрактивні речовини
70	1:5	11,35±0,27	6,34±0,14
	1:10	20,35±0,12	10,01±0,07
	1:20	17,36±0,21	9,97±0,16
90	1:5	10,37±0,14	5,64±0,17
	1:10	18,65±0,21	9,78±0,13
	1:20	16,35±0,31	8,71±0,15

В результаті проведених досліджень встановлено, що оптимальним співвідношенням між сировиною *Ficaria verna* Huds. і екстрагентами є 1:10, при використанні обох екстрагентів.

Таблиця 3.5 – Вибір оптимального співвідношення між сировиною *Ranunculus acris* L. та екстрагентом

Концентрація водно-етанольного розчину, %	Співвідношення між сировиною і екстрагентом	Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, $x \pm \Delta x$, n = 6	
		Сума фенольних сполук	Екстрактивні речовини
40	1:5	11,98±0,14	6,47±0,19
	1:10	16,12±0,26	10,82±0,14
	1:20	9,32±0,12	7,08±0,11
70	1:5	15,36±0,16	9,87±0,26
	1:10	18,69±0,08	11,32±0,13
	1:20	10,71±0,18	7,82±0,28

Результати проведених досліджень свідчать про те, що оптимальним співвідношенням між сировиною *Ranunculus acris* L. і екстрагентами є 1:10, при використанні 70 % етанолу та 1:5 при використанні 40 % етанолу, як екстрагенту.

З метою визначення оптимального часу екстракції БАР з досліджуваної ЛРС сировину настоювали у підібраних співвідношеннях сировина – екстрагент протягом 12 год, 24 год, 48 год та 72 год у темному місці періодично перемішуючи. Результати вивчення залежності вмісту БАР в отриманих витяжках від часу екстракції наведено в таблицях 3.6-3.8.

Таблиця 3.6 – Вплив часу екстракції на вихід БАР із сировини *Caltha palustris* L.

Концентрація водно-етанольного розчину, %	Час екстракції, год	Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, $x \pm \Delta x$, n = 6	
		Сума фенольних сполук	Екстрактивні речовини
1	2	3	4

1	2	3	4
70	12	12,36±0,21	5,61±0,19
	24	19,95±0,16	7,91±0,05
	48	31,25±0,09	8,32±0,11
	72	50,51±0,11	12,58±0,26
90	12	7,32±0,31	4,51±0,18
	24	11,36±0,12	5,12±0,16
	48	18,54±0,15	7,26±0,13
	72	27,58±0,18	9,96±0,27

За результатами проведеного дослідження встановлено, що оптимальний час для виділення суми БАР з сировини *Caltha palustris* L. з використанням екстрагентів 70 та 90 % водно-етанольних розчинів становить 72 год.

Таблиця 3.7 – Вплив часу екстракції на вихід БАР із сировини *Ficaria verna* Huds.

Концентрація водно- етанольного розчину, %	Час екстракції, год	Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, $\bar{x} \pm \Delta x$, n = 6	
		Сума фенольних сполук	Екстрактивні речовини
70	12	4,02±0,17	1,94±0,14
	24	10,36±0,05	4,98±0,16
	48	20,35±0,12	10,01±0,07
	72	20,48±0,16	10,11±0,09
90	12	4,82±0,25	2,51±0,31
	24	9,81±0,11	4,72±0,19
	48	18,65±0,21	9,78±0,13
	72	18,98±0,19	7,81±0,10

Період виділення максимальної суми БАР із сировини *Ficaria verna* Huds. під час одноразової екстракції становить 48 год, оскільки після 48 год

настоювання не відбувається суттєвого збільшення виходу БАР при екстрагуванні 70 та 90 % водно-етанольними розчинами.

Таблиця 3.8 – Вплив часу екстракції на вихід БАР із сировини *Ranunculus acris* L.

Концентрація водно- етанольного розчину, %	Час екстракції, год	Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, $\bar{x} \pm \Delta x$, n = 6	
		Сума фенольних сполук	Екстрактивні речовини
40	12	5,35±0,27	3,03±0,11
	24	10,97±0,21	6,25±0,15
	48	15,47±0,17	8,32±0,29
	72	16,12±0,26	10,82±0,14
70	12	8,02±0,24	4,25±0,17
	24	12,35±0,15	7,21±0,12
	48	15,36±0,07	9,21±0,16
	72	18,69±0,08	11,32±0,13

Оптимальним часом екстракції сировини *Ranunculus acris* L. 40 та 70 % водно-етанольним розчином для максимального виділення суми БАР є 72 год.

Отже, за результатами проведеного дослідження екстракції рослинної сировини, встановлено, що оптимальний період для повного виділення БАР із сировини становить 72 год для *Caltha palustris* L. та *Ranunculus acris* L. та 48 год для сировини *Ficaria verna* Huds.

Загальні результати проведених досліджень із встановлення оптимальних умов для отримання екстрактів з досліджуваної рослинної сировини представлено в таблиці 3.9.

Таблиця 3.9 – Оптимальні умови екстракції БАР з досліджуваної сировини *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L.

Сировина	Розмір частинок, мм	Концентрація водно-етанольного розчину, %	Співвідношення між сировиною і екстрагентом	Час екстракції, год
Трава <i>Caltha palustris</i> L.	1-3	70	1:10	72
Трава <i>Ficaria verna</i> Huds.	0,5-2	70	1:10	48
Трава <i>Ranunculus acris</i> L.	0,5-3	70	1:10	72

Результати отримані з досліджень, свідчать про те що, максимальний вихід БАР з досліджуваної рослинної сировини досягається при використанні екстрагента 70 % водно-етанольного розчину та співвідношенні сировина-екстрагент 1:10 для *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L.

Оптимальні умови екстракції БАР з трави *Caltha palustris* L. з розміром частинок 1-3 мм та трави *Ranunculus acris* L. з розміром частинок 0,5-3 мм проводилась 72 год, а з трави *Ficaria verna* Huds. з розміром частинок 0,5-2 мм - 48 год.

Спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин у формі екстракту *Caltha palustris* захищено патентом України на корисну модель № 149454 [122].

3.2. Отримання та стандартизація екстрактів *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L.

Екстракти з досліджуваної сировини рослин родини *Ranunculace* отримували методом мацерації, як екстрагент використовували 70 % водно-етанольний розчин, співвідношення сировина-екстрагент становила 1:10.

Вихідною сировиною досліджуваних рослин була трава, екстракцію якої проводили при 18-20°C протягом 72 год для трави *Caltha palustris* L. та трави *Ranunculus acris* L., а для трави *Ficaria verna* Huds. час екстрагування 48 год.

Екстракти отримували наступним способом:

100 г попередньо подрібненої рослинної сировини з розміром : 0,5-1 мм для трави *Caltha palustris* L., 0,5-2 мм для трави *Ficaria verna* Huds. та 1,5-3 мм для трави *Ranunculus acris* L. заливали 1 л 70 % водно-етанольного розчину, перемішували та залишали у темному місці на 48 год (для *Ficaria verna* Huds.) та 72 год (для *Caltha palustris* L. та *Ranunculus acris* L.).

Стандартизацію екстрактів, отриманих з рослинної сировини *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L. проводили відповідно до вимог ДФУ, з визначенням ряду числових показників [40-44].

Згідно з літературними даними, досліджувані рослини містять фенольні сполуки (кверцетин). Результати проведених нами фітохімічних досліджень одержаних екстрактів (розділ 4) підтверджують наявність кверцетину у екстрактах трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L., тому нами прийнято рішення підтвердити наявність БАР досліджуваних рослин у екстрактах шляхом ідентифікації кверцетину.

Стандартизацію для отриманих екстрактів проводили за основними показниками, що використовуються для стандартизації трави (табл. 3.10 -3.12).

Таблиця 3.10 – Специфікація до проєкту МКЯ «Екстракт трави *Caltha palustris* L.»

Показник	Допустимі межі	Метод контролю
Опис	Рідина буро-зеленого кольору зі специфічним запахом та гірким смаком	Візуально, органолептично
Ідентифікація	А. На хроматограмі випробовуваного розчину зона кверцетину має відповідати відповідній зоні на хроматограмі розчину порівняння.	За ДФУ 2.0, 2.2.27 Метод ТШХ

	В. На хроматограмі випробовуваного розчину отриманого при випробуванні кверцетину має відповідати відповідній зоні на хроматограмі розчину порівняння.	За ДФУ 2.0, 2.2.29 Метод ВЕРХ
Випробування		
Етанол	Від 70 до 75 % (об/об).	За ДФУ 2.0, 2.9.10
Сухий залишок	Не менше 20,0 %	За ДФУ 2.0, 2.8.16
Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на кверцетин	Не менше 0,5 %.	За ДФУ 2.0, 2.2.25

Таблиця 3.11 – Специфікація до проєкту МКЯ «Екстракт трави *Ficaria verna* Huds.»

Показник	Допустимі межі	Метод контролю
Опис	Рідина буро-зеленого кольору зі трав'яним запахом та гірким смаком	Візуально, органолептично
Ідентифікація	А. На хроматограмі випробовуваного розчину зона кверцетину має відповідати відповідній зоні на хроматограмі розчину порівняння.	За ДФУ 2.0, 2.2.27 Метод ТШХ

	В. На хроматограмі випробовуваного розчину отриманого при випробуванні зона кверцетину має відповідати відповідній зоні на хроматограмі розчину порівняння.	За ДФУ 2.0, 2.2.29 Метод ВЕРХ
Випробування		
Етанол	Від 70 до 75 % (об/об).	За ДФУ 2.0, 2.9.10
Сухий залишок	Не менше 20,0 %	За ДФУ 2.0, 2.8.16
Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на кверцетин.	Не менше 0,5 %.	За ДФУ 2.0, 2.2.25

Таблиця 3.12 – Специфікація до проєкту МКЯ «Екстракт трави *Ranunculus acris* L.»

Показник	Допустимі межі	Метод контролю
Опис	Рідина зеленого кольору зі специфічним запахом та гірким смаком	Візуально, органолептично
Ідентифікація	А. На хроматограмі випробовуваного розчину зона кверцетинц має відповідати відповідній зоні на хроматограмі розчину порівняння.	За ДФУ 2.0, 2.2.27 Метод ТШХ

	В. На хроматограмі випробовуваного розчину отриманого при випробуванні зона кверцетину має відповідати відповідній зоні на хроматограмі розчину порівняння.	За ДФУ 2.0, 2.2.29 Метод ВЕРХ
Випробування		
Етанол	Від 70 до 75 % (об/об).	За ДФУ 2.0, 2.9.10
Сухий залишок	Не менше 20,0 %	За ДФУ 2.0, 2.8.16
Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на кверцетин.	Не менше 0,5 %.	За ДФУ 2.0, 2.2.25

Висновки до розділу 3.

1. Встановлено оптимальні умови отримання екстрактів *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L. методом мацерації із максимальним вмістом БАР: екстрагент – 70 % водно-етанольний розчин, співвідношення сировина-екстрагент 1:10. Екстракцію проводили при температурі 18-20°C протягом 72 год для трави *Caltha palustris* L. (розмір частинок 0,5-1 мм) та трави *Ranunculus acris* L. (розмір частинок 1,5-3 мм) та 48 год для трави *Ficaria verna* Huds. (розмір частинок 0,5-2 мм)

2. Розроблено проекти МКЯ на отримані екстракти трави *Caltha palustris* L., трави *Ranunculus acris* L. та трави *Ficaria verna* Huds.

Результати досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Карпюк В. Р., Конечна Р. Т., Курка М. С., Миляннич А. О., Хоменко О. І. Порівняльний аналіз кількісного вмісту флавоноїдів у траві *Caltha palustris*, заготовленої в 2018-2020 роках // Scientific progress of medicine and pharmacy of the EU countries : proceedings of the International scientific and practical

conference, Czestochowa, Republic of Poland, April 23–24, 2021. – 2021. – С. 162–165

2. Аспекти дослідження *Caltha palustris*. Лях В.Р., Конечна Р.Т, Новіков В.П. Proceeding of International scientific and practical conference (25-26 вересня 2020р., Люблін) – 2020 – с.100-104

РОЗДІЛ 4.

ЯКІСНИЙ ФІТОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ ТА КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У *CALTHA PALUSTRIS* L., *FICARIA VERNA* HUDS. ТА *RANUNCULUS ACRIS* L.

Одним із основних етапів створення ефективних та безпечних лікарських засобів на основі ЛРС є вивчення та дослідження складу БАР первинного (вуглеводи, ліпіди, білки, вітаміни, ферменти) та вторинного (фенольних сполук, флавоноїдів, дубильних речовин, кумаринів, хромонів, лігнанів, кардіостероїдів, сапонінів) синтезу.

Фармакологічний ефект лікарських засобів на основі ЛРС зумовлюють комплекси БАР переважно вторинного синтезу [42,43]. Виходячи з цього, доцільно було провести дослідження якісного складу та кількісного вмісту основних груп БАР у досліджуваній сировині *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L. та екстрактах на їх основі.

4.1. Виявлення і дослідження фенольних сполук

4.1.1. Якісний аналіз вмісту фенольних сполук

Якісні реакції

Оцінку якісного складу досліджуваних екстрактів на вміст фенольних сполук проводили за допомогою якісних реакцій [123].

Реакція з розчином ферум(III)хлориду. Для початку, приготували витяжки з досліджуваної сировини. Наважку 0,5 г подрібненої рослинної сировини поміщали в колбу об'ємом 50 мл та додавали 10 мл води. Вміст кип'ятили 3-4 хв, охолоджували та фільтрували. До отриманого фільтрату додавали 2-3 краплі 1 %-го розчину феруму(III)хлориду та спостерігали появу червоного забарвлення.

Реакція з сумішшю ферум(III)хлориду та калію фериціаніду. До водної витяжки з рослинної сировини додавали 4-5 крапель свіжоприготованої суміші рівних об'ємів розчинів 1%-го феруму(III)хлориду та 1 % калію фериціаніду. Спостерігали за появою синьо-зеленого забарвлення.

Реакція з розчином бромтимолового синього. У колбу об'ємом 100 мл зі шліфом помістили 2 г подрібненої рослинної сировини та залили 20 мл 70 % етанолу. Колбу під'єднали до зворотного холодильника і нагрівали 30 хв на киплячому водяному нагрівнику. Отриману витяжку відфільтрували. Екстрагування сировини проводили ще два рази. Отримані витяжки об'єднували та упарювали. Залишок тричі екстрагували хлороформом у ділительній лійці, потім ще етилацетатом. Отриманий етилацетатний екстракт упарювали у вакуумі досуха, а отриманий залишок розчинили у 3 мл 95 % етанолу. До 1 мл отриманого спиртового розчину додали 2-3 краплі 0,05% розчину бромтимолового синього. Спостерігали за появою жовтого забарвлення розчину.

Реакція з ваніліном у концентрованій хлоридній кислоті. У колбу з притертим корком помістили 1,0 г подрібненої рослинної сировини додали 10 мл етанолу і залишали на добу, періодично помішуючи. Витяжку фільтрували через паперовий фільтр. До 1 мл спиртової витяжки додавали 3–4 краплини 1% розчину ваніліну в концентрованій хлоридній кислоті. Спостерігали появу червоного забарвлення.

Реакція з сумішшю ферум(III)хлориду, калію фериціаніду та концентрованою нітратною кислотою. До 1 мл етанольної витяжки додавали 4–5 крапель свіжо приготованої суміші однакових об'ємів розчинів 1 % ферум(III)хлориду і 1 % калію фериціаніду та 10 крапель концентрованої нітратної кислоти. Спостерігали появу темно-бурого кольору розчину. Результати проведених досліджень екстрактів представлено в таблиці 4.1.

Таблиця 4.1 – Якісний аналіз досліджуваних екстрактів на вміст простих фенолів

Реакція	Очікуваний результат	Досліджуваний об'єкт		
		<i>Caltha palustris</i> L.	<i>Ficaria verna</i> Huds.	<i>Ranunculus acris</i> L.
Реакція з розчином ферум (III) хлориду.	червоне забарвлення	+	+	+

Реакція з сумішшю ферум(III)хлориду та калію фериціаніду.	Синьо-зелений колір	+	+	+
Реакція з розчином бромтимолового синього	жовте забарвлення	+	+	+
Реакція з вініліном у концентрованій хлоридній кислоті.	червоне забарвлення	+	+	+
Реакція з сумішшю ферум(III)хлориду, калію фериціаніду та концентрованою нітратною кислотою	темно-буре забарвлення	+	+	+

Результати проведеного якісного аналізу досліджуваних екстрактів доводять наявність фенольних сполук у рослинній сировині *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L.

Хроматографічне виявлення фенольних сполук

Літературні дані та результати проведеного якісного дослідження вмісту основних БАР у *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L. свідчать про те, що сполуки фенольної природи наявні у рослинній сировині, проте недостатньо вивчені, тому доцільно провести детальний аналіз вмісту фенольних сполук у досліджуваних об'єктах [124].

Очищений досліджуваний екстракт наносили на три пластинки “Silicagel 60”, в системі розчинників метанол–вода–етилетаноат (6:20:100). Хроматограми

аналізували до та після обробки церійфосформолібденовим реактивом (суміш 12 г $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 20 г $\text{H}_3[\text{P}(\text{Mo}_3\text{O}_{10})_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$ та 1 л 10% розчину H_2SO_4) при денному та УФ-світлі. Хроматографічні аналізи проводили на аналітичній системі САМАГ (Муттенц, Швейцарія). Результати тонкошарової хроматографії (ТШХ) представлено в таблиці 4.2 та рисунку 4.1.

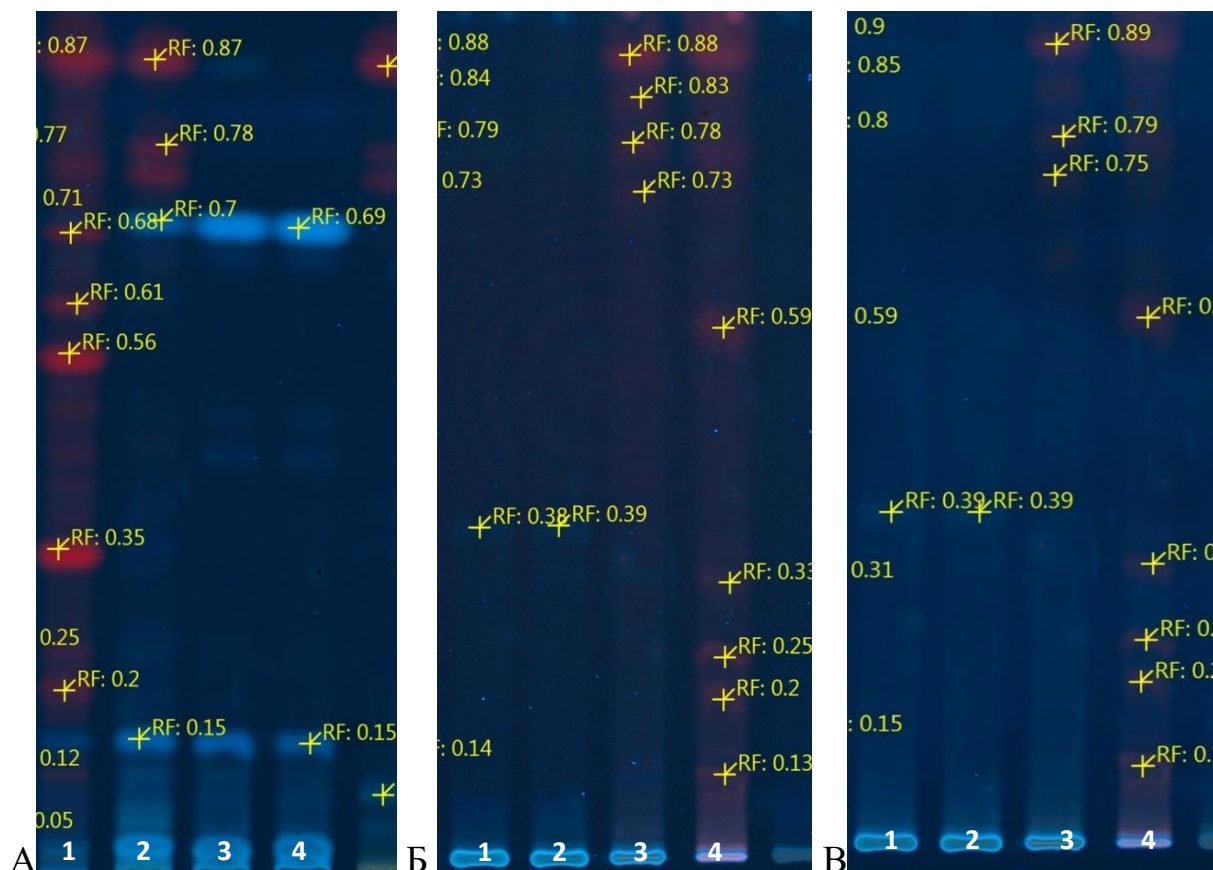


Рисунок 4.1 – Результати ТШХ екстрактів: А- екстракт *Caltha palustris* L.(1- 20% водно-етанольний розчин; 2- 40 % водно-етанольний розчин; 3- 70 % водно-етанольний розчин; 4- 90 % водно-етанольний розчин.); Б – екстракт *Ficaria verna* Huds. 1- 20 % водно-етанольний розчин; 2- 40% водно-етанольний розчин; 3- 70 % водно-етанольний розчин; 4- 90 % водно-етанольний розчин.); В – екстракт *Ranunculus acris* L. (1- 20% водно-етанольний розчин; 2- 40 % водно-етанольний розчин; 3- 70% водно-етанольний розчин; 4- 90% водно-етанольний розчин.)

При проведенні ТШХ у досліджуваних екстрактах було ідентифіковано ряд сполук. Хлорогенова кислота була ідентифікована у 40 % спиртовому екстракті *Caltha palustris* L. (R_f 0,87) та у 70% спиртових екстрактах *Ficaria verna* Huds (R_f

0,88) та *Ranunculus acris* L. (R_f 0,89). Лютеолін було ідентифіковано у 20% екстракті *Caltha palustris* L. (R_f 0,61) та 90% екстрактах *Ficaria verna* Huds. (R_f 0,59) та *Ranunculus acris* L. (R_f 0,61).

У 20% екстракті *Caltha palustris* L. (R_f 0,35), 20% та 40% екстрактах *Ficaria verna* Huds. (R_f 0,38, R_f 0,39,) та *Ranunculus acris* L. (R_f 0,39) було ідентифіковано кавову кислоту. Кверцетин було ідентифіковано у всіх екстрактах *Caltha palustris* L. (R_f 0,7) та у 70% екстрактах *Ficaria verna* Huds. (R_f 0,73) та *Ranunculus acris* L. (R_f 0,75). У 40% екстракті *Caltha palustris* L. (R_f 0,78) та у 70% екстрактах *Ficaria verna* Huds. (R_f 0,78) та *Ranunculus acris* L. (R_f 0,79) було ідентифіковано хризин. У 40%, 70% та 90% екстрактах *Caltha palustris* L. (R_f 0,15) було ідентифіковано ферулову кислоту.

Таблиця 4.2. – Результати ТШХ досліджуваних екстрактів

Досліджуваний екстракт	Концентрація водно-етанольного розчину, %	Ідентифікована сполука					
		Хлорогенова кислота	Лютеолін	Кавова кислота	Кверцетин	Хризин	Ферулова кислота
<i>Caltha palustris</i> L.	20	н/і	R_f 0,61	R_f 0,35	R_f 0,7	н/і	н/і
	40	R_f 0,87	н/і	н/і	R_f 0,7	R_f 0,78	R_f 0,15
	70	н/і	н/і	н/і	R_f 0,7	н/і	R_f 0,15
	90	н/і	н/і	н/і	R_f 0,7	н/і	R_f 0,15
<i>Ficaria verna</i> Huds.	20	н/і	н/і	R_f 0,38	н/і	н/і	н/і
	40	н/і	н/і	R_f 0,39	н/і	н/і	н/і
	70	R_f 0,88	н/і	н/і	R_f 0,73	R_f 0,78	н/і
	90	н/і	R_f 0,59	н/і	н/і	н/і	н/і
<i>Ranunculus acris</i> L.	20	н/і	н/і	R_f 0,39	н/і	н/і	н/і
	40	н/і	н/і	R_f 0,39	н/і	н/і	н/і
	70	R_f 0,89	н/і	н/і	R_f 0,75	R_f 0,78	н/і
	90	н/і	R_f 0,61	н/і	н/і	н/і	н/і

*н/і – не ідентифіковано

Методом ТШХ у екстрактах трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L. було ідентифіковано 6 сполук фенольного

характеру, а саме: хлорагенова кислота, кавова кислота, лютеолін, хризин та кверцетин. У екстрактах *Caltha palustris* L. також виявили ферулову кислоту.

4.1.2. Кількісний аналіз вмісту фенольних сполук

Визначення суми фенольних сполук проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на галову кислоту. На першому етапі, готували стандартний розчин галової кислоти. До 0,05 г галової кислоти додавали 1 мл етанолу 96 % та розчиняли дистильованою водою в мірній колбі об'ємом 10 мл до мітки. Наступний етап, полягає у розведенні стандартного розчину галової кислоти від 1 мг/мл до 0,05 мг/мл. Для отримання розчину стандартів до 0,01 мл кожного розведення стандартного розчину галової кислоти додавали по 0,1 мл реактиву Фоліна-Чокальтеу та 1,5 мл H_2O і отриману суміш перемішували 3 хв та додаємо 0,3 мл 20 % розчину Na_2CO_3 та залишали в темному місці на 150 хв. Аналогічно були приготовані розчини досліджуваних екстрактів. Вміст фенолів у екстрактах виражали у міліграм еквівалента галової кислоти на грам екстракту (мг/г). Оптичну густину вимірювали при довжині хвилі 760 нм на спектрофотометрі Specord M 40. Дослідження проводили тричі для достовірності даних. Результати представлено у таблиці 4.3 [124-127].

Згідно з отриманими результатами будували стандартну криву (рис 4.2). Крива співвідношення концентрації галової кислоти до оптичної густини 95 будується шляхом вимірювання оптичної густини розчинів галової кислоти при різних відомих концентраціях. За отриманими даними будується графік, на якому по горизонтальній осі відкладена концентрація галової кислоти, а по вертикальній осі – значення оптичної густини. Розрахунки проводили за наступним рівнянням, виходячи з стандартної кривої: $y=0,00157 x + 0,194$.

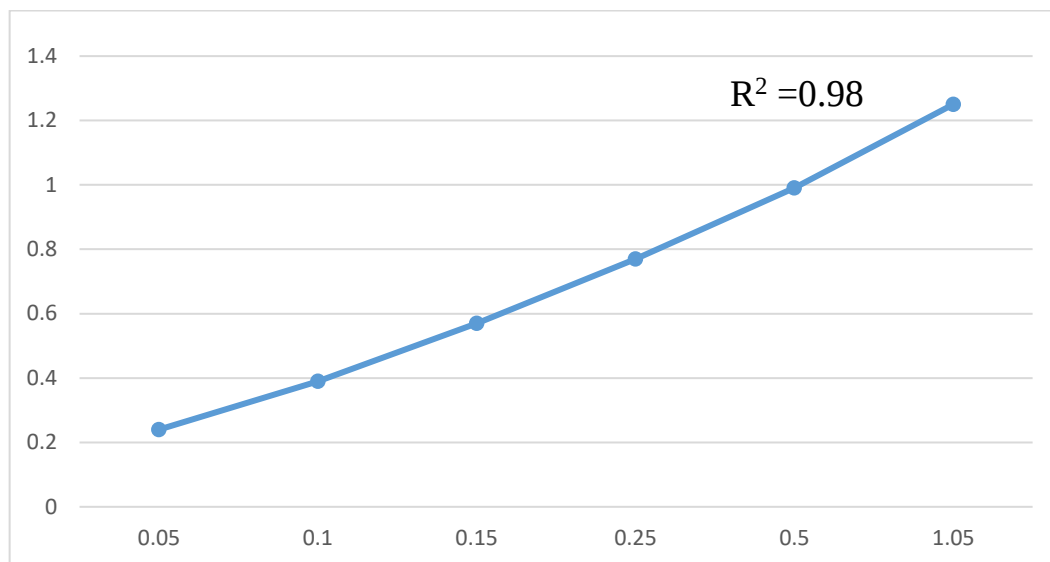


Рисунок 4.2 – Крива залежності оптичної густини від концентрації галової кислоти

Таблиця 4.3 – Сума фенольних сполук в перерахунку на галову кислоту у досліджуваних об'єктах

Досліджувані екстракти		Середнє значення оптичної густини	Вміст суми фенольних сполук, мг/г $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}, n=3$
<i>Caltha palustris</i> L.	20%	0,8	19,3±0,01
	40%	0,68	15,48±0,04
	70%	1,78	50,51±0,11
	90%	1,06	27,58±0,08
<i>Ficaria verna</i> Huds.	20%	0,69	15,5±0,06
	40%	0,72	16,75±0,03
	70%	0,84	20,35±0,12
	90%	0,78	18,65±0,10
<i>Ranunculus acris</i> L.	20%	0,48	14,35±0,09
	40%	0,62	16,81±0,18
	70%	0,78	18,69±0,08
	90%	0,59	16,15±0,05

Проведені дослідження свідчать про найвищий вміст фенольних сполук у досліджуваних екстрактах (70 та 90 %) трави *Caltha palustris* L. ($50,51 \pm 0,11$ мг/г та $27,58 \pm 0,08$ мг/г відповідно) та трави *Ficaria verna* Huds. ($20,35 \pm 0,12$ мг/г та $18,65 \pm 0,10$ мг/г відповідно), екстрактах (40 та 70 %) трави *Ranunculus acris* L. ($16,81 \pm 0,18$ мг/г та $18,69 \pm 0,08$ мг/г відповідно)

Високий вміст фенольних сполук у рослинах свідчить про їх потенційну біологічну активність та фітотерапевтичні властивості. Фенольні сполуки є природними хімічними сполуками, які включають флавоноїди, таніни, фенольні кислоти та інші. Вони відіграють важливу роль у рослинах, захищаючи їх від стресових умов, шкідників та хвороб. Крім того, фенольні сполуки відомі своїми антиоксидантними властивостями, які допомагають знижувати рівень вільних радикалів у організмі та запобігати окиснювальному стресу. Високий вміст фенольних сполук також може вказувати на наявність протизапальних, протигрибкових та противірусних властивостей досліджуваних рослин [128].

4.2. Виявлення і кількісне визначення флавоноїдів

4.2.1. Якісний аналіз досліджуваних екстрактів на вміст флавоноїдів

Флавоноїди є похідними фенольних сполук. На сьогодні відомо більше ніж 8000 флавоноїдів [129-131].

Якісні реакції

Встановити наявність флавоноїдів у водно-етанольних екстрактах можна за допомогою якісних реакцій.

Ціанідина реакція. До 1 мл очищеного екстракту додавали 2-3 краплі концентрованої хлоридної кислоти і близько 0,1 г порошку металічного магнію і нагрівали на водяному нагрівнику 2 – 3 хвилин. Спостерігали зміну забарвлення від жовтого до яскраво-червоного, залежно від будови сполуки.

Реакція з ферум(III)хлоридом. До 1 мл очищеного екстракту додавали 1 - 2 краплі 10% розчину ферум(III)хлориду (на фенольні гідроксили). Спостерігали появу коричневого забарвлення розчину.

Реакція з лугом. До 1 мл очищеного екстракту додавали 1–2 краплі 10% водно-етанольного розчину натрію або калію гідроксиду. Спостерігали за появою жовтого забарвлення.

Реакція із плюмбумом ацетатом. До 1 мл екстракту додавали по 3-5 крапель 10% розчину плюмбум(II)ацетату. Спостерігали за утворенням осаду.

Результати позитивних реакцій підтверджують присутність у досліджуваних екстрактах речовин, що належать до класу флавоноїдів. В таблиці 4.4 представлено результати проведення якісного аналізу.

Таблиця 4.4 – Якісний аналіз досліджуваних екстрактів на вміст флавоноїдів

Реакція	Очікуваний результат	Досліджуваний об'єкт		
		<i>Caltha palustris</i> L.	<i>Ficaria verna</i> Huds.	<i>Ranunculus acris</i> L.
Ціанідинова реакція.	зміна забарвлення(від жовтого до яскраво-червоного)	+	+	+
		жовте	жовте	Жовте
Реакція з 10% розчином ферум (III) хлориду	Коричнєве забарвлення	+	+	+
Реакція з лугом.	Жовте забарвлення	+	+	+
Реакція із плюмбумом ацетатом.	Утворення осаду	+	+	+

4.2.2 Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів.

Кількісний вміст флавоноїдів в досліджуваних екстрактах визначали за допомогою модифікованого спектрофотометричного методу із застосуванням реакції комплексоутворення флавоноїдів з алюміній хлоридом в перерахунку на кверцетин [129, 130]

Спочатку готували стандартний розчин кверцетину. До 0,01 г кверцетину додаємо 96 % етанол в мірній колбі об'ємом 10 мл до мітки. Далі готуємо розведення кверцетину від 1 мг/мл до 0,1 мг/мл. Для отримання розчину стандартів до 0,02 мл кожного розведення стандартного розчину кверцетину додаємо 0,8 мл етанолу та 0,06 мл 5 % розчину нітриту натрію. Вміст пробірки перемішували та витримували 5 хв при кімнатній температурі та додавали 0,06 мл 10% розчину алюміній хлориду і знову витримували 5 хв до завершення реакції. Потім, додавали 0,4 мл 0,1 М розчину гідроксиду натрію та 0,480 мл етанолу. Отриманий розчин витримували 5 хв у темному місці.

Заміри проводили при довжині хвилі 510 нм на спектрофотометрі Specord M 40. Вміст флавоноїдів виражали у міліграм еквіваленті кверцетину на грам (мг/г) екстракту. Обчислення проводили, використовуючи стандартну криву для свіжоприготовлених розчинів кверцетину. Дослідження проводили тричі. Результати представлено у таблиці 4.5.

Крива співвідношення концентрації кверцетину до оптичної густини показує залежність між концентрацією кверцетину (незалежна змінна, вісь y) і оптичною густиною, яка вимірюється спектрофотометром (залежна змінна, вісь x). Ця крива використовується для визначення концентрації кверцетину у зразку на основі його оптичної густини. Розрахунки проводили за наступним рівнянням, виходячи зі стандартної кривої: $y = 0,022x + 0,006$.

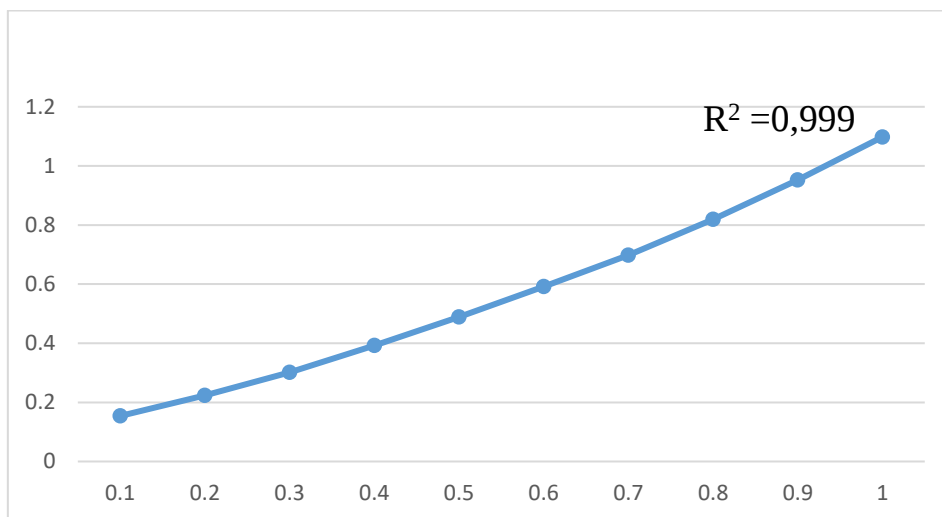


Рисунок 4.3 – Крива залежності оптичної густини від концентрації кверцетину

Таблиця 4.5 – Сума флавоноїдів в перерахунку на кверцетин у досліджуваних об'єктах

Досліджувані екстракти		Середнє значення оптичної густини	Вміст флавоноїдів, мг/г $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}, n=3$
<i>Caltha palustris</i> L.	20%	0,52	11,7±0,09
	40%	0,56	12,6±0,16
	70%	0,77	19,85±0,09
	90%	0,39	8,5±0,04
<i>Ficaria verna</i> Huds.	20%	0,36	7,41±0,08
	40%	0,48	9,16±0,03
	70%	0,73	18,37±0,14
	90%	0,58	12,97±0,13
<i>Ranunculus acris</i> L.	20%	0,31	6,23±0,21
	40%	0,53	10,21±0,17
	70%	0,65	14,85±0,11
	90%	0,51	9,68±0,07

Флавоноїди містять у молекулі реакційно здатні фенольні радикали та карбонільне угруповання. Завдяки цьому вони беруть участь у

різноманітних метаболічних процесах, що обумовлює їхню біологічну активність.

Результати дослідження підтверджують наявність флавоноїдів у досліджуваних рослинній сировині. Найвищий вміст флавоноїдів спостерігався у екстрактах на основі 70 % водно-етанольного розчину для усіх досліджуваних об'єктів. Для екстрактів: трави *Caltha palustris* L. вміст флавоноїдів становив $19,85 \pm 0,09$ мг/г, трави *Ficaria verna* Huds. – $18,37 \pm 0,14$ мг/г та для трави *Ranunculus acris* L. – $14,85 \pm 0,11$ мг/г.

4.3 Ідентифікація фенольних сполук за допомогою вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ)

Усі хімічні речовини, використані для аналізів, мали аналітичну чистоту. Метанол, гептагідрат двоосновного фосфату натрію ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$), 85 % фосфорна кислота були придбані у POCH S.A. (Глівіце, Польща). Еталони: хризин, кверцетин, (+)-нарінгенін; фенолкарбонові кислоти: 4-гідроксибензойна кислота; кавова кислота; елагілова кислота; ферулова кислота; галова кислота; *n*-кумарова кислота; розмаринова кислота, використовувались як стандарти та були придбані у Sigma-Aldrich (Познань, Польща).

Базові розчини кожного стандарту готували з метанолом якості ВЕРХ у концентрації 0,01 ммоль/л і зберігали при 4°C, захищаючи від світла. Amberlite XAD-2, який використовується як адсорбційна смола на етапі екстракції, був отриманий від Supelco (Bellefonte, PA, США).

Вміст фенольних сполук у зразках визначали за допомогою системи ВЕРХ Ultimate 3000 Dionex. з КПК-детектором (Germering, Німеччина) і Gemini 5 мкм, C18, колонка з оберненою фазою (250 мм x 4,6 мм, розмір частинок: 5 мкм).

Рухома фаза складалася з метанолу (розчинник А) і 0,01 М водного фосфатного буфера з рН=2,5 (розчинник В). Швидкість потоку становила 1,0 мл/хв, а аналізи проводили при 30°C. Градієнт розчинника (А:В співвідношення) було запрограмовано таким чином: 10:90 %, $t = 0$ хв; 40:60%, $t = 13,5$ хв; 90:10 %, $t = 39$ хв; 100:0 %, $t = 42$ хв; 10:90 %, $t = 55$ хв.

Піки, що відповідають фенольним сполукам, присутнім в екстрактах досліджуваних рослин, були визначені шляхом порівняння часів утримування та УФ-спектрів зі стандартними сполуками [124].

Фенольні сполуки кількісно визначали побудовою калібрувальних кривих. Лінійні калібрувальні графіки були отримані в діапазоні калібрування 0,05-200 мкг/мл. Хроматограми записували при 214 і 280 нм.

ВЕРХ-хроматограма зразків екстракту (70%) трави *Caltha palustris* L., екстракту (70%) трави *Ficaria verna* Huds. та екстракту (70%) трави *Ranunculus acris* L. представлена на рисунках 4.4-4.6.

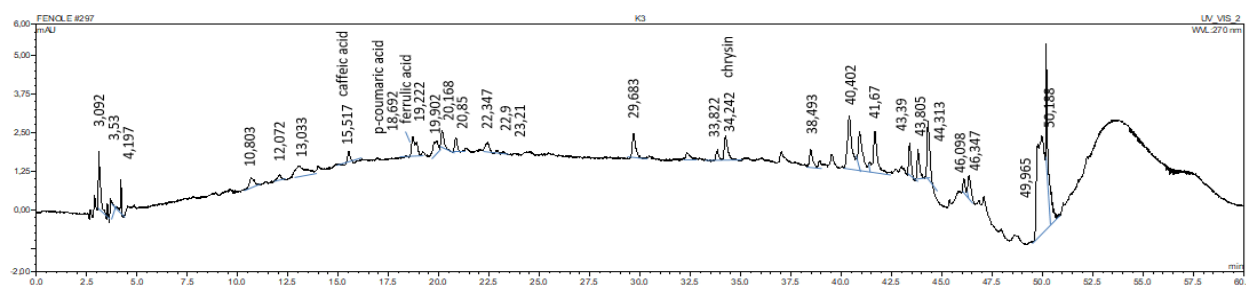


Рисунок 4.4 – Хроматограма (ВЕРХ) екстракту *Ficaria verna* Huds.

В результаті проведеного дослідження екстракту *Ficaria verna* Huds. методом ВЕРХ було ідентифіковано та встановлено кількісний вміст фенольних сполук, а саме: хлорогенову кислоту – 0,94 %, лютеолін – 0,38 %, кавову кислоту – 2,49 %, *n*-кумарову кислоту – 1,35 %, ферулову кислоту - 0,44 %, елагілову кислоту – 0,32 %, кверцетин – 0,5 % та хризин - 0,4 %.

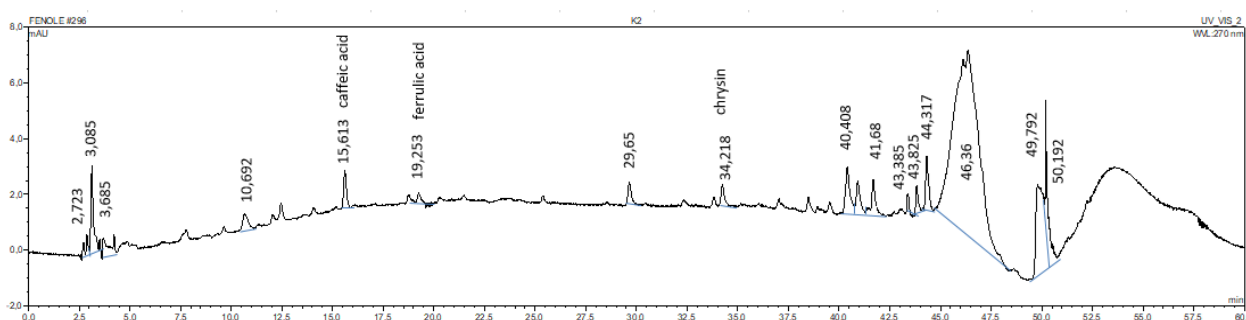


Рисунок 4.5 – Хроматограма (ВЕРХ) екстракту *Caltha palustris* L.

Аналізуючи отримані дані хроматограми, у екстракті *Caltha palustris* L. було ідентифіковано та встановлено кількісний вміст наступних фенольних сполук: вміст хлорогенової кислоти становить 0,82 %, лютеоліну – 0,31 %, кавової кислоти – 2,49 %, *n*-кумарової кислоти – 1,35 %, ферулової кислоти – 0,44 %, елагікової кислоти – 0,32 %, кверцетину – 0,5 % та хризину – 0,4 %.

кавової кислоти – 2,05 %, ферулової кислоти - 0,79 %, кверцетину – 0,53 % та хризину - 0,83 %.

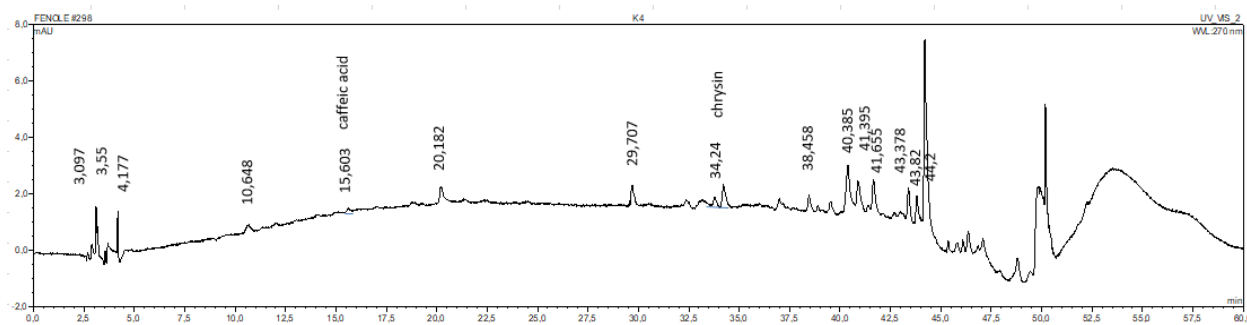


Рисунок 4.6 – Хроматограма (ВЕРХ) екстракту *Ranunculus acris* L.

За даними проведеного дослідження екстракту *Ranunculus acris* L. методом ВЕРХ було ідентифіковано та встановлено кількісний вміст 4 фенольних сполук. Вміст лютеоліну становив 0,29 %, хлорогенової кислоти – 0,69 %, кавової кислоти – 0,55 %, кверцетину – 0,5 % та хризину - 0,4 %.

Загалом у досліджуваних екстрактах було хроматографічно виявлено 8 сполук фенольного характеру. Результати дослідження наведені у таблиці 4.6.

Таблиця 4.6 – Часи утримування сполук фенольної структури ідентифіковані методом ВЕРХ

№ з/п	Стандарти		Кількісний вміст, %		
	Назва сполуки	Час утрим., Хв	<i>Caltha palustris</i> L.	<i>Ficaria verna</i> Huds.	<i>Ranunculus acris</i> L.
1.	Хлорогенова кислота	3,09	0,82	0,94	0,69
2.	Лютеолін	10,6	0,31	0,39	0,29
3.	Кавова кислота	15,55	2,05	2,49	0,55
4.	<i>n</i> -кумарова кислота	18,7	-	1,35	-

5.	Ферулова кислота	19,2	0,79	0,44	-
6.	Елагілова кислота	20,85	-	0,32	-
7.	Кверцетин	29,7	0,53	0,5	0,5
8.	Хризин	34,05	0,83	0,4	0,4

Завдяки проведеному дослідженню було ідентифіковано та встановлено кількісний вміст 8 сполук фенольного характеру у екстракті трави *Ficaria verna* Huds. Найвищий вміст становила кавова кислота (2,49 %), *n*-кумарова (1,35 %) та хлорагенова кислота (0,94 %). Це свідчить про наявність цих сполук у сировині в значній кількості.

У екстракті трави *Caltha palustris* L. було встановлено кількісний вміст 6 сполук, серед яких найбільший вміст становили кавова кислота (2,05 %) та хлорагенова (0,82 %). При дослідженні екстракту трави *Ranunculus acris* L. було визначено кількісний вміст 5 сполук. Зокрема, кавова кислота (0,55 %), хлорагенова кислота (0,69 %) та кверцетин (0,5 %) були виявлені у найбільшій кількості.

Вміст кавової та хлорагенової кислот у сировині *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L. свідчить про потенційну здатність рослин проявляти антиоксидантну, протизапальну та антибактеріальну дії.

4.4. Виявлення і кількісне визначення дубильних речовин

4.4.1. Аналіз досліджуваних екстрактів на якісний вміст дубильних речовин

Наявність дубильних речовин у зразках досліджуваних екстрактів визначали за допомогою характерних кольорових реакцій [131].

Реакція з желатином. Цей метод базується на здатності дубильних речовин взаємодіяти з желатином та утворювати стабільні комплекси. До 2 мл очищеного

екстракту додавали по краплі свіжо приготованого 1% розчину желатину. Спостерігали за утворенням осаду.

Реакція з ферум(III)сульфатом амонію. До 1 мл досліджуваного екстракту додавали 2 краплі ферум (III) сульфату амонію. Спостерігали за появою чорно-синього або чорно-зеленого забарвлення розчинів.

Реакція з бромною водою. До 2 мл екстракту краплями додавали бромну воду (5 г бром у 1 л води) до відчуття запаху бром. При наявності конденсованих дубильних речовин відразу утворюється осад.

Реакція з розчином хініну гідрохлориду. До 2 мл фільтрату додавали кілька крапель 1% розчину хініну гідрохлориду. Спостерігали утворення осаду.

Результати аналізу наведено в таблиці 4.7.

Таблиця 4.7 – Результати якісного аналізу досліджуваних об'єктів на вміст дубильних речовин

Реакція	Очікуваний результат	Досліджуваний об'єкт		
		<i>Caltha palustris</i> L.	<i>Ficaria verna</i> Huds.	<i>Ranunculus acris</i> L.
1% розчин желатини	утворення осаду	+	+	+
Розчин ферум (III) сульфату амонію	чорно-синє, чорно-зелене забарвлення	чорно-зелене	чорно-синє	чорно-зелене
Бромна вода	утворення осаду	+	+	+
Розчин хініну гідрохлориду	утворення аморфного осаду	+	+	+

Результати проведених реакцій підтверджують наявність досліджуваної групи БАР у сировині *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L.

4.4.2. Визначення кількісного вмісту дубильних речовин у досліджуваних екстрактах

Для проведення кількісного визначення дубильних речовин застосовували наступні методи: перманганатометричний метод Левенталя-Наубауера, комплексонометричний та спектрофотометричний методи.

Перманганатометричний метод Левенталя-Наубауера є хімічним методом визначення концентрації речовин шляхом титрування з використанням розчину перманганату калію (KMnO_4). Цей метод не є достатньо точним, оскільки перманганат калію здатний окиснювати різні природні сполуки, в тому числі і фенольного характеру. Ще одним недоліком цього методу є нечітка зміна забарвлення розчинів під час титрування, а для певних груп фенольних сполук точність результатів залежить від розрахункового коефіцієнта.

У плоскодонну колбу об'ємом 500 мл помістили 2 г подрібненої рослинної сировини та залили 250 мл гарячої води. Суміш кип'ятили 30 хв зі зворотнім холодильником. Після цього витяжку охолодили до кімнатної температури і процідили у конічну колбу об'ємом 250 мл. На наступному етапі роботи у конічну колбу об'ємом 750 мл відібрали піпеткою 25 мл витяжки, додавали 500 мл води та 25 мл індигосульфокислоти. Титрували розчином калію перманганату (0,02 моль/л) до золотисто-жовтого кольору постійно перемішуючи вміст колби. Паралельно проводили контрольний дослід [132].

Визначення дубильних речовин комплексонометричним методом базується на їх здатності утворювати стійкі комплексні сполуки з солями важких металів. Комплексонометричний метод є широко використовуваним методом для визначення дубильних речовин, оскільки він дозволяє отримати точні та надійні результати.

У плоскодонну колбу об'ємом 150 мл поміщали 1 г подрібненої рослинної сировини. Додавали 100 мл 30 % етанолу, нагрівали до кипіння на водній бані зі зворотнім холодильником. Після цього кип'ятили 30 хв періодично помішуючи. Потім колбу охолоджували 10–15 хв. Рідину злили через скляний фільтр ПОР

160 у мірну колбу об'ємом 200 мл. Екстракцію проводили двічі, попередньо змиваючи частинки сировини з фільтра 30 % етанолом.

Отримані витяжки об'єднували, охолоджували та доводили 30 % етанолом до мітки (розчин А). 5 мл розчину А поміщали у пробірку для центрифугування. Після цього додали 5 мл реактиву осадження і перемішували суміш скляною паличкою. Витримавши суміш 30 хв, проводили центрифугування протягом 10 хв із частотою обертів 5 тис./ хв. Рідину з осаду зливали, а осад змочували в 10 мл 0,25 % розчину аміаку свіжоприготовленого, потім перемішували тією самою скляною паличкою, яку промивали 2,5 мл розчину аміаку вказаної концентрації.

Після центрифугування промивну рідину зливали та відкидали. Осад з пробірки розчиняли у 1,5 мл 30 % розчину оцтової кислоти. Далі розчин переносили у мірну колбу об'ємом 250 мл та нейтралізували 12,5 мл 5 % розчину натрію гідрокарбонату, титрували 0,01 М розчином трилону Б до зміни червоно-фіолетового забарвлення розчин у на жовте. Як індикатор використовували розчин ксиленового оранжевого.

Спектрофотометрія - це ще один метод, який використовується для кількісного визначення дубильних речовин у зразках. Цей метод базується на вимірюванні поглинання світла зразком у певному діапазоні довжин хвиль. Дослідження проводили на спектрофотометрі Specord M 40.

5 г подрібненої рослинної сировини переносили у круглодонну колбу об'ємом 250 мл та заливали 150 мл води очищеної. Протягом 30 хв колбу з вмістом нагрівали на водній бані, після цього охолоджували під проточною водою і кількісно переносили у мірну колбу місткістю 250 мл. Круглодонну колбу обмивали водою очищеною, а промивні води поміщали в мірну колбу і доводили до 250,0 мл водою очищеною. Після того, як осад осів рідину профільтрували через фільтрувальний папір діаметром 125 мм. Перші 50 мл фільтрату відкидали. 5,0 мл фільтрату доводили водою очищеною до 25,0 мл. До 2,0 мл отриманого розчину долили 1,0 мл фосфорно-молібденово вольфрамового реактиву та 10,0 мл води очищеної. Отриману суміш доводили до об'єму 25,0 мл розчином 290 г/л натрію карбонату. Розчин залишили на 30 хв, після цього

вимірювали оптичну густина при довжині хвилі 760 нм. Як компенсаційний розчин використовували воду очищену [40-44]. Дані досліджень наведено у таблиці 4.8.

Таблиця 4.8. – Кількісний вміст дубильних речовин у сировині *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L.

Досліджувана сировина(трава)	Вміст дубильних речовин ,%		
	n=3		
	Перманганато-метрія	Комплексонометрія	Спектрофотометрія
<i>Caltha palustris</i> L.	16,51±0,18	6,89±0,03	7,81±0,15
<i>Ficaria verna</i> Huds.	6,3±0,12	0,12±0,09	0,08±0,09
<i>Ranunculus acris</i> L.	9,84±0,14	1,98±0,11	2,65±0,13

Аналізуючи отримані результати, встановлено вміст дубильних речовин у траві *Ficaria verna* Huds. був 0,08-6,3% та траві *Ranunculus acris* L. був 1,98-9,84 %, що є незначним.

Результати дослідження свідчать про достатньо високий вміст дубильних речовин у траві *Caltha palustris* L., який складає 6-16% відповідно до методу дослідження. Зважаючи на це, перспективними будуть дослідження протизапальної, антиоксидантної дії даної рослини.

4.5. Виявлення і кількісне визначення алкалоїдів

4.5.1. Виявлення алкалоїдів у досліджуваних екстрактах

Виявлення алкалоїдів у досліджуваній рослинній сировині проводили загальноосадовими реакціями. Визначення проводили за допомогою крапельних реакцій на предметному склі з реактивами Майєра Вагнера, Хагера Драгендорфа, Зонненштейна свіжоприготованим 10% розчином таніну [40-44]. Результати наведено у таблиці 4.9.

Таблиця 4.9 – Результати якісного аналізу досліджуваних об'єктів на вміст алкалоїдів

Реакція	Очікуваний результат	Досліджуваний об'єкт		
		<i>Caltha palustris</i> L.	<i>Ficaria verna</i> Huds.	<i>Ranunculus acris</i> L.
Реактив Майєра	Утворення жовто-білого осаду	+	+	-
Реактив Вагнера	Утворення осаду	+	+	-
Реактив Хагера	Утворення жовтуватого осаду	+	+	-
Реактив Драгендорфа	Утворення оранжево-червоного аморфного осаду	+(оранжевий)	+(червоний)	-
Реактив Зонненштейна	Утворення світло-жовтий або буро-жовтий колір осаду	+(жовтий)	+(темно-жовтий)	+(світло-жовтий)
10% розчин таніну	Утворення жовтого аморфного осаду	-	+	-

За результатами досліджень встановлено, що алкалоїди присутні у траві *Caltha palustris* L. та *Ficaria verna* Huds. Щодо трави *Ranunculus acris* L., можна припустити, що алкалоїди містяться в незначній кількості, але для підтвердження цього факту можуть знадобитися додаткові дослідження.

4.5.2. Визначення кількісного вмісту алкалоїдів

Алкалоїди з рослинної сировини виділяли у вигляді основ. Наважку рослинної сировини масою 10 г помістили в колбу об'ємом 250 мл, доливали 7 мл концентрованого розчину аміаку та 150 мл хлороформу. Дану суміш

струшували протягом 1 години, а після цього хлороформний екстракт швидко профільтрували. До отриманого фільтрату додали 5 мл води, енергійно збовтували та залишили відстоюватись.

У ділильну воронку об'ємом 200 мл додавали 90 мл хлороформного екстракту. Екстрагування алкалоїдів проводили за допомогою 1 %-ої НСІ до повного їх вилучення. Отриманий кислотний екстракт підлужили 10 % розчином аміаку до лужної реакції за фенолфталеїном, і провели повторне екстрагування алкалоїдів хлороформом. Кожну порцію хлороформного екстракту фільтрували через попередньо змочений хлороформом паперовий фільтр з безводним натрієм сульфатом (4-5 г) на ньому. Хлороформ з екстракту відганяли на водяній бані.

Для повного видалення залишку хлороформу вміст продуванням повітря до повного зникнення запаху розчинника. Отриманий сухий залишок використали для проведення кількісного визначення алкалоїдів титриметричним методом (зворотне титрування).

Сухий залишок, отриманий після відгону хлороформу, розчинили у 15 мл 0,02 М розчину хлористоводневої кислоти при нагріванні на водяній бані при температурі 60° С. Після цього додавали 0,1 мл метилового червоного спиртового розчину 0,1 % і 0,02 мл метиленового синього спиртового розчину. Надлишок хлороводневої кислоти титрували 0,02 М розчином гідроксиду натрію до появи зеленого забарвлення [133, 134]. Результати дослідження представлено у таблиці 4.10.

Таблиця 4.10 – Кількісний вміст алкалоїдів у траві *Caltha palustris* L., траві *Ficaria verna* Huds. та траві *Ranunculus acris* L.

Досліджувана сировина	Сума алкалоїдів (в % на суху речовину), n=3
Трава <i>Caltha palustris</i> L.	3,84±0,03
Трава <i>Ficaria verna</i> Huds.	4,25±0,10
Трава <i>Ranunculus acris</i> L.	0,18±0,12

Алкалоїди є групою хімічних сполук, які містять азот та виробляються рослинами. Наявність алкалоїдів у рослинах дозволяє використовувати їх як спазмолітичний, протипухлинний, подразнюючий, адреноміметичний засоби.

Відповідно до літературних даних, досліджувані рослини (*Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L.) містять анемонін та протоанемонін, які потребують спеціальних умов виділення (розділ 1). Дослідження вмісту алкалоїдів у рослинній сировині підтверджує їх наявність у траві *Caltha palustris* L., траві *Ficaria verna* Huds. та траві *Ranunculus acris* L., проте вивчення компонентного складу алкалоїдів є предметом майбутніх досліджень.

4.6. Виявлення і кількісне визначення кумаринів

4.6.1. Якісний аналіз вмісту кумаринів

Виявлення кумаринів у досліджуваній рослинній сировині проводили за допомогою лактонної проби та реакцією з діазореактивом у лужному середовищі.

Лактонна проба. До 2 мл спиртової витяжки додавали 4-5 крапель 10 % розчину калію гідроксиду спиртового. Отриману суміш 5 хв нагрівали на водяній бані. Після цього вміст пробірки охолоджували до кімнатної температури та доливали 2 мл води очищеної. Вміст пробірки струшували та додавали 10 % розчину хлоридної кислоти до кислої реакції (за лакмусом).

Спостерігали за розчинами. З'являлись осад та каламуть, що вказували на можливу наявність кумаринів у досліджуваних екстрактах.

Реакція з діазореактивом в лужному середовищі. До 2 мл спиртової витяжки додавали 4-5 крапель 10% розчину калію гідроксиду спиртового та 3 - 5 хв нагрівали суміш на водяній бані. Спостерігали зміну забарвлення на жовте. Після цього до суміші додавали 5 крапель свіжоприготовленої сульфанілової кислоти діазотованої. Спостерігали за зміною забарвлення. Появилось вишневе забарвлення, що свідчило про наявність кумаринів в екстрактах. Результати дослідження представлено в таблиці 4.11.

Таблиця 4.11 – Результати якісного аналізу досліджуваних об'єктів на вміст кумаринів

Реакція	Очікуваний результат	Досліджуваний об'єкт		
		<i>Caltha palustris</i> L.	<i>Ficaria verna</i> Huds.	<i>Ranunculus acris</i> L. <i>Ranunculus acris</i> L.
Лактонна проба	утворення муті, осаду	+	+	+
З діазо-реактивом в лужному середовищі	вишневе забарвлення	+	+	+

На основі якісного аналізу було підтверджено присутність кумаринів у досліджуваній рослинній сировині, що свідчить про наявність цих сполук у зразках.

4.6.2. Визначення кількісного вмісту кумаринів

Для визначення кількісного вмісту кумаринів у траві використовували спектрофотометричний метод. Наважку подрібненої сировини масою 1,0 г екстрагували хлороформом (5 мл) на ультразвуковій бані при температурі 80°C. Екстрагування проводили 4 год у скляних герметичних віялках із тефлоновою кришкою. Після цього екстракт центрифугували при 3 тис. об/хв та профільтрували через фільтри. Виділення суми кумаринів з трави досліджуваних рослин здійснювали екстракцією спиртовими сумішами з наступною обробкою отриманого залишку неполярним розчинником.

Для проведення аналізу використовували метанольний екстракт у співвідношенні з хлороформом 15:85. До нього додавали воду очищену і 2 % розчин натрію хлориду. Отриману суміш перемішували протягом 2 хв та залишали до повного розділення фаз. Верхній водний шар за допомогою піпетки

переносили в епендорфи та додавали воду очищену. Оптичну густину вимірювали при довжині хвилі 290 нм. Перерахунок проводили на псорален [135].

Результати аналізу наведено в таблиці 4.12.

Таблиця 4.12 – Кількісний вміст кумаринів у траві *Caltha palustris* L.s, траві *Ficaria verna* *Ficaria verna* Huds. та траві *Ranunculus acris* L.

Досліджувана сировина	Сума кумаринів (в % на суху речовину), n=3
Трава <i>Caltha palustris</i> L.	0,47±0,07
Трава <i>Ficaria verna</i> Huds.	0,045±0,13
Трава <i>Ranunculus acris</i> L.	0,028±0,04

Кумарини характеризуються великою різноманітністю біологічної дії на організм людини, зокрема: протизапальна, антиоксидантна, антибактеріальна та протигрибкова дії. Кількісний вміст кумаринів у рослині може коливатись від 0,2 до 10 %.

Дослідження кількісного вмісту кумаринів свідчать, що досліджувана рослинна сировина, а саме трава *Caltha palustris* L., містить достатню кількість кумаринів – 0,47 %, які можуть впливати на організм людини.

4.7 Виявлення і кількісне визначення сапонінів.

4.7.1. Якісний аналіз вмісту сапонінів

Виявлення сапонінів проводили за допомогою реакцій піноутворення. В пробірку наливали по 4 мл відповідного екстракту та інтенсивно струшували протягом декількох секунд і спостерігали за утворенням піни [44].

Спостерігали утворення значної кількості стійкої піни для екстрактів трави *Caltha palustris* L. та трави *Ficaria verna* Huds., що свідчить про позитивну реакцію. Слід зазначити, що кількість піни при дослідженні екстракту трави *Ficaria verna* Huds. менша, ніж у випадку з екстрактом трави *Caltha palustris* L. Щодо екстракту трави *Ranunculus acris* L., то в результаті проведеної реакції утворення стійкої піни не спостерігалось.

4.7.2. Визначення кількісного вмісту сапонінів

Для кількісного визначення вмісту сапонінів у досліджуваній рослинній сировині був використаний метод спектрофотометрії. Цей метод ґрунтується на вимірюванні поглинання світла речовиною у певному діапазоні довжин хвиль. Аналітичний зразок сировини подрібнювали до розміру частинок, які могли пройти через сито з отвором 1 мм. 0,5 г (точна маса) подрібненої сировини насипають у патрон з фільтрувального паперу, поміщають в екстрактор Сокслета та екстрагують хлороформом протягом 2 годин.

Екстракт хлороформу відокремлювали, а патрон, що містить матеріал, сушили. Сировину разом із патроном поміщають у круглодонну колбу на 100 мл, додають 50 мл 90 % етанолу і кип'ятять із зворотним холодильником на киплячій водяній бані протягом 1 години. Екстракт фільтрували в колбу на 200 мл, залишок на фільтрувальній мембрані двічі промивали 90 % етанолом, екстракт змішували з етанолом і повністю видаляли розчинник під вакуумом.

Отриманий залишок розчиняли у 20 мл 96 % етанолу і нагрівали. Охолодити, після цього перенести у колбу на 50 мл і довести до мітки 96 % етанолом. 2 мл отриманого розчину помістити в колбу Ерленмейєра на 50 мл, обережно по краплях додавати 8 мл концентрованої сульфатної кислоти і перемішували.

Через 30 хв виміряти оптичну густину отриманого розчину на спектрофотометрі Hitachi U-2810 при довжині хвилі 405 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм із суміші, що складається з 2 мл 96% діетилового ефіру та етанолу і 8 мл концентрованої сульфатної кислоти [136].

Результати дослідження наведені у таблиці 4.13.

Таблиця 4.13 – Кількісний вміст сапонінів у траві *Caltha palustris* L., траві *Ficaria verna* Huds. та траві *Ranunculus acris* L.

Досліджувана сировина	Сума сапонінів (в % на суху речовину), n=3
Трава <i>Caltha palustris</i> L.	4,47±0,02
Трава <i>Ficaria verna</i> Huds.	2,75±0,08
Трава <i>Ranunculus acris</i> L.	0,28±0,06

Концентрація сапонінів у рослинах може значно варіюватися в залежності від виду рослини, виду сировини, стадії розвитку рослини, умов вирощування та методів визначення. Результати дослідження свідчать, про достатньо високий вміст сапонінів у траві *Caltha palustris* L та траві *Ficaria verna* Huds. Зважаючи на широкий спектр фармакологічної дії сапонінів доцільно буде провести дослідження протизапальної та антиоксидантної дії.

4.8. Вивчення складу хлороформних фракцій досліджуваних рослин

4.8.1. Загальна методологія дослідження

Ліпофільний екстракт отримували вичерпним екстрагуванням досліджуваної рослинної сировини хлороформом в апараті Сокслета. Отримані хлороформні екстракти випаровували до повного видалення екстрагента та зважували. Масу ліпофільної фракції визначали як різницю значення маси приймача, заповненого субстанцією від попередньо визначеної маси порожнього приймача [148]. Розраховували вихід ліпофільної фракції (X, %) трави в перерахунку на абсолютно суху сировину за формулою:

$$X = \frac{m_{\text{л.ф.}} \times 100 \times 100}{m_{\text{н}} \times (100 - w)} \quad (4.1)$$

де $m_{\text{л.ф.}}$ – маса ліпофільної фракції, г; $m_{\text{н}}$ – маса наважки сировини, г; w – втрата в масі при висушуванні, % [137].

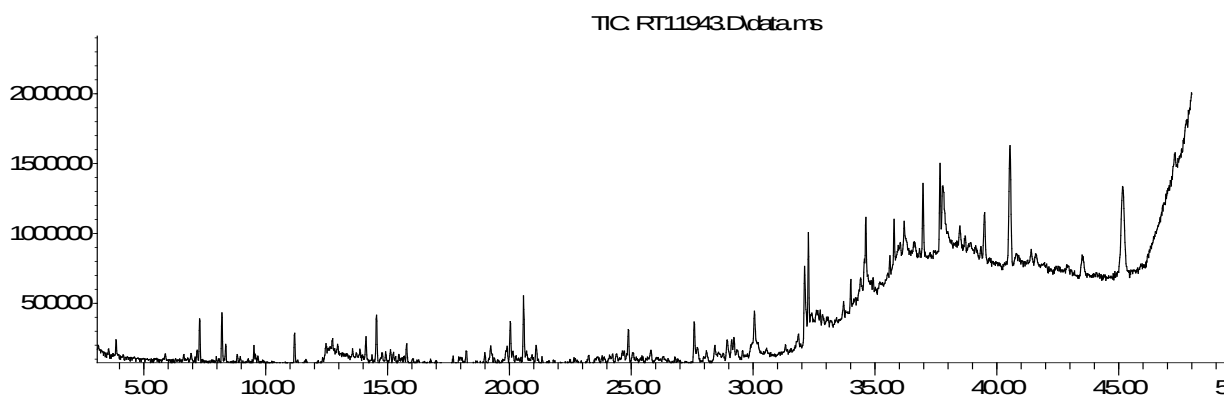
Компонентний аналіз вмісту БАР ліпофільного екстракту проводили з допомогою хроматографа Agilent Technology 6890 GC System з мас-спектрометричним детектором HP 5973 Mass Selective Detector. Компоненти розділяли на колоні з плавленим кремнеземом Restek Rtx-5MS довжиною 30 м і внутрішнім діаметром 0,32 мм. Стаціонарна рідка фаза мала товщину 0,25 мкм і складалася з 95% поліметилсилоксану і 5% фенілполісилоксану. Газом-носієм був гелій. Швидкість газу-носія становила 2,0 мл/хв. Термостат колони нагрівали за такою програмою: початкову температуру 60°C підтримували протягом 10 хвилин, а потім температуру підвищували з темпом 20°C/хв до 280°C. Ця температура залишалася постійною протягом 30 хв, температура детектора та випарника становила 280°C. БАР ідентифікували за часом утримування,

порівнюючи його зі стандартами та з бібліотекою мас-спектрів NIST 05 та WILEY 2007, загальна кількість спектрів понад 470000 [138, 139].

4.8.2. Дослідження складу хлороформного екстракту *Caltha palustris* L.

Результати дослідження хлороформного екстракту *Caltha palustris* L. представлено на рисунку 4.7 та у таблиці 4.14 (Додаток А 3). Аналіз отриманої хроматограми екстракту свідчить, що кількісний вміст летких сполук становить 29, з яких ідентифіковано 26.

Abundance



Time-->

Рисунок 4.7 – Хроматограма хлороформного екстракту трава *Caltha palustris* L.

Компонентний склад хлороформного екстракту *Caltha palustris* L. представлений: парафіновими вуглеводнями, естерами, альдегідами жирних кислот, похідними морфіну, похідними тіазолу, бенздіазипіном, нафталіном та незначною кількістю терпенів. Вміст алканів становить: генейкозану – 3,49 %, трикозану – 1,63 %, докозану – 2,66 %, ейкозану – 2,1 %, нонадекану – 0,86 % і ін. Виявлено незначну кількість дезоксидигідроестрону – 0,45 %. Присутні у невеликих кількостях олеїнова (0,09 %) та петроселінова (0,08 %) кислоти. Нордекстрометорфану у зразку міститься 14,1 %, D-Лімонену – 0,41 %. Результати наведено в таблиці 4.14 (Додаток А.3).

4.8.3. Дослідження складу хлороформного екстракту *Ficaria verna* Huds.

В результаті дослідження було виявлено і встановлено кількісний вміст 38 летких сполук у екстракті та в екстракті *Ficaria verna* Huds. На рисунку 4.8

представлено результати ідентифікації ліпофільного екстракту та його кількісне визначення.

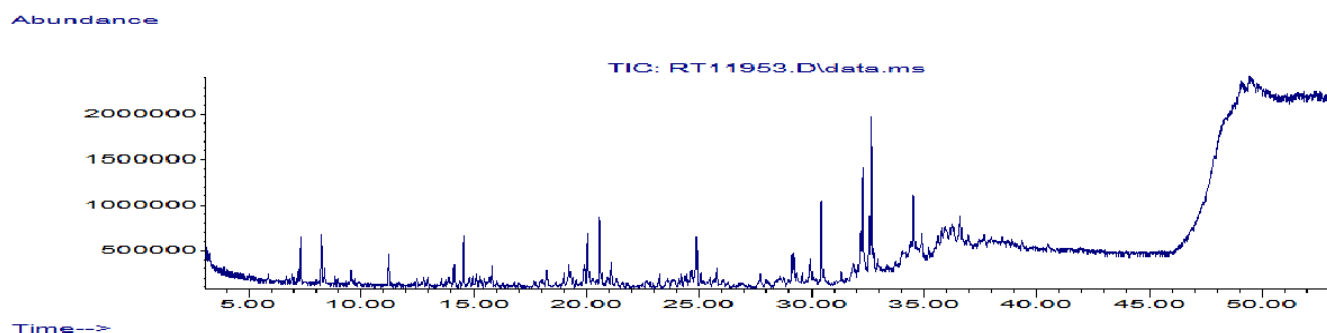


Рисунок 4.8 – Хроматограма хлороформного екстракту трава *Ficaria verna* Huds.

Як свідчать дані, представлені в табл. 4.15 (Додаток А. 4), в досліджуваному екстракті було ідентифіковано 38 летких сполук: вищі жирні кислоти, естери жирних кислот, моноциклічні та біциклічні монотерпеноїди, насичені вуглеводні (алкани) тощо. Аналізуючи отримані дані можна зробити висновок, що компонентний склад представлений в основному парафіновими вуглеводнями, альдегідами та естерами жирних кислот та деяким вмістом терпенів. Так вміст октадекану – 1,29 %, ейкозану – 13,74 %, трикозану – 8,28 %, гептадекан – 2,17 %, тетракозан – 1,85 %, тетрадекан – 2,16 %, пентадекан – 0,78 %, метилундекан – 1,03 % та ін.

Вміст жирних кислот: пальмітинової кислоти – 2,73 %, олеїнової кислоти – 1,8 %. У зразку міститься фітол в кількості 2,57 %.

4.8.4. Дослідження складу хлороформного екстракту *Ranunculus acris* L.

Під час проведення дослідження було виявлено та визначено кількісний вміст 33 летких сполук у екстракті *Ranunculus acris* L. серед яких: вищі жирні кислоти, естери жирних кислот, моноциклічні та біциклічні монотерпеноїди, насичені вуглеводні (алкани) тощо. Хроматограма дослідження хлороформного екстракту представлена на рисунку 4.9.

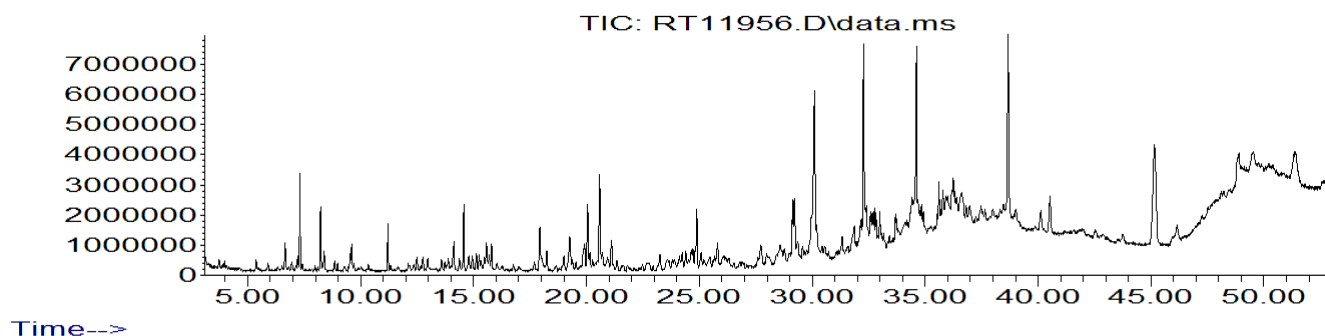


Рисунок 4.9 – Хроматограма хлороформного екстракту трава *Ranunculus acris* L.

Аналізуючи отримані дані можна зробити висновок, що компонентний склад всіх досліджуваних об'єктів представлений в основному парафіновими вуглеводнями, альдегідами та естерами жирних кислот та деяким вмістом терпенів. Так вміст гексадекану – 0,5 %, нонадекану – 8,79 %, ейкозану – 4,22 %, докозану – 1,35 %, трикозану – 7,16 %, тетракозану – 2,28 %, гептадекану – 1,32 %, пентатріаконтану – 2,26 %, октакозану – 1,76 % і ін. Вміст пальмітинової кислоти – 3,43 %. Слід зазначити наявність у досліджуваному зразку слідів монотерпену : D- лімонену (0,62 %). Результати представлено у таблиці 4.16 (Додаток А. 5).

Висновки до розділу 4.

1. Вперше проведено фармакогностичне дослідження екстрактів трави *Ficaria verna* Huds., трави *Caltha palustris* L. та трави *Ranunculus acris* L.
2. Встановлено наявність та досліджено кількісний вміст фенольних сполук, флавоноїдів, дубильних речовин, алкалоїдів, кумаринів та сапонінів.
3. Вперше хроматографічно (методом ТШХ) ідентифіковано фенольні речовини. У зразках досліджуваних об'єктів виявлено хлорогенову кислоту, лютеолін, кавову, ферулову кислоти, кверцетин та хризин.
4. Методом ВЕРХ ідентифіковано та встановлено кількісний вміст 8 сполук фенольного характеру у екстракті трави *Ficaria verna* Huds. Найвищий вміст

становила кавова кислота (2,49%), *n*-кумарова (1,35%) та хлорагенова кислота (0,92%). У екстракті трави *Caltha palustris* L. було встановлено кількісний вміст 6 сполук, серед яких найбільший вміст мала кавова кислота (2,05%) та хлорагенова (0,82%). При дослідженні екстракту трави *Ranunculus acris* L. було визначено кількісний вміст 6 сполук, які присутні в незначній кількості.

5. Спектрофотометрично визначено кількісний вміст суми фенольних сполук у досліджуваних екстрактах трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L. Всі досліджувані екстракти містять високий вміст фенольних сполук. Найвищий вміст фенольних сполук міститься у екстрактах отриманих за допомогою 70 % водно-етанольного розчину. Для екстракту *Caltha palustris* L. вміст фенолів становить $50,51 \pm 0,11$ мг/г, для екстракту *Ficaria verna* Huds. – $20,35 \pm 0,12$ мг/г та у 70% та екстракту *Ranunculus acris* L. – $18,69 \pm 0,08$ мг/г.

6. Кількісний вміст флавоноїдів у екстрактах досліджуваної рослинної сировини визначали модифікованим спектрофотометричним методом у перерахунку на кверцетин. Результати дослідження підтверджують наявність флавоноїдів у досліджуваній рослинній сировині. Для трави *Caltha palustris* L. найвищий вміст флавоноїдів становив $19,85 \pm 0,09$ мг /г, для трави *Ficaria verna* Huds. – $18,37 \pm 0,14$ мг /г та для трави *Ranunculus acris* L. – $14,85 \pm 0,11$ мг/г.

7. Визначено кількісний вміст дубильних речовин у траві *Caltha palustris* L., *Ranunculus acris* L. та *Ficaria verna* Huds. перманганатометричним, комплексонометричним та спектрофотометричним методами. Результати дослідження показують, що трава *Caltha palustris* L. містить 6-16 % дубильних речовин у складі, трава *Ficaria verna* Huds. – 0,1-6 %, трава *Ranunculus acris* L. – 2-9 %.

8. Встановлено якісний і визначено кількісний вміст алкалоїдів у досліджуваній сировині. Отримані результати дослідження підтверджують присутність алкалоїдів у рослинній сировині усіх досліджуваних рослин. Вміст алкалоїдів у траві *Ficaria verna* Huds. становив 4,25 % в перерахунку на суху

речовину, у траві *Ranunculus acris* L. – 0,1 % на суху речовину та у траві *Caltha palustris* L. - 3,84 % на суху речовину.

9. Спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст кумаринів. Для трави *Caltha palustri* L. він становить 0,47 % на суху речовину, трави *Ficaria verna* Huds. – 0,045 % на суху речовину та трави *Ranunculus acris* L. – 0,028 % на суху речовину.

10. Вивчено склад хлороформних фракцій досліджуваних рослин. Згідно з аналізом отриманих хроматограм експериментальних зразків екстрактів виявлено і встановлено кількісний вміст 26 летких сполук у екстракті трави *Caltha palustris* L., 28 летких сполук у екстракті трави *Ficaria verna* Huds. та 33 летких сполук у екстракті трави *Ranunculus acris* L. серед яких: вищі жирні кислоти, естери жирних кислот, моноциклічні та біциклічні монотерпеноїди, насичені вуглеводні (алкани) тощо.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. The Study of the Composition of Chloroform Fraction of *Caltha palustris*. Viktoriia Karpiuk, Roksolana Konechna Yulian Konechnyi ,Wieczorek Piotr Pawel, Jasicka Misiak Izabela , Lesia Zhurakhivska, Lilia Bolibrukh. Research Journal of Pharmacy and Technology .2023 , Vol : 16 , Issue : 3.
2. Визначення кількісного вмісту дубильних речовин, алкалоїдів та кумаринів у *Caltha palustris*, *Ficaria verna*, *Ranunculus acris*. В.Р. Карпюк, Ю.Т. Конечний, Л.Р. Журахівська, Р. Т. Конечна. Фітотерапія. Часопис, 1, 53–58, doi: 10.33617/2522-9680-2022-1-53
3. В. Р. Карпюк, Н. В. Поліш, Н. Я. Качмар-Кос, І. В. Павлюк, Р. Т. Конечна. Дослідження складу та антиоксидантної дії хлороформного екстракту трави *Ficaria verna*. Chemistry, technology and application of substances. №5(1). С.61-66 . <https://doi.org/10.23939/ctas2022.01.061>

4. Karpiuk V., Konechna R. Total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity of *Ficaria verna*. *Periodyk Naukowy Akademii Polonijnej (PNAP)*. 2021. Т. 46, No. 3. S. 229–234.
5. Лях В. Р., Конечна Р. Т., Червецова В. Г., Журахівська Л. Р., Новіков В. П. Дослідження вмісту флавоноїдів у траві *Caltha palustris* // Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження : матеріали II Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, 11 березня 2020 року, м. Харків. – 2020. – С. 95–96
6. Карпюк В. Р., Конечна Р. Т., Курка М. С., Милянч А. О., Хоменко О. І. Порівняльний аналіз кількісного вмісту флавоноїдів у траві *Caltha palustris*, заготовленої в 2018-2020 роках // Scientific progress of medicine and pharmacy of the EU countries : proceedings of the International scientific and practical conference, Czestochowa, Republic of Poland, April 23–24, 2021. – 2021. – С. 162–165.
7. Karpiuk V., Konechna R. Total phenolic content of *Caltha palustris* // 1st International conference on botany and mycology : abstracts book, 25–26 October 2021, Sofia, Bulgaria. – 2021. – С. 39

РОЗДІЛ 5.

РОЗРОБКА СКЛАДУ СКЛАДНОГО ЕКСТРАКТУ НА ОСНОВІ РОСЛИН РОДИНИ *RANUNCULACEAE*

Використання ЛРС у фармацевтичній промисловості залежить не лише від виду сировини, а і від комплексу її БАР, який визначає фармакотерапевтичну активність ЛЗ на рослинній основі [140-143].

Розробка методології отримання складного екстракту на основі досліджуваних рослин *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L. базувалась на експериментальних даних дослідження вмісту БАР, а саме: вміст фенольних сполук та флавоноїдів.

Характеристику досліджуваної рослинної сировини представлено у розділі 3. Основні групи БАР та результати аналізу літературних даних щодо фармакотерапевтичної дії досліджуваних рослин представлено у табл. 5.1 та табл. 5.2 відповідно [144-146].

Таблиця 5.1 – Фітохімічний дизайн досліджуваної лікарської рослинної сировини

Назва ЛРС	Наявність біологічно активної речовини									
	алкалоїди	флавоноїди	дубильні речовини	лактони	сапоніни	глікозиди	амінокислоти	вітаміни	кумарини	фітонциди
<i>Caltha palustris</i> L.	+	+	+	+	+			+	+	
<i>Ficaria verna</i> Huds.	+	+		+	+	+	+	+		
<i>Ranunculus acris</i> L.	+	+	+	+	+	+	+	+		+

Таблиця 5.2 – Фармакотерапевтична дія досліджуваної лікарської рослинної сировини

Назва ЛРС	Фармакотерапевтична дія									
	ранозагоювальна	Протизапальна	в'язуча	відхаркувальна	Сечогінна	антимікробна	Знеболююча	протишухлинна	Кровоспинна	епітелізуюча
<i>Caltha palustris</i> L.	+	+	+		+			+		
<i>Ficaria verna</i> Huds.	+	+		+	+		+		+	
<i>Ranunculus acris</i> L.		+				+				+

Аналіз отриманих результатів свідчить про те, що БАР *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L. мають комплексний вплив на організм людини. Отже, пошук і розробка нових ефективних і безпечних лікувально-профілактичних засобів на основі досліджуваних рослин є актуальним завданням фармацевтичної науки.

5.1. Теоретичне та експериментальне обґрунтування отримання екстракту складного

При визначенні найбільш ефективного та рентабельного методу отримання складного екстракту було визначено вміст екстрактивних речовин та суми фенольних сполук та флавоноїдів у отриманих субстанціях, які відрізнялись складом і методом їх отримання. Отримані субстанції – це складні екстракти, які отримували на основі композицій ЛРС *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L. (метод 1, рисунок 5.1) та композицій екстрактів досліджуваної

ЛРС (метод 2, рис 5.1). На рисунку 5.1 наведено схему технологічних стадій для отримання складного екстракту двома методами.



Рисунок 5.1 – Технологічні підходи до отримання складного екстракту

На початку експерименту було запропоновано два методи отримання складного екстракту.

Результати фітохімічного дослідження рослинної сировини *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L. (розділ 4) свідчать про те, що найвищий вміст БАР було виявлено у екстракту складного отриманого методом мацерації із застосуванням 40 та 70 % водно-етанольних розчинів як екстрагентів. Тому в подальших дослідженнях, щодо розробки складу і технології складного екстракту було використано саме ці концентрації водно-етанольного розчину.

5.1.1. Отримання екстракту з композиції рослинної сировини

В першому випадку отримання складного екстракту полягає у проведенні процесу мацерації композицій ЛРС досліджуваних рослин. Спираючись на попередні дослідження даної ЛРС *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L. та екстрактів (розділ 2) на їх основі було запропоновано 14 серій композицій з різним співвідношенням рослинної сировини у них, які наведено у таблиці 5.3.

Таблиця 5.3 – Композиції рослинної сировини для отримання складного екстракту

Рослинна сировина	Співвідношення сировини у екстракті						
	EC1	EC2	EC3	EC4	EC5	EC6	EC7
Трава <i>Caltha palustris</i> L.	1	2	2	1	1	1	2
Трава <i>Ficaria verna</i> Huds.	1	1	2	2	1	2	1
Трава <i>Ranunculus acris</i> L.	1	1	1	1	2	2	2

Для отримання складного екстракту використовували як екстрагент 40 та 70% водно-етанольні розчини. Співвідношення сировини до екстрагента складало 1:10.

5.1.2. Отримання складного екстракту з композиції екстрактів рослинної сировини

Другий метод отримання складного екстракту полягав у об'єднанні окремих екстрактів *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds та *Ranunculus acris* L. у різних співвідношеннях. Усі екстракти отримували методом мацерації з використанням як екстрагентів 40 та 70% водно-етанольних розчинів. Співвідношення сировини до екстрагента складало 1:10.

При розробці технології складного екстракту даним методом здійснювали підбір співвідношення екстрактів кожної рослинної сировини, які представлено в таблиці 5.4.

Таблиця 5.4 – Композиції екстрактів *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L. для отримання складного екстракту

Екстракти рослинної сировини	Співвідношення екстрактів рослинної сировини у складному екстракті						
	EP1	EP2	EP3	EP4	EP5	EP6	EP7
Екстракт трави <i>Caltha palustris</i> L.	1	2	2	1	1	1	2
Екстракт трави <i>Ficaria verna</i> Huds.	1	1	2	2	1	2	1
Екстракт трави <i>Ranunculus acris</i> L.	1	1	1	1	2	2	2

Отримано 14 серій складного екстракту на основі композицій екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L.

5.2. Дослідження отриманих складних екстрактів

В результаті дослідження було отримано 28 серій складних екстрактів двома методами з використанням як екстрагентів 40 та 70% водно-етанольних

розчинів. Першим етапом дослідження було вивчення органолептичних показників складних екстрактів.

Наступний етап дослідження полягав у визначенні вмісту екстрактивних речовин, сухого залишку, а також вмісту фенолів та флавоноїдів.

5.2.1. Вивчення органолептичних показників складних екстрактів

Органолептичний контроль полягав в оцінці зовнішнього вигляду (колір, запах, прозорість, відсутність механічних включень та ін.). Результати дослідження складних екстрактів наведено в таблиці 5.5.

Таблиця 5.5 – Органолептичні показники досліджуваних екстрактів

Складний екстракт	Концентрація водно-етанольного розчину, %	Колір	Запах	Смак
ЕС1	40	Жовтувато-коричневий	Специфічний	Гіркий
	70	Світло-зелений	Слабкий, специфічний	Терпкий
ЕС2	40	Жовтувато-коричневий	Характерний	Терпкий, Гіркуватий
	70	Темно-зелений	Характерний	Терпкий, гіркуватий
ЕС 3	40	Жовтувато-коричневий	Характерний	Гіркий
	70	Темно-зелений	Сильний, характерний	Гіркий
ЕС 4	40	Жовтувато-коричневий	Специфічний	Терпкий, гіркуватий
	70	Темно-зелений	Специфічний, ароматний	Терпкий, гіркуватий
ЕС 5	40	Темно-коричневий	Характерний, трав'яний	Терпкий
	70	Темно-зелений	Слабкий, характерний	Терпкий

ЕС 6	40	Коричневий	Трав'яний	Терпкий, гіркуватий
	70	Буро-зелений	Слабкий трав'яний	Терпкий
ЕС 7	40	Коричневий	Трав'яний	Терпкий, гіркуватий
	70	Буро-зелений	Характерний, трав'яний	Гіркуватий
ЕР 1	40	Темно-коричневий	Трав'яний	Терпкий
	70	Темно-зелений	Специфічний	Терпкий
ЕР 2	40	Коричневий	Трав'яний	Терпкий, гіркуватий
	70	Буро-зелений	Слабкий, трав'яний	Терпкий, гіркуватий
ЕР 3	40	Коричневий	Трав'яний	Терпкий, гіркуватий
	70	Буро-зелений	Слабкий, Трав'яний	Терпкий, гіркуватий
ЕР 4	40	Коричневий	Трав'яний	Терпкий
	70	Буро-зелений	Слабкий трав'яний	Терпкий
ЕР 5	40	Буро-зелений	Специфічний	Терпкий
	70	Коричневий	Специфічний	Терпкий
ЕР 6	40	Коричневий	Слабкий, трав'яний	Терпкий, гіркувантий
	70	Зелено-коричневий	Трав'яний	Гіркуватий
ЕР 7	40	Коричневий	Трав'яний	Терпкий, гіркуватий
	70	Буро-зелений	Трав'яний	Гіркуватий

5.2.2.Визначення вмісту екстрактивних речовин в складних екстрактах

Складні екстракти досліджувались за вмістом екстрактивних речовин за методиками ДФУ 2.8.16 [40]. Отримані результати представлено у таблиці 5.6.

Таблиця 5.6 – Вміст екстрактивних речовин у складних екстрактах *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L.

Складний екстракт	Екстрагент,%	Вміст екстрактивних речовин, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}, n=3$
ЕС 1	40	9,58±0,17
	70	8,96±0,23
ЕС 2	40	8,74±0,11
	70	8,01±0,14
ЕС 3	40	9,32±0,16
	70	8,82±0,08
ЕС 4	40	7,91±0,10
	70	8,12±0,06
ЕС 5	40	8,11±0,13
	70	8,62±0,19
ЕС 6	40	9,01±0,12
	70	8,56±0,12
ЕС 7	40	9,21±0,09
	70	8,02±0,04
ЕР1	40	10,32±0,15
	70	9,86±0,19
ЕР2	40	10,56±0,12
	70	9,98±0,07
ЕР3	40	10,85±0,11
	70	10,07±0,14
ЕР 4	40	9,11±0,05
	70	8,72±0,09
ЕР 5	40	8,86±0,16
	70	8,45±0,21
ЕР 6	40	9,21±0,17
	70	8,68±0,16
ЕР 7	40	10,11±0,08
	70	9,72±0,12

Вмісту екстрактивних речовин у складних екстрактах отриманих з використанням 40 % водно-етанольного розчину був вищими у порівняно з їх вмістом у екстрактах отриманих з використанням 70 % водно-етанольного розчину.

Слід зазначити, що результати визначення вмісту екстрактивних речовин в складних екстрактах отриманих методом 2 є вищими у порівнянні з вмістом екстрактивних речовин складного екстракту отриманого методом 1. Дослідження вмісту екстрактивних речовин є важливим показником при визначенні оптимальних параметрів екстракції БАР.

5.2.3. Дослідження вмісту фенольних сполук та флавоноїдів у складних екстрактах

У складних екстрактах було визначено загальний вміст фенольних сполук [124-127] – це група БАР у яких в молекулі ароматичного кільця з гідроксильною або фенольною групою, які мають широким спектром фармакологічної активності. Результат вмісту фенольних сполук виражали в мг галової кислоти на г рослинної сировини.

Визначили загальний вміст флавоноїдів, які є похідними фенольних сполук. Результати виражали в мг кверцетину на г екстракту [129, 130]. Результати наведено в таблицях 5.7, 5.8.

Таблиця 5.7 – Загальний вміст фенольних сполук та флавоноїдів в складних екстрактах отриманих Методом 1

Співвідношення ЛРС	Концентрація водно- етанольного розчину, %	Вміст фенольних сполук, мг/г n=3	Вміст флавоноїдів, мг/г n=3
ЕС 1	40	18,026±0,17	9,326±0,12
	70	34,905±0,14	19,235±0,09
ЕС 2	40	19,395±0,11	11,032±0,04
	70	36,101±0,16	21,014±0,07
ЕС 3	40	20,127±0,18	12,365±0,21
	70	36,714±0,24	22,021±0,14
ЕС 4	40	18,795±0,11	10,832±0,08
	70	34,051±0,09	20,014±0,04

ЕС 5	40	18,371±0,13	10,082±0,21
	70	34,251±0,17	20,244±0,11
ЕС 6	40	19,651±0,08	11,354±0,21
	70	36,254±0,15	21,745±0,13
ЕС 7	40	19,624±0,16	11,689±0,09
	70	36,651±0,21	21,984±0,14

Як видно з таблиці, вміст фенольних сполук та флавоноїдів був вищий в екстрактах отриманих із використанням 70% водно-етанольного розчину як екстрагенту для всіх композицій ЛРС. Найвищий вміст фенольних сполук становив 36,714±0,24 мг/г та 22,021±0,14 мг/г флавоноїдів у екстракті ЕС3 зі співвідношенням сировини 2:2:1.

Таблиця 5.8 – Загальний вміст фенольних сполук та флавоноїдів у складних екстрактах отриманих Методом 2

Складний екстракт	Концентрація водно-етанольного розчину, %	Вміст фенольних сполук, мг/г n=3	Вміст флавоноїдів, мг/г n=3
ЕР 1	40	31,452±0,24	13,269±0,17
	70	60,012±0,18	28,698±0,15
ЕР 2	40	33,215±0,11	14,259±0,24
	70	61,325±0,17	28,421±0,13
ЕР 3	40	32,159±0,21	13,958±0,19
	70	61,689±0,12	29,985±0,14
ЕР 4	40	31,854±0,16	13,650±0,27
	70	60,328±0,12	28,457±0,16
ЕР5	40	31,017±0,09	13,105±0,03
	70	59,762±0,14	28,027±0,17
ЕР 6	40	31,964±0,19	13,853±0,09
	70	60,732±0,28	28,138±0,11

EP 7	40	32,322±0,16	14,069±0,18
	70	61,072±0,10	28,698±0,14

В результаті проведених досліджень встановлено, що вміст фенольних сполук та флавоноїдів вищий у складних екстрактах отриманих на основі 70% водно-етанольного розчину як екстрагенту. Найвищий вміст фенольних сполук становив 61,689±0,12 мг/г, флавоноїдів – 29,985±0,14 мг/г у екстракті EP 3, отриманого методом 2, шляхом змішування окремих екстрактів рослин у співвідношенні 2:2:1.

Оскільки фенольні сполуки можуть виступати донорами атомів гідрогену вони можуть зупиняючи ланцюг окисних реакцій. Високий вміст даних сполук у рослинах дозволяє використовувати їх для отримання фітосубстанцій з потенційною антиоксидантною активністю.

Флавоноїди також мають широкий спектр фармакологічної дії на організм людини. Вони мають спазмолітичну, діуретичну, радіопротекторну дію, а також можуть впливати на серцеві ритми.

На підставі результатів проведених досліджень встановлено окремі аспекти (вміст екстрактивних речовин, фенольних сполук та флавоноїдів), врахувавши які можна отримати складний екстракт зі значним вмістом БАР. Це дозволить продовжити дослідження в даному напрямку, зокрема щодо вивчення фармакологічних властивостей отриманого складного екстракту та розробки на його основі лікарських субстанцій [147].

5.3 Проєкт МКЯ складного екстракту на основі композиції екстрактів рослинної сировини EP 3

Пропонована специфікація якості складного екстракту отриманого шляхом змішування окремих 70 % водно-етанольних екстрактів *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L. у співвідношенні 2:2:1 наведена таблиці 5.9.

Таблиця 5.9 – Специфікація до проєкту МКЯ «Складний екстракт трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L.»

Показник	Допустимі межі	Метод контролю
Опис	Буро-зелена рідина з пластинчастими вкрапленнями з слабко-пряним ароматом	Візуально, органолептично
Ідентифікація	А. На хроматограмі випробовуваного розчину зона кверцетину має відповідати відповідній зоні на хроматограмі розчину порівняння.	За ДФУ 2.0, 2.2.27 Метод ТШХ
	В. На хроматограмі випробовуваного розчину отриманого при випробуванні зона кверцетину має відповідати відповідній зоні на хроматограмі розчину порівняння.	За ДФУ 2.0, 2.2.29 Метод ВЕРХ
Випробування		
Етанол	Від 70 до 75 % (об/об).	За ДФУ 2.0, 2.9.10
Екстрактивні речовини		За ДФУ 2.0, 2.8.16
Сухий залишок	Не менше 20,0 %	За ДФУ 2.0, 2.2.25
Вміст суми флавоноїдів на кверцетин	Не менше 0,5 %.	За ДФУ 2.0, 2.9.10

Висновки до розділу 5.

1. Теоретично та експериментально обґрунтовано склад і технологію отримання складного екстракту на основі трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L. двома методами: отримання екстракту з композиції рослинної сировини та отримання екстракту шляхом змішування індивідуальних екстрактів з окремо взятої рослинної сировини.
2. Досліджено вміст екстрактивних речовин у отриманих складних екстрактах та проведено визначення кількісного вмісту фенольних сполук та флавоноїдів.
3. Встановлено, що кількісний вміст фенольних сполук та флавоноїдів вищий у складних екстрактах отриманих методом 2. Найвищі результати спостерігали для складного екстракту отриманого з композиції індивідуальних екстрактів з окремо взятої рослинної сировини *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L. зі співвідношенням екстрактів 2:2:1, а саме вміст фенольних сполук становив $61,689 \pm 0,12$ мг/г, флавоноїдів – $29,985 \pm 0,14$ мг/г.
4. Результати досліджень даного розділу можуть бути використані для подальших фармакологічних досліджень отриманого екстракту.
5. На основі проведених досліджень розроблено проєкт МКЯ «Складний екстракт трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L.»

Результати досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. В.Р. Карпюк. Дослідження з розробки складного екстракту на основі рослин родини Жовтецеві. *Chemistry, technology and application of substances*. 2022. Vol. 5, No. 2. С. 94-99.
<https://doi.org/10.23939/ctas2022.02.094>

РОЗДІЛ 6.

ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ, ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ ДІЇ ТА ВИКОРИСТАННЯ ЕКСТРАКТІВ *CALTHA PALUSTRIS* L., *FICARIA VERNA* HUDS. ТА *RANUNCULUS ACRIS* L.

Важливим етапом фармацевтичної розробки субстанцій різної спрямованості дії є проведення доклінічних досліджень, а саме вивчення фармакологічної активності та гострої токсичності. Результати даних досліджень дозволять спрогнозувати фармакологічну дію отриманих з ЛРС субстанцій, їх безпеку для людини та перспективи застосування. Застосування *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. в традиційній та доказовій медицині (розділ 1) та результати експериментальних досліджень вмісту БАР (розділ 4) дозволили визначити напрямки фармакологічних досліджень.

6.1. Вивчення гострої токсичності екстрактів.

Для оцінки перспективи фармакологічного застосування отриманих екстрактів як потенційних біологічно активних агентів, проведено дослідження їх гострої токсичності.

Експериментальні дослідження гострої токсичності (LD₅₀) рідких екстрактів з трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та отриманого складного екстракту проводили на білих щурах обох статей лінії «Вістар», які утримувались на базі Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Дослідження було проведено відповідно до загальноприйнятої методики, яка передбачає введення речовини у шлунок, відповідно до Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин у випадку їх використання для експериментів та інших наукових цілей [148-150]. Дослідження також було здійснено з дотриманням Закону України "Про захист тварин від жорстокого поводження" від 26.02.2006 року з останньою редакцією від 08.08.2021 року [151, 152].

Отримані цифрові результати піддавались математичній обробці у відповідності згідно з метою та завданням роботи. Статистичну обробку результатів здійснювали для середніх величин за t-критерієм Ст'юдента та однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) з використанням пакета програм «Microsoft Excel». Результати представили у вигляді $M \pm m$, де M – це вибіркове середнє, m - помилка середнього. Зміни вважали статистично значущими при $<0,05$.

У дослідженні брали участь 100 білих щурів обох статей масою 190-220 г. Щурів утримували за стандартних умов віварію. За добу до введення препаратів екстрактів щурів позбавляли їжі. Тестовані екстракти вводили одноразово внутрішньошлунково з допомогою металевого зонда в дозах 5; 10; і 15 г/кг за вмістом екстрактивних речовин.

Після введення препаратів ще 4 год тварин утримували без їжі з вільним доступом до води.

Вибір дози для вивчення гострої токсичності за умов внутрішньошлункового введення вибирали орієнтуючись на максимальну дозу IV класу токсичності – 5000 мг/кг відповідно до методичних рекомендацій [153, 154]. Після цього, за тваринами проводили спостереження протягом 2 тижнів та реєстрували прояви порушень фізіологічного стану щурів, виживаність, динаміку маси тіла.

У перші кілька годин після введення досліджуваних екстрактів тваринам у дозах 10 г/кг і 15 г/кг спостерігали нетривалу рухову загальмованість, яка швидше всього була пов'язана з перевантаженням шлунку великим об'ємом рідини, оскільки при введенні екстракту в дозі 5 г/кг подібної зміни не було. В подальшому спостереженні будь-яких змін у зовнішньому вигляді, динаміці маси тіла, стані покривів тіла не було зафіксовано. Тварини були охайними активними, мали задовільний апетит, реагували на звукові та світлові подразники, процеси сечовиділення і дефекації були в нормі, порушення

Не було зафіксовано жодної загибелі тварини (табл. 6.1, Додаток А. 6). Тому, LD_{50} досліджуваних екстрактів визначити не вдалось.

Спостереження за динамікою маси тіла щурів показало відсутність відмінностей порівнюючи з групою інтактного контролю, тварини обох груп рівномірно набирали масу. Результати дослідження наведено у таблиці 6.2 (Додаток А.7).

Отже, згідно з класифікацією К.К. Сидорова, максимальні дози, використані у токсикологічному експерименті, екстрактів можна віднести до малотоксичних засобів (IV клас токсичності, $LD_{50} > 6000$ мг/кг).

Опираючись на дані отримані при вивченні гострої токсичності досліджуваних екстрактів, можна зробити висновок, що екстракти з трави *Caltha palustris* L., з трави *Ficaria verna* Huds., з трави *Ranunculus acris* L. та складний екстракт у максимальному дозуванні не є токсичними для живих організмів та можуть застосовуватись для майбутніх розробок ЛЗ.

6.2. Дослідження антимікробної дії

Для оцінки антимікробної дії екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту, використовували два методи. Перший метод - метод дифузії в агар (метод "колодязів"), де використовували стандартні поживні середовища, такі як МПА, Мюллер-Хінтон агар. Другий метод - метод серійних розведень, базований на здатності розщеплювати резазурин в бульйоні для оцінки антимікробної активності [155-157]. Дослідження проводили на стандартних штаммах мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 (F-49)), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Raoultella terrigena* (ATCC 33257), а також на клінічних ізолятах мікроорганізмів: *Escherichia coli* 168 (полірезистентний до антибіотиків MDR), *Staphylococcus aureus* (MRSA) 23, *Pseudomonas putida* 182 (пандрагрезистентна PDR), *Bacillus cereus* 34 (не резистентний до антибіотиків non-MDR), *Enterococcus faecalis* 26 (MDR та стійкий до деяких антисептиків).

Клінічні ізоляти штамів були полірезистентними до антибіотиків (multiple drug resistance (MDR)), згідно з Європейськими рекомендаційними критеріями оцінки ступеня антибіотикорезистентності, з музею культур збудників

інфекційних хвороб кафедри мікробіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Оцінку активності екстрактів проведено з урахуванням бактерицидної дії етанолу. Тестування проводили у трьох повторах. Статистичну обробку виконували за допомогою комп'ютерної програми пакета статистичних функцій програми Microsoft Excel, 2019. Визначали середню арифметичну величину M , похибку середньої арифметичної m , число спостережень n , t -критерій Стьюдента.

Метод дифузії в агар полягав у внесення 50 мкл досліджуваного екстракту у лунку діаметром $5,5 \pm 0,5$ мм, з попередньо нанесеною на пластинку агару (МПА, Сабуро для грибків) суспензію культури мікроорганізму (McFarland 2.0). Тестування проводили у трьох повторах.

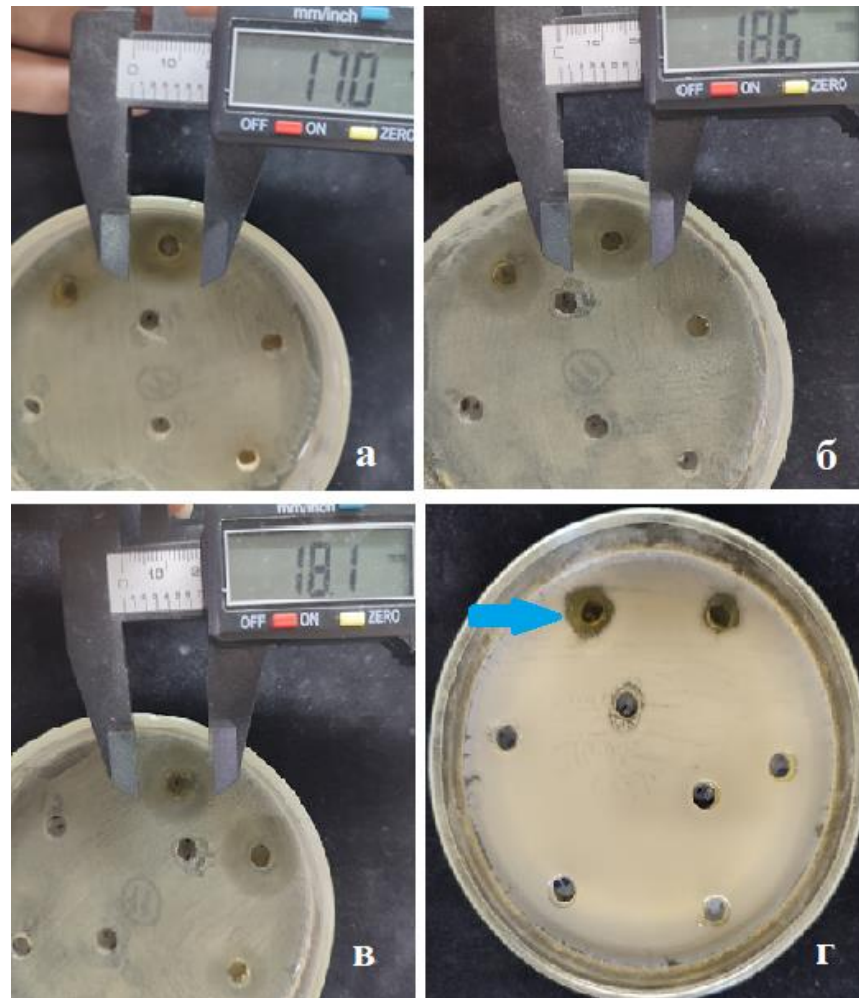


Рисунок 6.1 – Протимікробна дія екстрактів щодо клінічного штаму *Enterococcus faecalis* 26 (MDR)(метод дифузії в агар): а - *Caltha palustris* L. 70%; б - *Ficaria verna* Huds.70 % ; в - *Ranunculus acris* L. 90 %; г – складний екстракт.

Завдяки проведеному експерименту, встановлено, що екстракти *Caltha palustris* L. 70%, *Ficaria verna* Huds. 70%, *Ranunculus acris* L. 90% та складний екстракт впливають на затримку росту культури *Enterococcus faecalis* 26 (MDR). Найвищу ефективність показав екстракт *Ficaria verna* 70%, зона затримки росту культури мікроорганізму становила 18,6 мм.

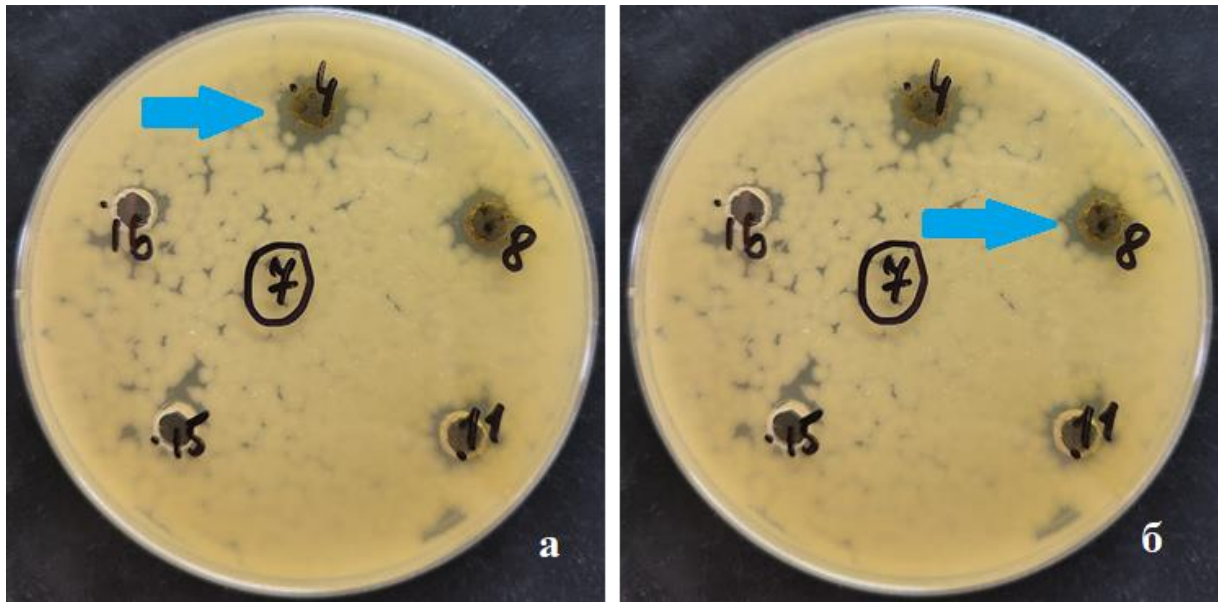


Рисунок 6.2 – Протимікробна дія екстрактів щодо клінічного штаму *Bacillus cereus* 34 (non-MDR) (метод дифузії в агар): а - *Caltha palustris* L. 90%; б - *Ficaria verna* Huds. 90% ;

Найвищу антимікробну дію відносно культури *Bacillus cereus* 34 (non-MDR) проявили екстракти *Caltha palustris* L. 90 % та *Ficaria verna* Huds. 90%. Зона затримки росту культури *Bacillus cereus* 34 (non-MDR) біля лунки з екстрактом *Caltha palustris* L. 90 % становила 10,1 мм, а біля лунки з екстрактом *Ficaria verna* Huds. 90 % 11,0 мм, що свідчить про його кращу антимікробну дію відносно *Bacillus cereus* 34 (non-MDR).



Рисунок 6.3 – Протимікробна дія *Ranunculus acris* L. 70 % щодо клінічного штаму *Staphylococcus aureus* (MRSA) 23.

Протимікробну дію відносно клінічного штаму *Staphylococcus aureus* (MRSA) 23 проявив лише екстракт *Ranunculus acris* L. 70 %. Зона затримки росту бактерії становила 11,1 мм.

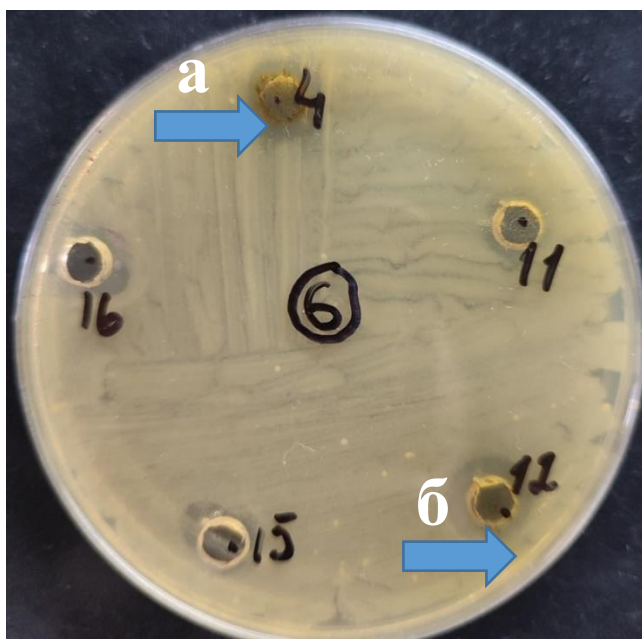


Рисунок 6.4 – Протимікробна дія екстрактів щодо клінічного штаму *Pseudomonas putida* 182 (PDR)(метод дифузії в агар): а – *Caltha palustris* L. 90 %; б – *Ranunculus acris* L. 90 %.

Щодо клінічного штаму *Pseudomonas putida* 182 (PDR) найвищу активність проявили екстракти *Caltha palustris* L. 90 % та *Ranunculus acris* L. 90 %. Діаметр

затримки росту мікроорганізму навколо їхніх лунок становив 11,0 мм для кожного.

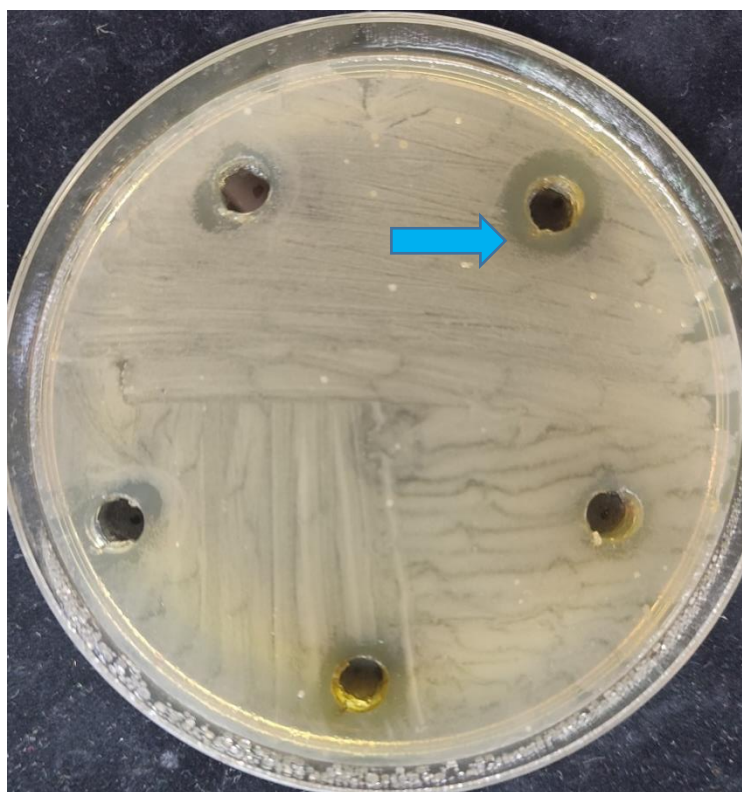


Рисунок 6.5 – Протимікробна дія *Ranunculus acris* L. 70% щодо клінічного штаму *Escherichia Coli* 168.

Відносно клінічного штаму *Escherichia Coli* 168 найефективнішим був *Ranunculus acris* L. 70 % із зоною затримки росту 10,0 мм.

Всі дані щодо діаметрів затримки росту мікроорганізмів при дослідженні протимікробної активності екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту наведено у таблиці 6.3 (Додаток А.8).

Як видно з отриманих результатів найвищу протимікробну активність екстракти трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складний екстракт проявили щодо клінічних штамів мікроорганізмів. Найефективнішими виявились екстракти отримані з 70% та 90% водно-етанольних розчинів. Екстракти отримані з 20% та 40% водно-етанольних розчинів не проявили жодної протимікробної дії відносно досліджуваних мікроорганізмів.

Метод серійних розведень (Resazurin Reduction-Based Assay) полягає у внесенні в 96-лункову планшетку 50 мкл поживного середовища (бульйон Мюллера-Хінтона), 100 мкл досліджуваного екстракту та 50 мл суспензії мікроорганізму (McFarland 2.0), з додаванням 15 мкл 0,02% резазурину в кожному лунку.

Ріст культур мікроорганізмів спричиняє зміну забарвлення резазурину у бульйоні з синього на прозорий. Колір індикатора залишається синім у лунках, де ріст мікроорганізмів був пригнічений досліджуваними екстрактами ЛРС. Після 24 годин інкубації з кожної лунки проводили посів на тверде поживне середовище, для визначення мінімальної бактерицидної концентрації.

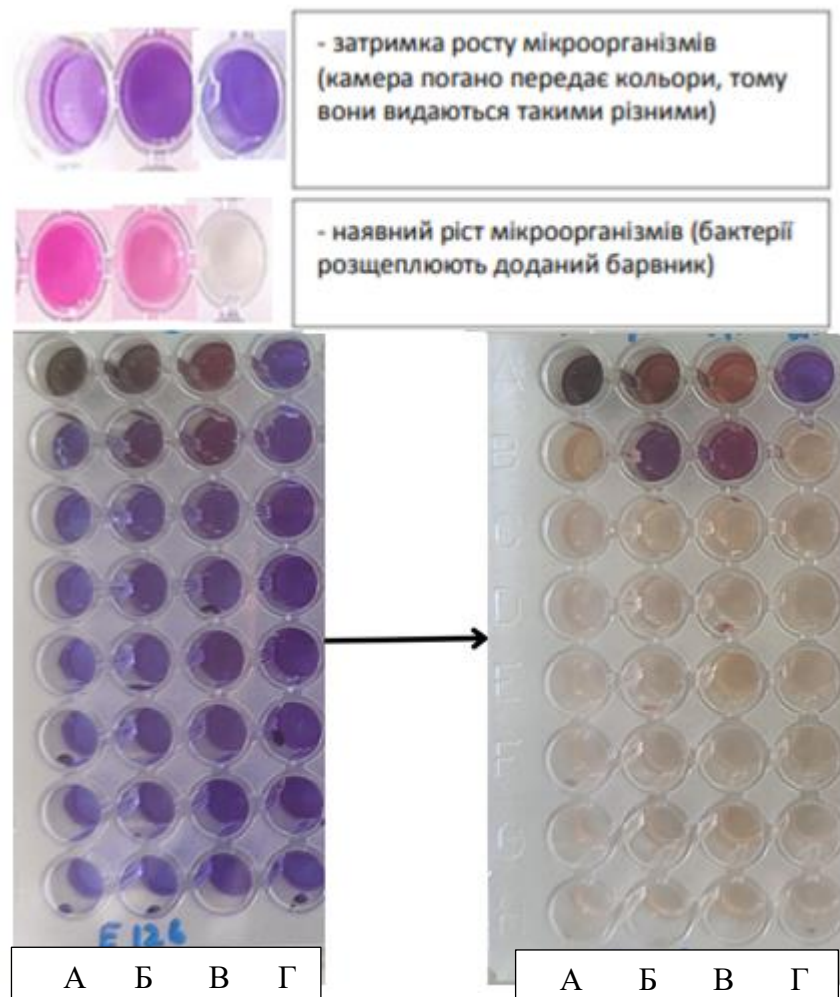


Рисунок 6.6 – Протимікробна дія екстрактів щодо клінічного штаму

Enterococcus faecalis 26 (MDR)(метод серійних розведень):

а - *Caltha palustris* L. 70 %; б - *Ficaria verna* Huds.70 %;

в - *Ranunculus acris* L. 90 %; г – складний екстракт.

За результатами досліджень встановили, що 70 % екстракти *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., 90% екстракт *Ranunculus acris* L. та складний екстракт проявляють селективну протимікробну дію щодо *Enterococcus faecalis* 26.

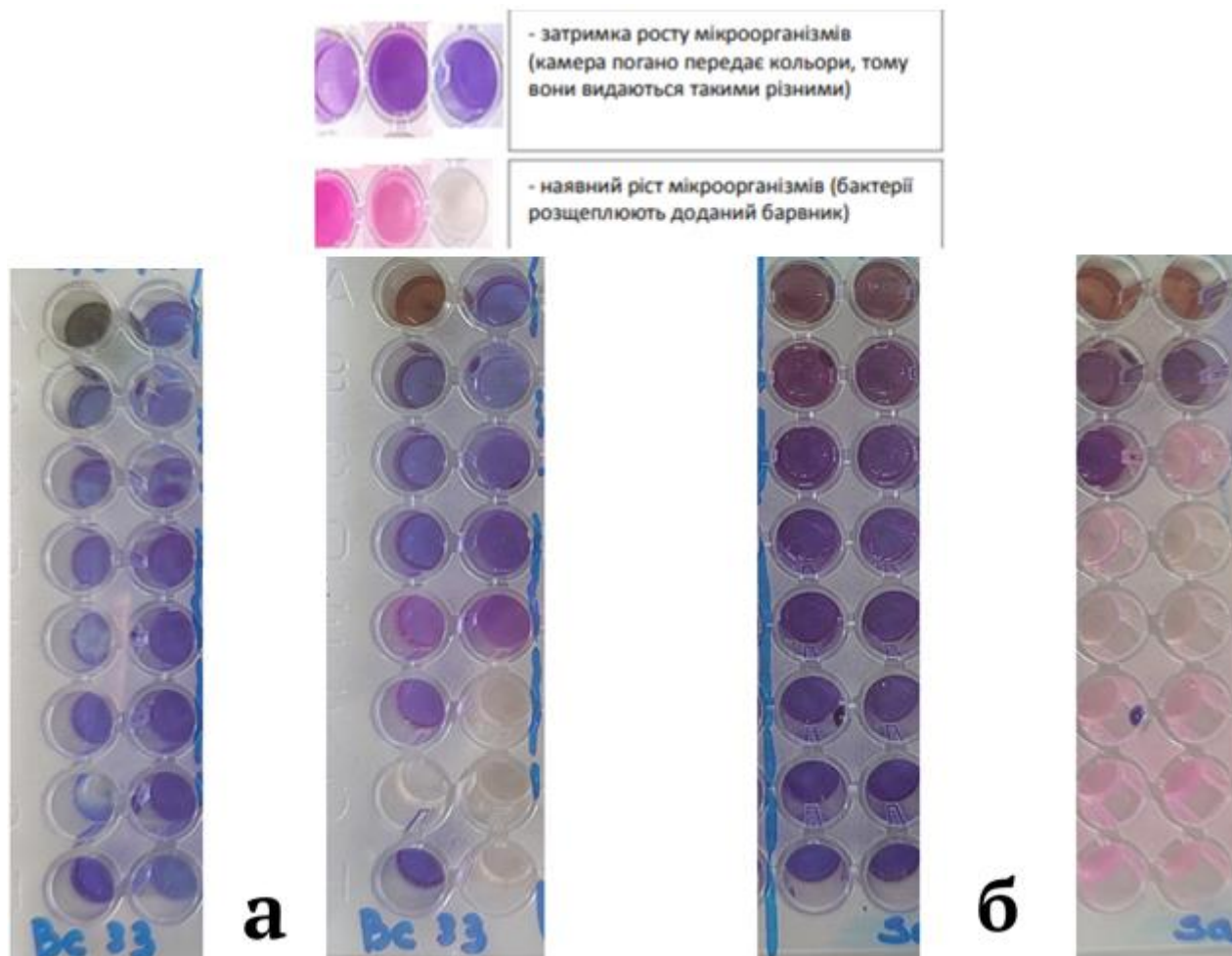


Рисунок 6.7 – Протимікробна дія екстрактів щодо клінічних штамів мікроорганізмів (метод серійних розведень):

а- *Bacillus cereus* 34 (non-MDR) (*Caltha palustris* L. 90 %);

б - *Staphylococcus aureus* (MRSA) 23(*Ranunculus acris* L. 70 %);

Відносно клінічного штаму *Bacillus cereus* 34 селективну протимікробну дію проявляє 90 % екстракт *Caltha palustris* L. Протимікробну дію щодо *Staphylococcus aureus* (MRSA) 23 проявляє екстракт *Ranunculus acris* L. 70 %.

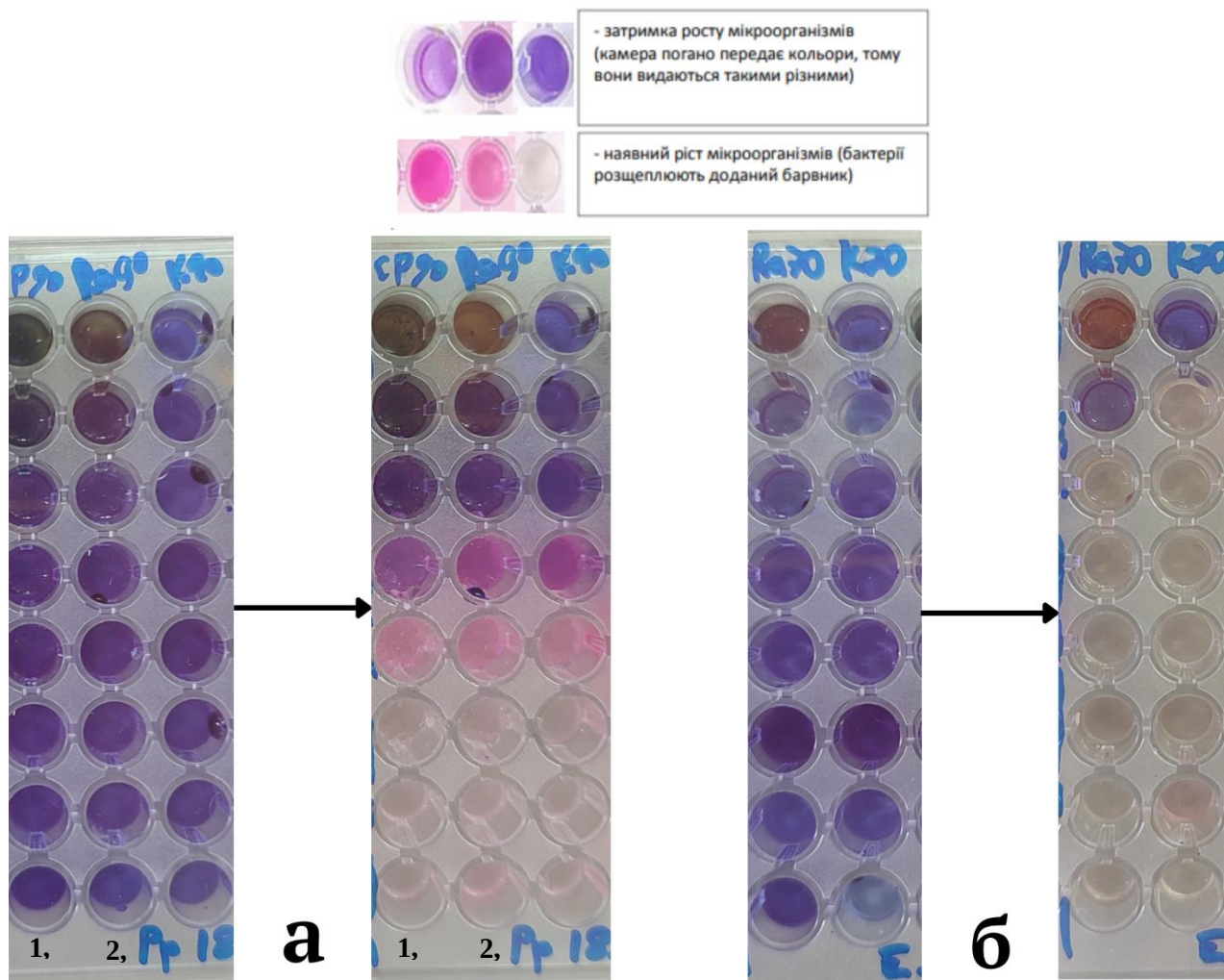


Рисунок 6.8 – Протимікробна дія екстрактів щодо клінічних штамів грам-негативних бактерій (метод серійних розведень):

а – *Pseudomonas putida* 182 (PDR) (1- *Caltha palustris* L. 90 %; 2 – *Ranunculus acris* L. 90 %);

б – *Escherichia coli* 168 (*Ranunculus acris* L. 70 %).

Селективну протимікробну дію відносно *Pseudomonas putida* 182 (PDR) проявляють 90% екстракти *Caltha palustris* L. та *Ranunculus acris* L. Щодо штаму *Escherichia coli* 168 протимікробну активність проявляє екстракт *Ranunculus acris* L. 70%.

Результати проведеного дослідження, щодо виявлення протимікробної активності екстрактів методом серійних розведень представлено у Таблиці 6.4.

Таблиця 6.4 – Протимікробна дія (мінімальна інгібуюча концентрація - МІК) водно-етанольних екстрактів з трави *Caltha palustris*, трави *Ficaria verna*, трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту

Види мікроорганізмів	Досліджуваний екстракт						Контроль, водно-етанольний розчин, %	
	<i>Caltha palustris</i> L. 70%	<i>Ficaria verna</i> Huds. 70%	<i>Ranunculus acris</i> L. 70%	<i>Caltha palustris</i> L. 90%	<i>Ranunculus acris</i> L. 90%	Складний екстракт	70	90
<i>Enterococcus faecalis</i> 26	1:1	1:2	-	-	1:2	1:1	n/a	-
<i>Bacillus cereus</i> 34	-	-	-	1:32	-	-	-	1:4
<i>Pseudomonas putida</i> 182 (PDR)	-	-	-	1:8	1:8	-	-	n/a
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	1:4	-	-	-	-	1:2
<i>Escherichia Coli</i>	-	-	1:2	-	-	-	-	1:1

-` not tested; n/a: no activity нема активності

Водно-етанольні (70 %) екстракти трави *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. (90 %) та складний екстракт проявили високу антимікробну активність відносно мікроорганізму *Enterococcus faecalis* 26. Найкращий результат показав 70% екстракт трави *Caltha palustris* L. 1:1 та складний екстракт.

Найкращу протимікробну дію серед тестованих екстрактів проявив екстракт трави *Caltha palustris* L. (90%) щодо *Bacillus cereus* 34, мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) екстракту була в розведенні 1:32.

Перспективними для подальшого вивчення є дослідження протимікробної дії 90 % водно-етанольних екстрактів трави *Caltha palustris* L. та трави *Ranunculus acris* L. щодо *Pseudomonas putida* 182 (PDR).

Результати

Екстракти *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. та складний екстракт проявили антимікробну активність щодо грам позитивних та грам негативних мікроорганізмів. Найбільшу активність відносно Грам позитивних мікроорганізмів (клінічний штам стафілококів) проявили 70% екстракти *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. (таблиця 6.3). Антимікробну активність відносно клінічних штамів бацил проявляли 90 % екстракт *Caltha palustris* L. та 90 % екстракт *Ficaria verna* Huds. (таблиця 6.3). Щодо клінічного штаму *Enterococcus faecalis* найвищу активність показали 90% екстракти *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L., 70 % екстракти *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та складний екстракт (таблиця 6.3).

При застосуванні методу серійних розведень встановлено, що більшість досліджуваних 90 % та 70 % екстрактів ЛРС та складний екстракт у розведенні 1:1 володіють бактерицидною дією.

20 % та 40 % екстракти *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. не проявили вираженої протимікробної дії (таблиця 6.4).

Таким чином, 70 % та 90 % екстракти *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. та складний екстракт проявляють протимікробну активність щодо грам позитивних та грам негативних мікроорганізмів.

6.3. Вивчення протигрибкової активності досліджуваних екстрактів

Визначення протигрибкової активності екстрактів *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. та складного екстракту проводили методом дифузії в агар – метод «колодязів» [167, 168].

Протигрибкову активність визначали за допомогою стандартних культур дріжджових грибів *Candida albicans* (ATCC 885-653) та клінічних ізолятах *Candida albicans* 169 (резистентна до ністатину та азолів) з музею

культур збудників інфекційних хвороб кафедри мікробіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Дослідження проводили методом «дифузії в агар» [158]. Мікробне навантаження становило близько 10^5 КУО/мл. Суспензії з культури гриба роду *Candida* готували в окремих пробірках у фізіологічному розчині *ex tempore*. Концентрацію мікроорганізмів у суспензії встановлювали за стандартом каламутності № 5 (McFarland). Оцінку активності екстрактів проведено з урахуванням бактерицидної дії водно-етанольних розчинів. Тестування проводили у трьох повторах. Статистичну обробку виконували за допомогою комп'ютерної програми пакета статистичних функцій програми Microsoft Excel, 2019. Визначали середню арифметичну величину M , похибку середньої арифметичної m , число спостережень n , t -критерій Стюдента. Результати дослідження представлені на рисунках 6.8 та 6.9 і у таблиці 6.5.

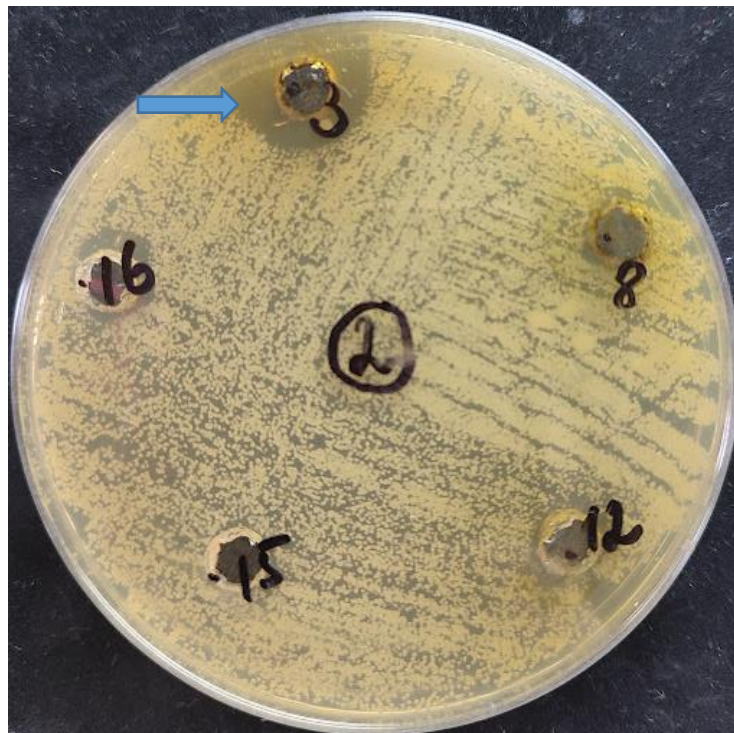


Рисунок 6.8 – Протигрибкова дія 70% екстракту *Caltha palustris* L. щодо клінічного штаму *Candida albicans* 169, метод дифузії в агар.



Рисунок 6.9 – Протигрибкова дія складного екстракту щодо клінічного штаму *Candida albicans* 169, метод дифузії в агар.

Таблиця 6.5 – Протигрибкова активність водно-етанольних екстрактів з трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту

Штами мікроорганізмів	Діаметр затримки росту, мм												
	<i>Caltha palustris</i> L.				<i>Ficaria verna</i> Huds.				<i>Ranunculus acris</i> L.				Складний екстракт
	20	40	70	90	20	40	70	90	20	40	70	90	-
<i>Candida albicans</i> (ATCC 885-653)	0	0	9,0 ±0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Candida albicans</i> 169	0	0	14,5 ±0,3	0	0	0	0	0	0	0	0	8,0 ±0,1	11,0 ±0,3

В результаті досліджень виявлено, що 70 % екстракт трави *Caltha palustris* L., 90 % екстракт трави *Ranunculus acris* L. та складний екстракт проявили

протигрибкову активність. Клінічні штами проявили більшу чутливість до досліджуваного екстракту, ніж референтні штами грибів *Candida albicans*. 20%, 40% та 90% екстракти *Caltha palustris* L., *Ranunculus acris* L. та екстракти *Ficaria verna* Huds. не проявили протигрибкової активності (таблиця 6.5).

Згідно з проведенням дослідження, встановили, що найвищі протигрибкові показники щодо дріжджових грибів *Candida albicans* 169 характерні для 70% водно-етанольного екстракту *Caltha palustris* L. та складного екстракту.

6.4. Вивчення антиоксидантної дії

Визначення антиоксидантної дії екстрактів *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. та складного екстракту проводили використовуючи радикал 2,2-дифеніл-1-пікрилгідрозил (ДФПГ) та катіон-радикала АБТС.

6.4.1. Дослідження радикал-поглинальної активності

Дослідження радикал-поглинальної активності здійснювали за допомогою радикалу ДФПГ. При наявності антиоксидантів вільнорадикальний центр ДФПГ гаситься і в результаті цього розчин втрачає фіолетове забарвлення.

Дослідження антиоксидантної дії проведено за допомогою модифікованого методу спектрофотометричного визначення радикал-поглинальної активності. На першому етапі дослідження отримували свіжоприготовлений розчин 0,1 мМ ДФПГ. На наступному етапі до 500 мкл досліджуваного екстракту додавали 4,5 мл розчину ДФПГ та інкубували протягом 30 хвилин у темному місці при кімнатній температурі. Після цього проводили дослідження на спектрофотометрі «Specord M-40» за довжини хвилі 517 нм. В якості контрольного зразка використовували етанол.

Радикал-поглинаючий ефект обчислювали у відсотках (%) та будували графік залежності радикал-поглинальної активності від концентрації екстрагенту для кожного досліджуваного рослинного екстракту. Розрахунок антиоксидантної активності проводили за формулою 6.1:

$$A[\%] = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \cdot 100\% \quad (6.1)$$

де A_{control} оптична густина вихідного розчину ДФПГ, A_{sample} оптична густина зразка з розчином ДФПГ. Проведено 3-кратне вимірювання [125, 130, 159, 160]. Результати дослідження наведені в таблиці 6.6 та рисунку 6.10.

Таблиця 6.6 – Активність екстрактів *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. та складного екстракту щодо поглинання радикалів ДФПГ

Досліджуваний екстракт	Концентрація водно-етанольного розчину, %	Антиоксидантна активність, % (ДФПГ) $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}, n = 3$
<i>Caltha palustris</i> L.	20	54,39±0,0
	40	50,87±0,11
	70	77,19±0,14
	90	63,15±0,08
<i>Ficaria verna</i> Huds.	20	51,68± 0,12
	40	50,88± 0,16
	70	60,94± 0,18
	90	56,85± 0,14
<i>Ranunculus acris</i> L.	20	46,32± 0,21
	40	49,19± 0,18
	70	58,92± 0,16
	90	54,71± 0,22
Складний екстракт	-	67,68± 0,16

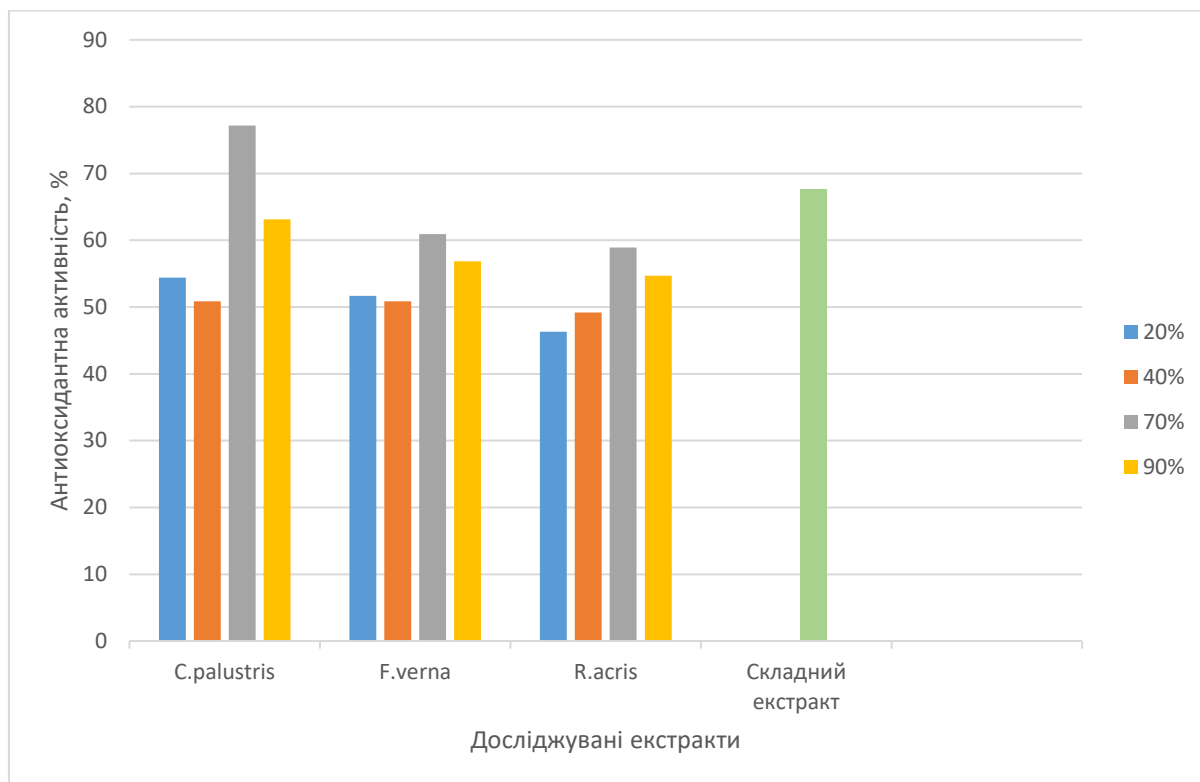


Рисунок 6.10 – Активність екстрактів *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. та складного екстракту щодо поглинання радикалів ДФПГ.

Згідно з отриманими даними видно, що екстракти *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. та складний екстракт проявляють високу антиоксидантну активність. Найвищою антиоксидантною властивістю володіє 70 % екстракт *Caltha palustris* L. Значну антиоксидантну дію проявили складний екстракт, 90 % екстракт трави *Caltha palustris* L., 70 % екстракт трави *Ficaria verna* Huds. і 70 % екстракт трави *Ranunculus acris* L.

6.4.2. Визначення за знебарвленням катіон-радикала АБТС.

Ефект поглинання вільних радикалів екстракту визначали за допомогою аналізу знебарвлення катіон-радикалу АБТС. Основний розчин готували шляхом додавання 10 мл 0,014 мМ розчину АБТС до розчину персульфату калію (приготовленого розчиненням 0,0135 г $K_2S_2O_8$ в 10 мл води). Отриману суміш перемішували і залишали в темному місці за кімнатної температури на 20 год. Таким чином отримали катіон-радикал АБТС (АБТС*). Після цього готуємо розведений розчин АБТС* (А control) – 1 мл розчину розводять до 100 мл водою.

Досліджуваний екстракт змішували з розведеним розчином АБТС* (A sample) та вимірювали коефіцієнт поглинання. Дослідження проводили на спектрофотометрі «Specord M-40» при довжині хвилі 734 нм. Всі виміри проводили тричі. Відсоток інгібування поглинання було розраховували, використовуючи рівняння що наведено вище [160-163]. Радикал-поглинальний ефект обчислювали у %. Результати дослідження представлені в таблиці 6.7 та на рисунку 6.11

Таблиця 6.7 – Активність екстрактів *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. та складного екстракту щодо знебарвлення катіон-радикала АБТС

Досліджуваний екстракт	Концентрація водно- етанольного розчину, %	Ефект поглинання вільних радикалів, % (АБТС), $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}, n = 3$
<i>Caltha palustris</i> L.	20	38,59±0,21
	40	36,84±0,19
	70	63,15±0,13
	90	47,36±0,26
<i>Ficaria verna</i> Huds.	20	42,03± 0,14
	40	48,53± 0,16
	70	55,71± 0,09
	90	48,57± 0,24
<i>Ranunculus acris</i> L.	20	41,42± 0,36
	40	37,14± 0,18
	70	55,71± 0,24
	90	42,85± 0,21
Складний екстракт		62,14± 0,18

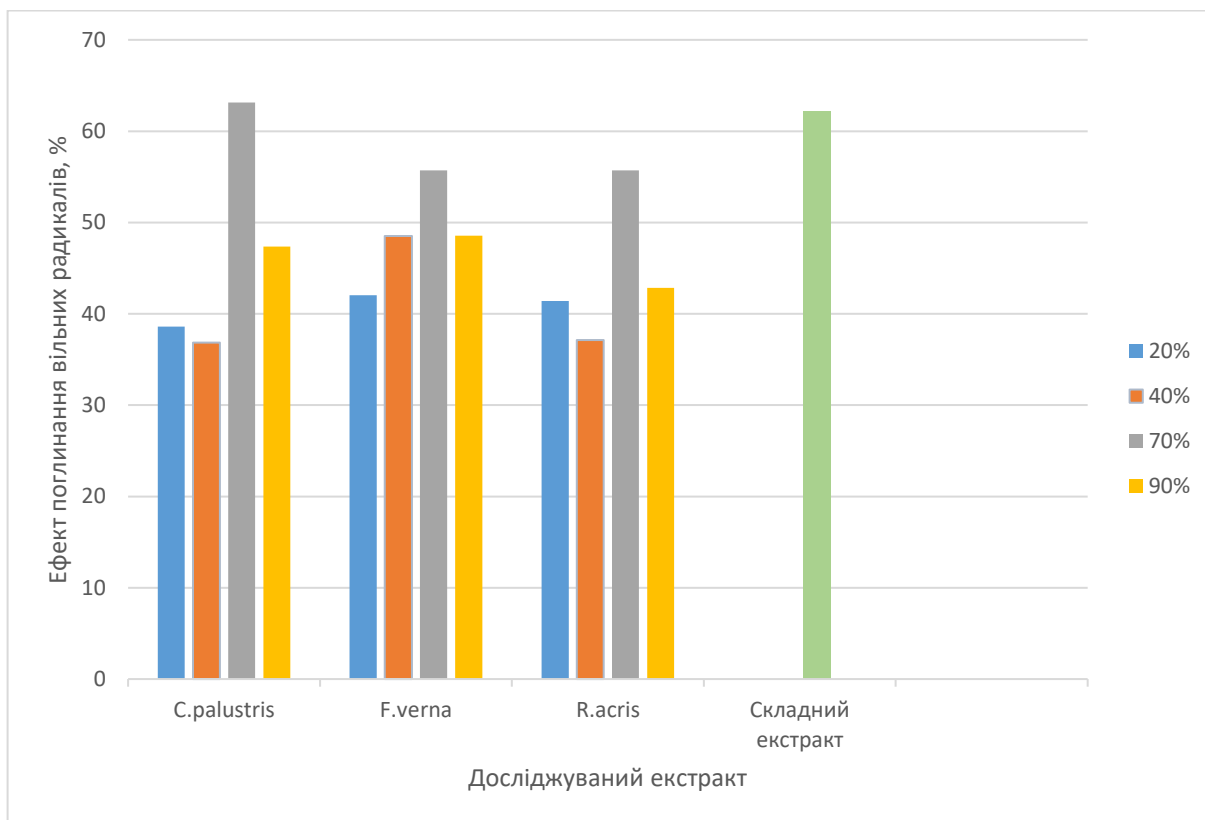


Рисунок 6.11 – Активність екстрактів *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. та складного екстракту щодо знебарвлення катіон-радикалу АБТС

Аналіз отриманих результатів дослідження свідчить про достатньо високий рівень антиоксидантної дії досліджуваних екстрактів. Найкращу антиоксидантну дію проявляють екстракти з трави *Ficaria verna* Huds. Найвищі показники антиоксидантної дії проявили 70% екстракт трави *Caltha palustris* L. та складний екстракт.

6.4.3. Дослідження показників оксидативного стресу на тваринних тканинах

Оцінку активності екстрактів проведено з урахуванням бактерицидної дії етанолу відповідної концентрації: К1 – 70 % водно-етанольний екстракт *Caltha palustris* L., К2 – 70 % водно-етанольний екстракт трави *Ficaria verna* Huds., К3 – 70 % водно-етанольний екстракт *Ranunculus acris* L., складний екстракт. Тестування проводили у трьох повторях. Статистичну обробку виконували за допомогою комп'ютерної програми пакета статистичних функцій програми

Microsoft Excel, 2019. Визначали середню арифметичну величину M , похибку середньої арифметичної m , t -критерій Стьюдента.

Для екстрактів що показали найвищу активність, проводили дослідження пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) та окисної модифікації білків (ОМБ) у гомогенаті печінки щура.

До 0.5 г розмороженої та подрібненої тканини печінки щура додавали 5 мл калій-фосфатного буферу. До 0.3 мл отриманого гомогенату додавали 0.3 мл досліджуваних екстрактів, а у контроль – відповідні їм розчинники. Для індукції ПОЛ додавали 0.3 мл 2.8 % розчину FeSO_4 та через 10 хв 0.3 мл 4 % розчину H_2O_2 і інкубували 2 год. Реакцію зупиняли за допомогою 1,2 мл 40 % трихлороцтової кислоти, яка одночасно осаджує білки, після чого проводили центрифугування протягом 10 хв при 5000g. Визначення обох показників оксидативного стресу здійснювали в одній пробі – вміст ТБК-активних продуктів визначати в супернатанті, а КГ – в осаді за методикою В.І. Луцака [164].

Визначення ТБК-активних продуктів. У відібраних зразках реакцією МДА з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) визначали вміст ТБК-активних продуктів (ПОЛ). При високій температурі в кислому середовищі МДА реагує з ТБК, утворюючи забарвлений триметиновий комплекс з максимумом поглинання $\lambda=532$ нм. До 2 мл супернатанту додавали 1,5 мл 0,8 % розчину ТБК в 0,1М HCl ($\text{pH}=2.5$) та інкубували на водяній бані при температурі 95-100 °C протягом 60 хв. Після охолодження додавали 3 мл бутанолу, центрифугували впродовж 10 хв. при 5000g. Вимірювання екстинкції проводили у верхньому бутаноловому шарі при $\lambda=532$ нм. Кількість білка у пробах визначали за методом Лоурі (Lowry, 1951). Обрахунок проводили за формулою 6.2:

$$[\text{ТБКАП}] = \frac{E \cdot V_1 \cdot V_2}{\varepsilon \cdot V \cdot C} \text{ мкмоль / мгбілка,} \quad (6.2)$$

де: E – екстинкція дослідної проби; ε – мілімолярний коефіцієнт екстинкції ($\varepsilon = 156 \text{ см}^2/\mu\text{моль}$); V_1 – об'єм бутанолу, мл; V_2 – об'єм проби, мл; V – об'єм супернатанту, мл; C – концентрація білка в супернатанті, $\mu\text{моль}$.

Визначення вмісту КГ білків. Ступінь окисної модифікації протеїнів (ОМП) визначали за кількістю утворених додаткових карбонільних груп (КГ) у бічних ланцюгах амінокислот, вміст яких визначали в реакції з 2,4-динітрофенілгідразином (ДНФГ). Для визначення вмісту КГ білків до отриманих осадів, після центрифугування гомогенатів, додавали 1 мл 1 %-ного розчину ДНФГ на 2М НСІ. Суміш розтирали та інкубували 1 год при кімнатній температурі, після чого центрифугували 10 хв при 5000 g. Осад тричі промивали 1 мл суміші етанолу та етилацетату (1:1) і центрифугували в попередньому режимі. Промитий осад розчиняли протягом 45 хв в 3 мл 50 % розчині сечовини. Нерозчинений матеріал відділяли центрифугуванням в попередньому режимі. В супернатантах визначали вміст КГ білків на спектрофотометрі ULAB 108 UV при довжині хвилі $\lambda=370$ нм (поглинанням світла 2,4-дифенілгідразонами). Обчислювали вміст КГ за формулою 6.3:

$$[КГ] = \frac{\Delta D \cdot V_{проби}}{E_{370}} \text{ нмоль / мгбілка,} \quad (6.3)$$

де: ΔD – значення різниці оптичних густин дослідної та контрольної проб ($\Delta D = D_{\text{досл.}} - D_{\text{контр.}}$); $V_{проби}$ – об'єм проби (3 мл); E_{370} – коефіцієнт молярної екстинції ДНФГ ($22000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$); C – концентрація загального білка, мг/мл.

Дані дослідження обробляли статистично з урахуванням середнього арифметичного M та стандартної похибки SE у вигляді $(M \pm SE)$ при $n=5$. Відмінності між експериментальними даними визначали за допомогою тесту Тьюкі однофакторного аналізу (ANOVA), де відмінності вважалися достовірними при $p < 0,05$ [165].

В результаті проведених досліджень ліпопероксидації та окисної модифікації протеїнів (рис. 6.12, 6.13) було встановлено, що за дії екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L. спостерігаємо значне зниження (достовірне ($p \leq 0,05$) для екстрактів трави *Caltha palustris* L. і трави *Ranunculus acris* L.) вмісту ТБК-активних продуктів та утворення карбонільних груп протеїнів у порівнянні з контролем. Це свідчить про високі антиоксидантні властивості отриманих екстрактів.

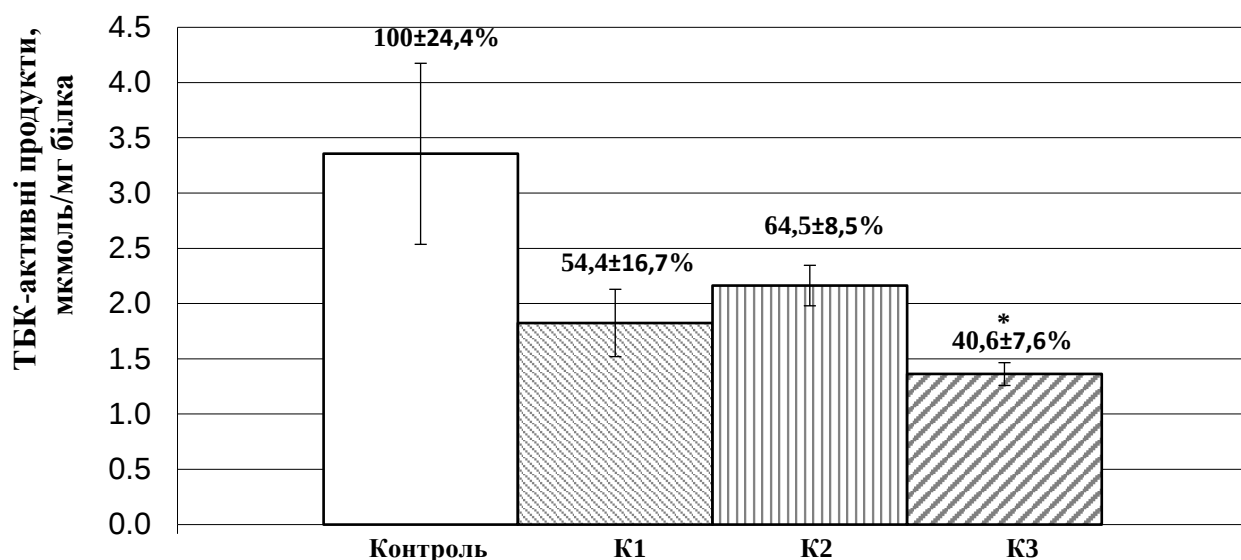


Рисунок 6.12 – Вміст ТБК-активних продуктів в гомогенаті печінки щура за дії екстрактів(*- $p \leq 0,05$; $M \pm SE$; $n=5$)

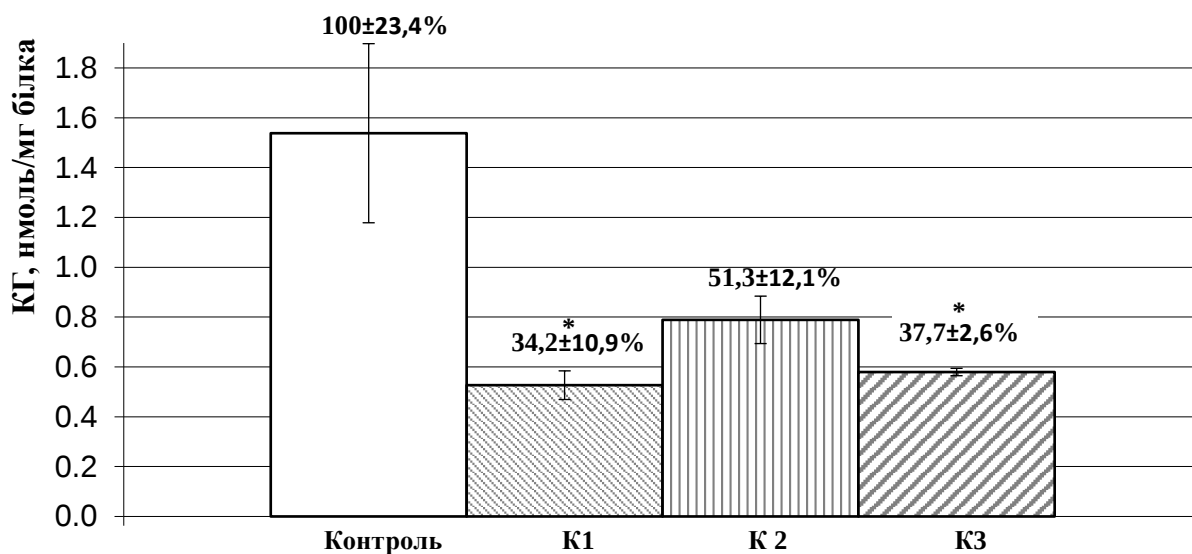


Рисунок 6.13 – Вміст ТБК-активних продуктів в гомогенаті печінки щура за дії екстрактів(*- $p \leq 0,05$; $M \pm SE$; $n=5$)

Як видно з рисунка 6.12, екстракт трави *Caltha palustris* L., у порівнянні з контролем, знижував вміст ТБК-активних продуктів на 46,6 %, екстракт трави *Ficaria verna* Huds. на 35,5 % та екстракт трави *Ranunculus acris* L. на 59,4 %

($p \leq 0,05$). Це свідчить про зменшення рівня перекисного окиснення ліпідів для всіх досліджуваних екстрактів. Ще більшу антиоксидантну дію дані екстракти проявили у процесах окисної модифікації протеїнів. Зниження рівня КГ протеїнів відносно контролю спостерігаємо для екстракту трави *Caltha palustris* L. на 65,8 % ($p \leq 0,05$), для екстракту трави *Ficaria verna* Huds. на 49,7 % та для екстракту трави *Ranunculus acris* L. на 62,3 % ($p \leq 0,05$).

Аналіз отриманих результатів показав, що за дії досліджених екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L. спостерігалось значне достовірне зменшення вмісту ТБК-активних продуктів та КГ протеїнів порівняно з контролем, що свідчить про зниження інтенсивності вільнорадикальних процесів у ліпідах та білках.

При проведенні дослідження перекисного окиснення ліпідів та окисної модифікації білків для складного екстракту (рис. 6.14, 6.15) спостерігали достовірне ($p \leq 0,01$) зниження вмісту ТБК-активних продуктів та утворення карбонільних груп протеїнів у порівнянні з контролем.

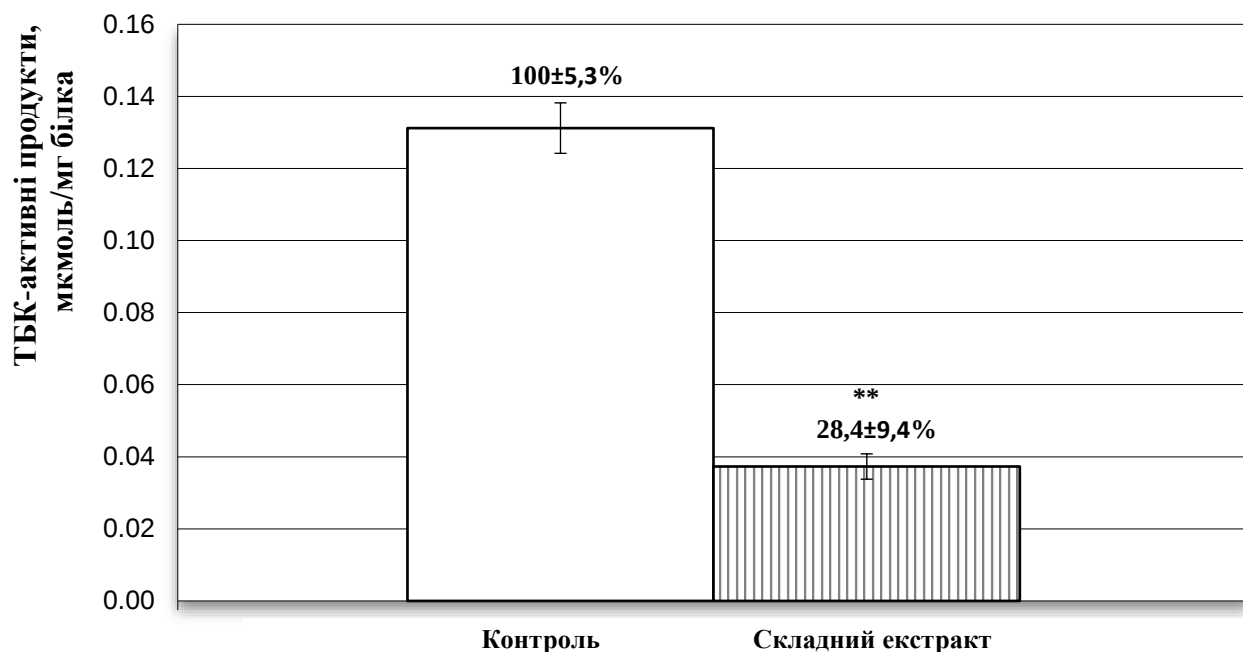


Рисунок 6.14 – Вміст ТБК-активних продуктів в гомогенаті печінки щура за дії складного екстракту (**- $p \leq 0,01$; $M \pm SD$; $n=5$)

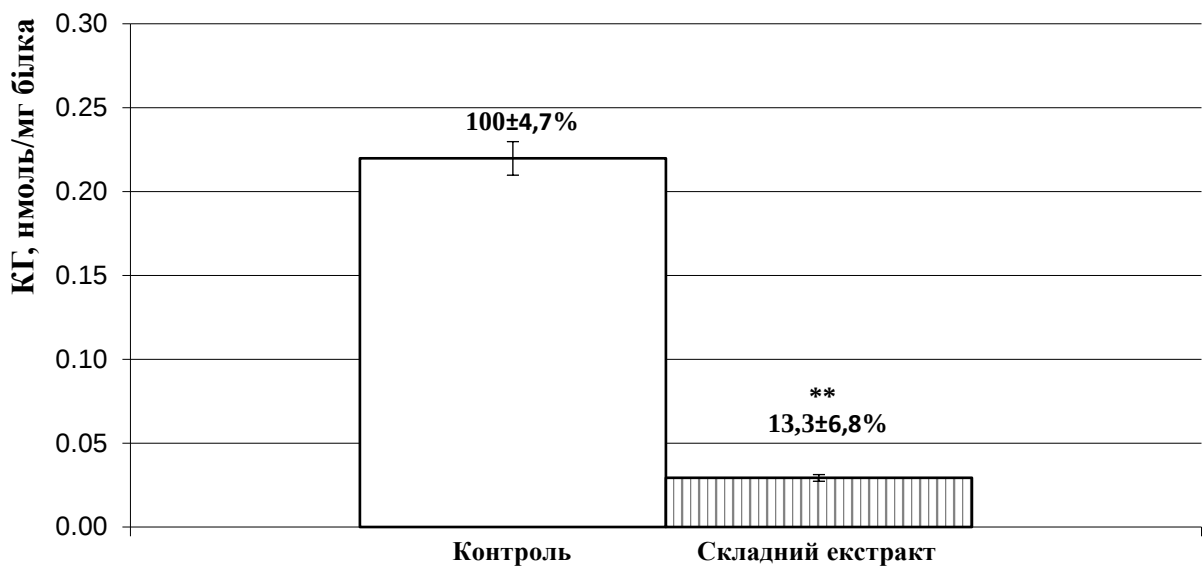


Рисунок 6.15 – Вміст ТБК-активних продуктів в гомогенаті печінки щура за дії складного екстракту (**- $p \leq 0,01$; $M \pm SD$; $n=5$)

Як видно з діаграм, комплекс екстрактів проявив високі антиоксидантні властивості у порівнянні з контролем, де спостерігаємо зниження вмісту ТБК-активних продуктів на 71,6 %. Це свідчить про зменшення рівня перекисного окиснення ліпідів. Таку ж антиоксидантну дію дані екстракти проявили щодо окисної модифікації білків. Зниження рівня КГ протеїнів відносно контролю спостерігаємо на 86,7 % ($p \leq 0,01$). Отже, досліджувані екстракти достовірно знижують рівень ПОЛ та ОМП у порівнянні з контролем.

Досліджувані екстракти трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складний екстракт за двома показниками оксидативного стресу проявили високі антиоксидантні властивості на гепатоцитах печінки щура в умовах ініціювання вільнорадикального окиснення *in vitro*, оскільки здатні зменшувати утворення вільних радикалів у білках та ліпідах.

6.5. Вивчення протизапальної дії екстрактів

Скринінгову оцінку антиексудативної активності екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту проводили використовуючи “карагенінову модель” запального процесу. Дослідження проводили в співпраці з науковцями з Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Механізм розвитку карагенінового набряку полягає в тому, що у розвитку запального процесу беруть участь різні медіатори. У перші 30–90 хв процесу це в основному серотонін і гістамін, через 1,5–2,5 год – кініни, а після 2,5–5,5 год – простагландини.

Дослідження проводили на білих щурах, які були стандартизовані за фізіологічними і біохімічними показниками та знаходилися в умовах віварію згідно з вимогами санітарно-гігієнічних норм на стандартному раціоні.

Роботу з дослідження біологічної дії проводили згідно з міжнародними вимогами (Директива 86 / 609 / ЄС), а також відповідно «Методичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботи з ними» [166, 167].

Для експерименту обрали білих щурів обох статей вагою 180-220 гр. Тварин поділили на 6 груп. Перша група тварин слугувала контролем, їм було введено 0,9 % розчин хлориду натрію. Тваринам другої та третьої групи було введено класичні протизапальні референс-препарати “Диклофенак натрію” та “Кетанов” у середньотерапевтичних дозах (8,0 та 10,0 мг/кг відповідно). Щурам з інших груп вводили тестовані екстракти, в дозі 2 мл/кг. Запальний набряк у тварин відтворювали субплантарним (під апоневроз підшви правої задньої кінцівки тварини) введенням 0,1 мл 2,0 % розчину карагеніну (Sigma-Aldrich, США).

Усі препарати та екстракти вводили за 40 хвилин до ін’єкції карагеніну. Присутність запального процесу визначали онкометричним методом оцінюючи зміну об’єму кінцівки на початку досліду та через чотири години. Для порівняння проаналізували антиексудативні показники активності відомих протизапальних засобів: диклофенаку та кетанову.

Значення антиексудативної активності виражали у відсотках через відношення приросту об'єму лапи до початку експерименту, а також через показник пригнічення запальної реакції, який розраховували за формулою 6.4:

$$\text{Показник пригнічення запальної реакції, \%} = \frac{\Delta V_{\text{ГК}} - \Delta V_{\text{ДГ}}}{\Delta V_{\text{ГК}}} * 100 \% \quad (6.4)$$

де, $\Delta V_{\text{ГК}}$ та $\Delta V_{\text{ДГ}}$ – середні значення різниці об'ємів набряклої і здорової кінцівок в групі контролю та дослідній групі відповідно.

Узагальнені результати дослідження протизапальної активності наведені в таблиці 6.8. та на рисунку 6.16.

Таблиця 6.8 – Протизапальна активність отриманих екстрактів та референс- препаратів на карагеніновій моделі запального набряку кінцівки білих щурів

Об'єкт дослідження	Доза, мг/кг	Відсоток приросту об'єму задньої кінцівки щура на 4-ту год.	Показник пригнічення запальної реакції, %
Контроль	-	125,5	-
Диклофенак	8,0	70,1	44,1
Кетанов	10,0	79,2	36,9
Екстракт <i>Caltha palustris</i> L. (40 %)	2,0	141,3	-
Екстракт <i>Caltha palustris</i> L. (70 %)	2,0	121,8	7,19
Екстракт <i>Ficaria verna</i> Huds. (40 %)	2,0	119,8	6,05
Екстракт <i>Ficaria verna</i> Huds. (70 %)	2,0	118,6	8,49

Екстракт <i>Ranunculus acris</i> L. (40 %)	2,0	115,8	6,65
Екстракт <i>Ranunculus acris</i> L. (70 %)	2,0	114,6	6,3
Складний екстракт	2,0	109,7	10,6

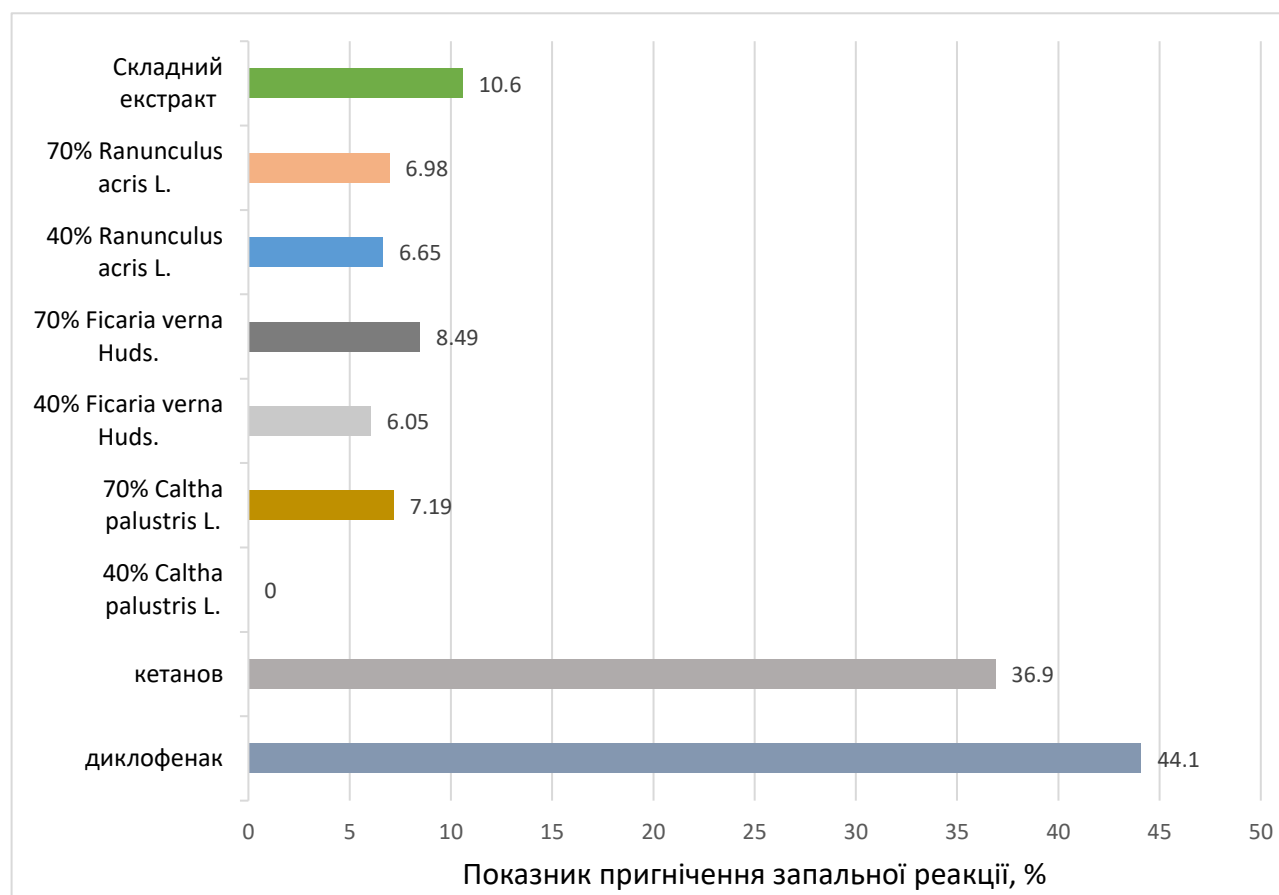


Рисунок 6.16 – Показники пригнічення запальної реакції досліджуваних екстрактів та референс- препаратів на карагеніновій моделі запального набряку кінцівки білих щурів

Всі досліджувані екстракти показали відносно невисокий рівень протизапальної активності відносно референс-препаратів. Серед тестованих

екстрактів найкращий рівень протизапальної активності продемонстрував складний екстракт, показник пригнічення запальної реакції, якого становив 10,6%. Екстракти трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. виявили помірний протизапальний ефект на карагеніновій моделі запального набряку кінцівки білих щурів.

6.6. Дослідження гепатопротекторної дії

Вивчення гепатопротекторних властивостей екстрактів трави *Caltha palustris* L. трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту проводили на моделі гострого тетрахлорметан-індукованого токсичного гепатиту [168-170] Для дослідження використовували 70,0% екстракти трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складний екстракт.

Токсичний вплив тетрахлорметану на клітини печінки пов'язують в першу чергу з прооксидантною дією вільних радикалів, які утворюються внаслідок його метаболізму - трихлорметильного та високореактивного трихлорметилпероксильного. Ці радикали здатні зв'язуватися з клітинними компонентами: білками, ліпідами, нуклеїновими кислотами та ініціювати процеси перекисного окислення [171].

Для експерименту обрали 64 білих щури обох статей лінії «Вістар» масою 180-220 гр. Перед експериментом тварини були поділені на 7 груп по 8 тварин у кожній групі. У першій групі тварини слугували інтактним контролем і отримували звичайний раціон віварію та питну воду. Для тварин з решти груп викликали розвиток гострого токсичного гепатиту, шляхом внутрішньошлункового одноразового введення тетрахлориду метану в дозі 10 мл/кг у вигляді 50 % олійного розчину. Тварин з другої групи використовували як “модельну патологію”, вони не отримували жодного лікування. Тваринам з 3-ої групи проводили лікування референс-препаратом класичним гепатопротекторним лікарським засобом рослинного походження “Карсил” (Sopharma JSC, Болгарія), в дозі 150 мг/кг внутрішньошлунково.

Тварини решти груп отримували 70,0 % екстракти трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складний екстракт, в дозі 2 мл/кг. Оцінку розвитку патологічного процесу у печінці та вплив досліджуваних екстрактів на функції печінки здійснювали визначення в сироватці крові: аспартатамінотрансферази (АСТ); активностей трансаміназ – аланінамінотрансферази (АЛТ), активностей гама-глутамілтрансферази (γ -ГТП), загальної лужної фосфатази (ЛФ) та лактатдегідрогенази (ЛДГ); вмісту загального білка, загального білірубіну, загального холестерину та глюкози.

Для визначення рівнів наведених біохімічних показників використовували автоматичний біохімічний аналізатор CORMAY ACCENT-200 із застосуванням відповідних реагентів виробництва фірми CORMAY (Польща).

Також було здійснено оцінку клінічного прояву гепатиту за поведінкою тварин, станом шкіри, апетитом та консистенцією калових мас. Для проведення експериментальних біохімічних досліджень відбирали кров.

Токсична дія CCl_4 на клітини печінки перш за все пов'язана з прооксидантною дією вільних радикалів, що утворюються в результаті його метаболізму - трихлорметильного CCl_3 та високореактивного трихлорметилпероксильного CCl_3OO . Радикали володіють здатністю зв'язуватися із клітинними компонентами: ліпідами, нуклеїновими кислотами, білками та ініціювати процеси перекисного окислення [179].

Згідно з результатами дослідження встановили, що у тварин групи “модельна патологія” гостре отруєння тетрахлорметаном спричинило достовірне збільшення активності АЛТ, АСТ, ЛФ та ЛДГ в порівнянні до групи інтактних тварин (табл. 6.9, Додаток А. 9, рис. 6.17).

Дані результати свідчать про гострий запальний процес в печінці та цитоліз плазматичних мембран гепатоцитів. Також в уражених тварин спостерігалось недостовірне зниження рівнів глюкози та загального білка, та суттєве, але статистично недостовірне зростання рівнів загального білірубіну та γ -ГТП, а також відмічалось достовірне зростання рівня загального холестерину (табл. 6.9 Додаток А. 9, рис. 6.18).

Така динаміка зміни концентрації метаболітів та активності ферментів спостерігалась у групах тварин, яким вводили досліджувані екстракти трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складний екстракт.

Показники концентрацій вищенаведених біохімічних маркерів функцій та стану печінки після використання досліджуваних екстрактів були дещо меншими, ніж у групі “Модельна патологія”, але істотно не відрізнялись.

Тварини з групи, яка отримувала референс-препарат “Карсил” спостерігали зростання рівнів АЛТ, АСТ та загального холестерину; а також підвищення рівнів загального білірубіну та загального білка у порівнянні з групою «інтактний контроль».

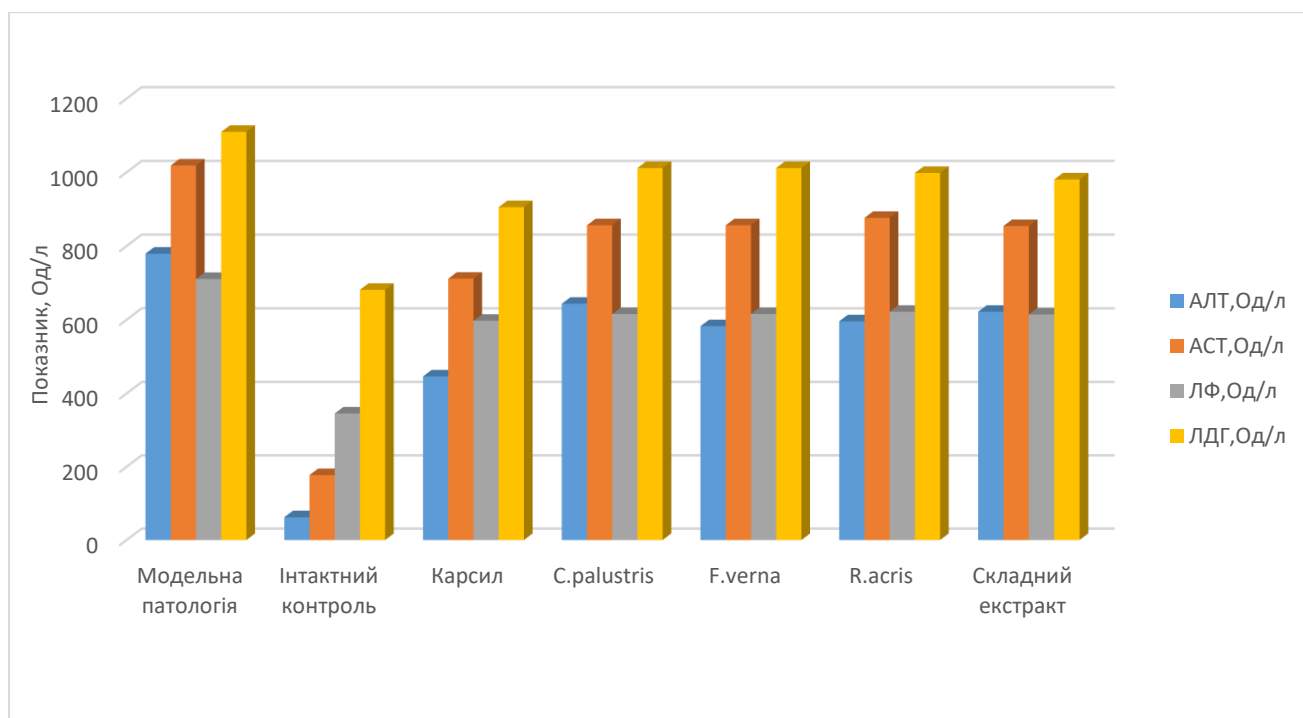


Рисунок 6.17 – Показники рівнів ЛДГ, ЛФ, АЛТ, АСТ в плазмі крові білих щурів при застосуванні екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту на моделі гострого CCl_4 -індукованого токсичного гепатозу

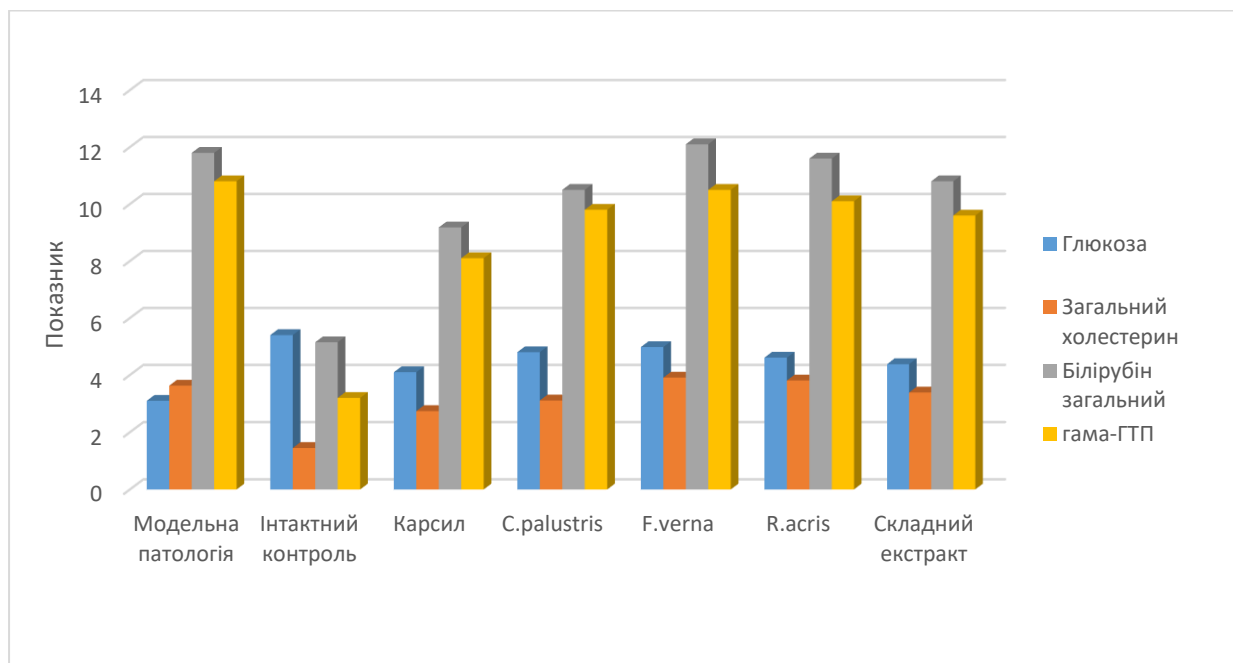


Рисунок 6.18 – Показники рівнів глюкози, загального холестерину, загального білірубину, гама-ГТП в плазмі крові білих щурів при застосуванні екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту на моделі гострого CCl_4 -індукованого токсичного гепатозу.

У групах тварин, де застосовували досліджувані екстракти трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складний екстракт відмічали, що був наявний біохімічний профіль запального процесу з частковим ефектом протекції. Згідно з отриманими даними, рівні АЛТ та АСТ при використанні екстрактів *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. та складного екстракту були достовірно нижчими на 24 % ($p \leq 0,05$), 23 % ($p \leq 0,05$), 25 % ($p \leq 0,05$), 22 % ($p \leq 0,05$) та 19 % ($p \leq 0,05$), 15 % ($p \leq 0,05$), 13 % ($p \leq 0,05$), 16 % ($p \leq 0,05$) відповідно, по відношенню до значень групи “модельна патологія”. По відношенню до рівнів групи «Карсил» значення екстрактів *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. та складного екстракту були вищими на 28 % ($p \leq 0,001$), 27 % ($p \leq 0,001$), 30 % ($p \leq 0,001$), 29 % ($p \leq 0,001$) та 21 % ($p \geq 0,05$), 18 % ($p \geq 0,05$), 19 % ($p \geq 0,05$), 20 % ($p \geq 0,05$), відповідно.

Значення активностей ЛФ, ЛДГ, γ -ГТП при застосуванні екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту були нижчими на 15%, 12%, 14%, 13% для ЛД, 11 %, 9%, 12%, 10% для ЛДГ та 13 %, 10%, 12%, 11% для γ -ГТП відповідно, по відношенню

до значень групи «модельна патологія», а також практично відповідним до рівнів групи «Карсил», але не були статистично вірогідними.

Одночасно, відмічали підвищення рівня глюкози, що було більшим за аналогічний показник в групах «Карсил» та «модельна патологія» при застосуванні досліджуваних екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту на 21 %, 15 %, 17%, 18% відповідно ($p \geq 0,05$).

Таким чином, екстракти екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту виявляли помірні гепатопротекторні властивості та сприяли частковій нормалізації функції печінки. Досліджувані екстракти можуть бути ефективними, як профілактичний лікарський засіб для тривалого застосування при токсичних ураженнях.

6.7. «Зелений синтез» наночастинок з використанням екстракту трави *Caltha palustris* L., екстракту трави *Ficaria verna* Huds. та екстракту трави *Ranunculus acris* L.

Синтез наночастинок з використанням рослинних екстрактів має ряд переваг перед іншими екологічними методами «зеленого» синтезу. Рослинні екстракти є безпечним, доступним та економічно вигідним елементом синтезу у порівнянні з речовинами хімічного синтезу. Рослинна сировина, яка використовується для отримання екстрактів є екологічним матеріалом, що не несе загрози навколишньому середовищу та людству і не потребує спеціальних вимог до утилізації.

«Зелений» синтез відбувається з використанням різноманітних речовин природного походження, зокрема: мікроорганізмів, рослин, окремих частин рослин, рослинних екстрактів та морських водоростей з метою відновлення та стабілізації наночастинок.

Використання рослинних екстрактів у методі "зеленого" синтезу наночастинок металів чи оксидів металів є простим та ефективним процесом для отримання наночастинок у великих масштабах [172]. Наночастинки, отримані шляхом синтезу з використанням екстрактів рослин або фітокомпонентів, мають

важливе значення в розробці різних засобів для профілактики, терапії різноманітних захворювань та діагностики [173].

Використання частин рослин та мікроорганізмів для біогенного «зеленого» синтезу наночастинок металів чи оксидів металів поєднує біологічні принципи з біохімічними підходами для отримання нанорозмірних функціональних частинок з прогнозованими бажаними властивостями [174, 175].

Синтез наночастинок відбувається на основі процесів хімічного відновлення іонів металів за участі сполук відновників [176]. Біомолекули рослин, зокрема білки, ферменти, амінокислоти, полісахариди, алкалоїди та вітаміни, беруть участь у біоредукції, утворенні та стабілізації наночастинок металів [177, 178].

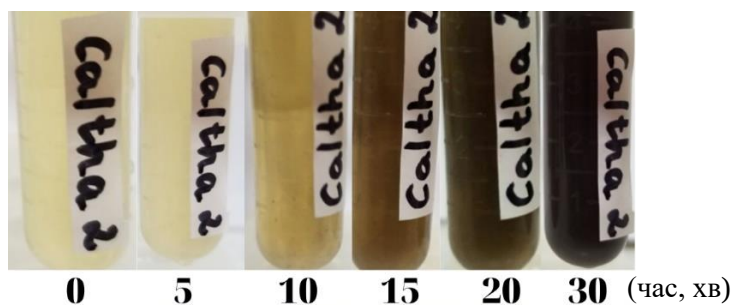
Потенціал здатності рослин до зменшення іонів залежать від присутності фенольних сполук, ферментів та інших хелатоутворюючих речовин та має критичний вплив на кількість утворюваних наночастинок [179, 180].

На першому етапі отримання наночастинок срібла готували екстракт трави *Caltha palustris* L., екстракт трави *Ficaria verna* Huds. та екстракт трави *Ranunculus acris* L. З цією метою використовували свіжозібрану рослинну сировину, яку кілька разів промивали дистильованою водою, сушили повітряно-тіньовим способом та при температурі 18-20 °C.

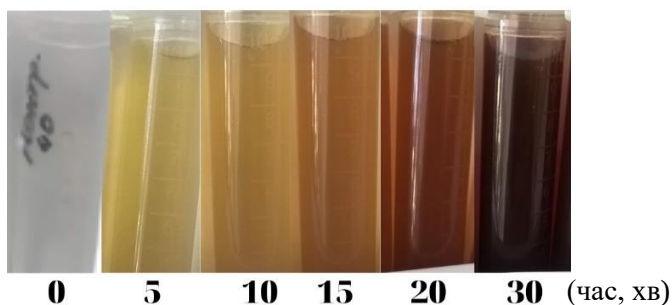
Сушу сировину подрібнювали до розміру частинок 1-3 мм. Наважку 4 грами подрібненої сировини та 50 мл дистильованої води кип'ятили на водяній бані зі зворотнім холодильником протягом 2 годин від початку кипіння. Отриманий екстракт охолоджували до температури 18-20°C та фільтрували крізь фільтрувальний папір.

Наступний етап отримання AgNPs полягає у приготуванні розчину: 5,0 мл отриманого екстракту відповідної рослини змішували з 45,0 мл 0,01 м розчину нітрату срібла при температурі 18-20°C та кожні 5 хв фіксували зміну забарвлення отриманого розчину протягом 30 хв. Зміна забарвлення від блідо-жовтого до темно-коричневого вказувала на утворення наночастинки колоїдного срібла [181, 182].

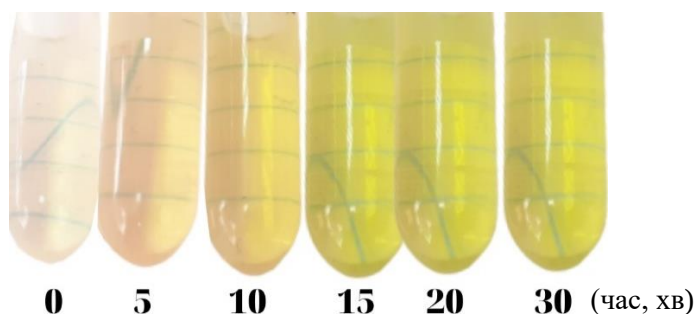
Результати дослідження щодо отримання наночастинок срібла з використанням екстракту трави *Caltha palustris* L., екстракту трави *Ficaria verna* Huds. та екстракту трави *Ranunculus acris* L. представлені на рисунку 6.19.



А. Екстракт трави *Caltha palustris* L.



Б. Екстракт трави *Ficaria verna* Huds.



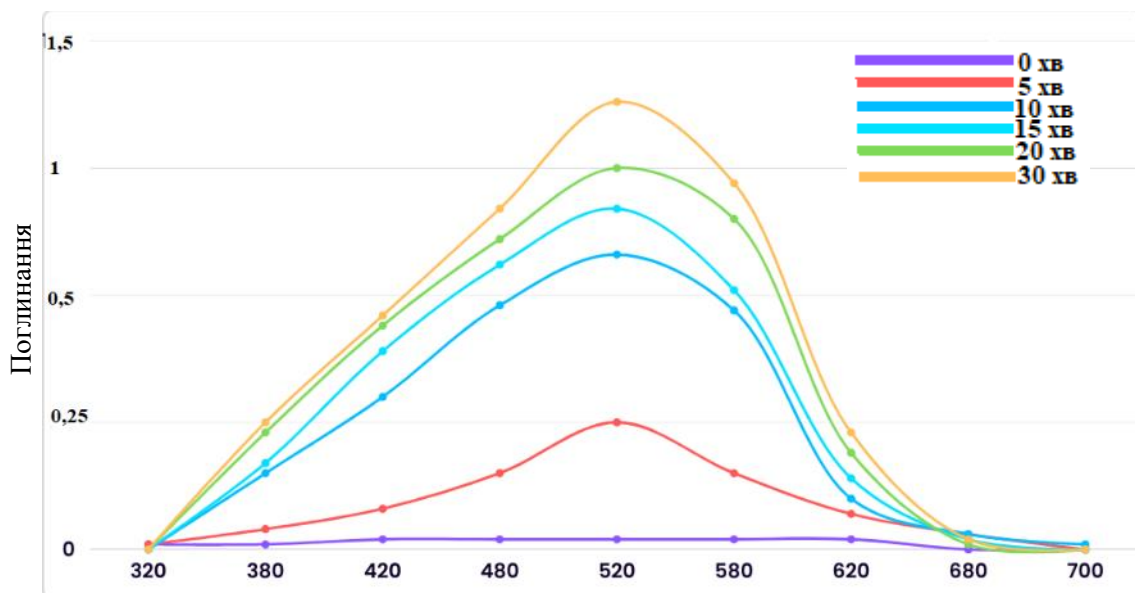
В. Екстракт трави *Ranunculus acris* L.

Рисунок 6.19 – Зміна забарвлення досліджуваних екстрактів при утворенні наночастинок срібла

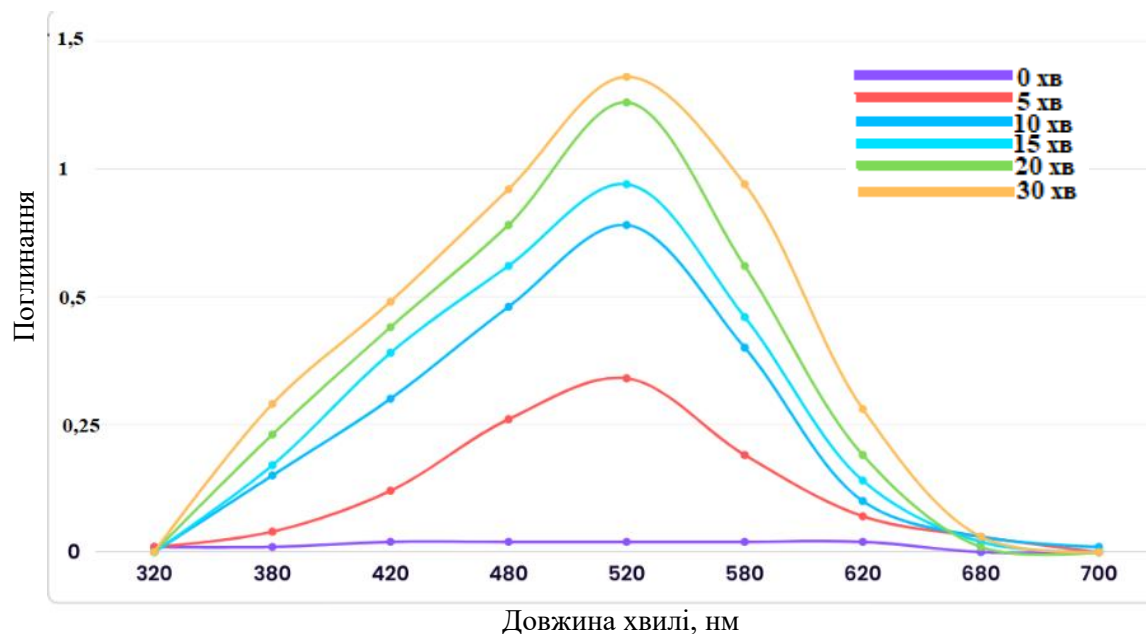
Отримані результати показують, що при додаванні до екстрактів досліджуваних рослин розчину нітрату срібла 0,01 М, колір реакційної суміші змінювався від світло-жовтого до темно-коричневого з екстрактом трави *Caltha palustris* L. та від білого до темно-вишневого з екстрактом трави *Ficaria verna* Huds., що свідчить про утворення наночастинок срібла на 30 хвилині процесу синтезу. Зміна забарвлення реакційної суміші з екстрактом *Ranunculus acris* L.

після 15 хвилини експерименту не спостерігалася, що може свідчити про те, що синтез наночастинок не відбувся.

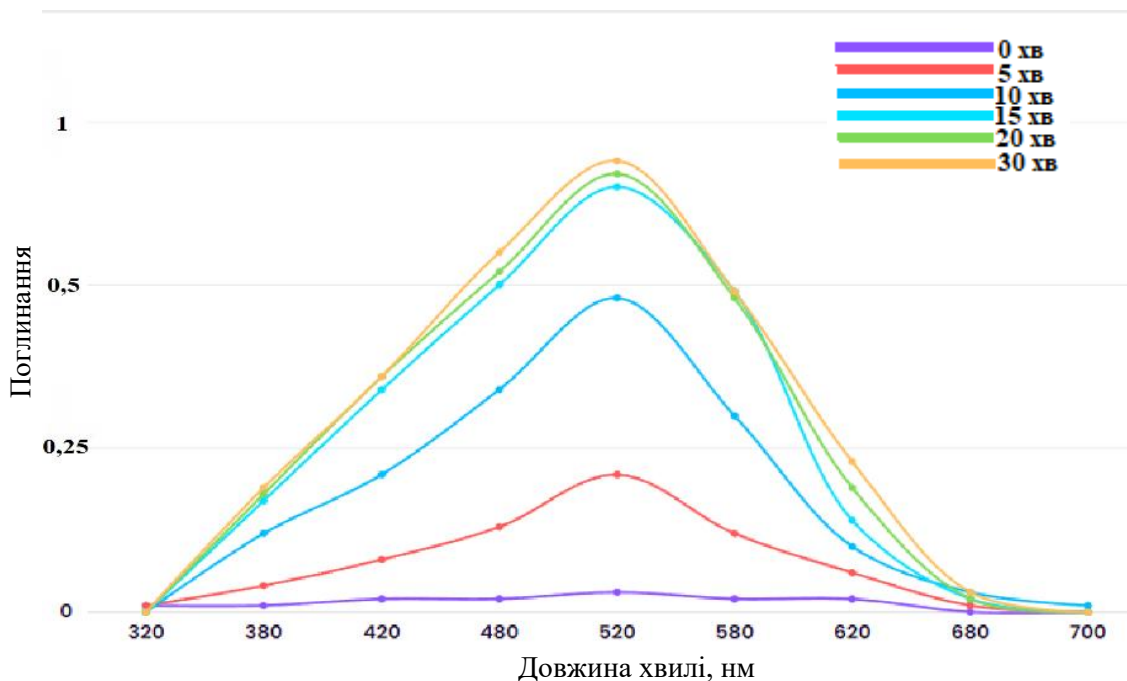
Спектрофотометричним аналізом підтверджували утворення наночастинок срібла отриманих з використанням екстрактів досліджуваних рослин. Вимірювання проводили на спектрофотометрі Spescord M 40 кожні 5 хв протягом 30 хв при довжині хвилі від 320 нм до 700 нм (рисунок 6.20)



А. Екстракт трави *Caltha palustris* L.



Б. Екстракт трави *Ficaria verna* Huds



В. Екстракт трави *Ranunculus acris* L.

Рисунок 6.20 – УФ-спектри синтезованих наночастинок срібла

Видимі спектри, записані в різний час реакції. Через 30 хвилин не спостерігалось жодної зміни абсорбції, що вказує на повне перетворення Ag^+ до Ag для екстрактів трави *Caltha palustris* L. та трави *Ficaria verna* Huds. Для досліджуваних екстрактів УФ-спектри синтезованих наночастинок срібла показали найвищий пік при 520 нм (517 для *Caltha palustris* L. та 526 для *Ficaria verna* Huds.).

Висновки до розділу 6.

1. Вивчено гостру токсичність досліджуваних екстрактів та встановлено, що екстракти з трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складний екстракт у максимальному дозуванні відносяться до IV класу токсичності, $\text{LD}_{50} > 6000$ мг/кг. Вони є не токсичними для живих організмів та можуть застосовуватись для майбутніх розробок ЛЗ.

2. Дослідили антимікробну дію досліджуваних екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту методом дифузії в агар та методом серійних розведень. Екстракти *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. та складний екстракт

проявили антимікробну активність щодо грам позитивних та грам негативних мікроорганізмів. 70% екстракти *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. проявили активність відносно клінічний штам стафілококів. Антимікробну активність відносно клінічних штамів бацил проявляли 90 % екстракт *Caltha palustris* L. та 90 % екстракт *Ficaria verna* Huds. найвищу активність Щодо клінічного штаму *Enterococcus faecalis* проявили 90% екстракти *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L., 70 % екстракти *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та складний екстракт. При застосуванні методу серійних розведень встановлено, що більшість досліджуваних 90 % та 70 % екстрактів ЛРС та складний екстракт у розведенні 1:1 володіють бактерицидною дією.

3. Дослідили протигрибкову активність екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту. Найвищі протигрибкові показники щодо грибів *Candida albicans* 169 проявляють екстракт трави *Caltha palustris* L., трави *Ranunculus acris* L. та складний екстракт.

4. Дослідили радикал поглинальну активність екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту методом інактивації радикалу ДПФГ та за знебарвленням катіон-радикала АБТС. Найвищий ступінь інактивації ДФПГ проявляють екстракти 70 та 90 % екстракти трави *Caltha palustris* L., 70 % екстракт трави *Ficaria verna* Huds., 70 % екстракт трави *Ranunculus acris* L. та складний екстракт. Найвищу активність, щодо знебарвлення катіон-радикала АБТС проявили 70% екстракт трави *Caltha palustris* L., екстракти з трави *Ficaria verna* Huds. та складний екстракт.

5. Вперше проведено дослідження показників оксидативного стресу на тваринних тканинах. Оцінку активності екстрактів проведено з урахуванням бактерицидної дії етанолу. Досліджувані екстракти трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складний екстракт за двома показниками оксидативного стресу проявили високі антиоксидантні властивості на гепатоцитах печінки щура в умовах ініціювання вільно-радикального окиснення *in vitro*.

6. Дослідили антиексудативну активність екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту використовуючи «карагенінову модель» запального процесу. Всі досліджувані екстракти показали відносно невисокий рівень протизапальної активності відносно референс-препаратів. Найкращий рівень протизапальної активності продемонстрував складний екстракт, показник пригнічення запальної реакції, якого становив 10,6%.

7. Вивчення гепатопротекторних властивостей екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту проводили на моделі гострого тетрахлорметан-індукованого токсичного гепатиту. Екстракти трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту виявляли помірні гепатопротекторні властивості та сприяли частковій нормалізації функції печінки. Досліджувані екстракти можуть бути ефективними, як профілактичний лікарський засіб для тривалого застосування при токсичних ураженнях.

8. Досліджено потенційну можливість застосовувати екстракти трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L. у синтезі наночастинок срібла прямою взаємодією нітрату срібла з досліджуваними екстрактами рослин у водному розчині без застосування додаткових синтетичних та токсичних матеріалів. Одержані наночастинки досліджено методом УФ-спектроскопії.

Результати досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Карпюк В. Р., Конечна Р. Т., Конечний Ю. Т. Дослідження протимікробної дії екстрактів *Ranunculus acris* // PLANTA+. Наука, практика та освіта : матеріали III Науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 180-річчю Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, 18 лютого 2022 року, м. Київ. – 2022. – С. 21–23

2. Карпюк В., Пошивак О., Піняжко О., Конечна Р. Вивчення гострої токсичності екстрактів *Caltha palustris* // Науково-технічний прогрес і оптимізація

технологічних процесів створення лікарських препаратів : матеріали їх науково-практичної конференції з міжнародною участю, 22–23 вересня 2022 року, Тернопіль. – 2022. – С. 148–149

3. Karpiuk V., Konechna R. Total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity of *Ficaria verna* // *Periodyk Naukowy Akademii Polonijnej (PNAP)*. – 2021. – Т. 46, No. 3. – S. 229–234

4. Зелений наносинтез в екстракті *Caltha palustris*. Рєвякіна Н.А., Лях В.Р., Конечна Р.Т, Новіков В.П. V Міжнародна практично-наукова інтернет-конференція (26 листопада 2020р., Харків) -2020 - с.407-410

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено вирішення наукових завдань, що полягають у проведенні комплексного фармакогностичного дослідження окремих представників родини *Ranunculaceae*, дослідженні якісного та кількісного складу різних груп БАР, отриманні екстрактів на основі рослин родини *Ranunculaceae*, досліджено технологічні підходи до отримання складного екстракту та вивчено фармакологічні активності отриманих екстрактів.

1. Проведено аналіз наукових джерел щодо ботанічної характеристики, ареалу поширення, способу заготівлі, хімічного складу сировини, дії та використання у традиційній медицині окремих представників родини *Ranunculaceae*: *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds. та *Ranunculus acris* L.

2. Проведено аналіз сировини *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. за фізико-хімічними (вміст золи, важких металів, втрати в масі при висушуванні екстракту, вміст подрібнених частинок, сторонні домішки) та технологічними (макроскопічний аналіз, визначення показника вологопоглинання та набухання, визначення питомої та насипної маси сировини, дослідження розміру часток, визначення пористості сировини) показниками.

3. Встановлено оптимальні умовами отримання комплексу БАР з трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. екстракцією 70% водно-етанольним розчином при співвідношенні сировина-екстрагент 1:10. Час екстрагування становить 72 год для екстракції трави *Caltha palustris* L. та трави *Ranunculus acris* L. та 48 год для екстракції трави *Ficaria verna* Huds. при температурі 18-20°C.

4. Здійснено аналіз вмісту фенольних сполук методом ТПХ у екстрактах трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L., виявлено хлорогенову кислоту, лютеолін, кавову, ферулову кислоти, кверцетин та хризин. Методом ВЕРХ ідентифіковано та встановлено кількісний вміст 8 сполук фенольного характеру у екстракті трави *Ficaria verna* Huds. (кавова кислота – 2,49 %, *n*-кумарова – 1,35%, хлорагенова кислота – 0,92 %); у екстракті

трави *Caltha palustris* L. встановлено кількісний вміст 6 сполук (кавова кислота – 2,05 %, хлорагенова – 0,82 %); у екстракті трави *Ranunculus acris* L визначено кількісний вміст 6 сполук, які присутні в незначній кількості.

5. Вперше проведено дослідження вмісту ліпофільних речовин. Згідно аналізу отриманих хроматограм експериментальних зразків екстрактів виявлено і встановлено кількісний вміст 26 летких сполук у екстракті трави *Caltha palustris* L., 28 летких сполук у екстракті трави *Ficaria verna* Huds. та 33 летких сполук у екстракті трави *Ranunculus acris* L. серед яких: вищі жирні кислоти, естери жирних кислот, моноциклічні та біциклічні монотерпеноїди, насичені вуглеводні (алкани) тощо.

6. Теоретично та експериментально обгрунтовано метод отримання складного екстракту, як субстанції з потенційними біологічними активностями та фармакологічною дією. Розроблено склад складного екстракту з композиції екстрактів з окремо взятої рослинної сировини у співвідношенні 2:2:1.

7. Проведено вивчення гострої токсичності досліджуваних екстрактів і показано, що їх можна віднести до малотоксичних засобів (IV клас токсичності, LD₅₀ >6000 мг/кг).

8. Дослідили антимікробну та протигрибкову дію екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту методом дифузії в агар та методом серійних розведень. Встановили, що 70 % та 90 % екстракти *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. та складний екстракт проявляють протимікробну активність щодо грам позитивних (*Enterococcus faecalis* 26, *Bacillus cereus* 34) та грам негативних (*Pseudomonas putida* PDR 182) мікроорганізмів. Екстракти трави *Caltha palustris* L., трави *Ranunculus acris* L. та складний екстракт проявляють протигрибкову дію щодо грибів *Candida albicans* 169.

9. Встановлено антиоксидантну активність екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту визначенням радикал-поглинальної активності радикалу ДФПГ та знебарвленням катіон-радикалу АБТС. Найвищі показники спостерігали у 70%

екстракту трави *Caltha palustris* L. та складному екстракті. Вперше досліджено показники оксидативного стресу на тваринних тканинах. Встановлено високі антиоксидантні властивості досліджуваних екстрактів на гепатоцитах печінки щура в умовах ініціювання вільно-радикального окиснення *in vitro*.

10. Вивчено вплив досліджуваних екстрактів на протікання ексудативної фази запалення на основі карагенінової моделі запального набряку лап білих щурів. Найвищі показники протизапальної активності продемонстрував складний екстракт, показник пригнічення запальної реакції, якого становив 10,6%.

11. Проведено дослідження гепатопротекторної дії екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L., а також складного екстракту, за допомогою експериментів *in vivo* на білих щурах з пошкодженням печінки, спричиненим CCl_4 . Встановлено, що ці екстракти можуть бути ефективними як профілактичні ЛЗ для тривалого застосування при токсичних ураженнях печінки.

12. Розроблено проєкти МКЯ «Екстракт трави *Caltha palustris* L.», «Екстракт трави *Ficaria verna* Huds.», «Екстракт трави *Ranunculus acris* L.», «Складний екстракт трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds. та трави *Ranunculus acris* L.». Результати експериментальних досліджень дають можливість продовжувати наукові дослідження з даної тематики та є перспективними для фармацевтичної науки.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Мінарченко В. М., Бутко А. Дослідження вітчизняного ринку засобів рослинного походження. *Фармацевтичний журнал*. 2017. № 1. С. 30–36.
2. Rates S. M. K. Plants as source of drugs. *Toxicon*. 2001. Vol. 39, no. 5. P. 603–613. URL: [https://doi.org/10.1016/s0041-0101\(00\)00154-9](https://doi.org/10.1016/s0041-0101(00)00154-9) (date of access: 14.04.2023).
3. World Health Organization (WHO). Quality control methods for herbal materials. Geneva : World Health Organization, 2011. 173 p.
4. Рубан О. А., Малиновська С. А., Аль-Товайті Мурад, Мазурець С. І. Перспективи створення нових оригінальних препаратів на основі субстанцій рослинного походження. *Фітотерапія. Часопис*. 2012. № 2. С. 63-65.
5. Mrozikiewicz P.-M. Molecular mechanisms in phytotherapy. *Acta Biochimica Polonica*. 2007. Vol. 54, no. 4. P. 144.
6. Баула О.П., Деркач Т.М. Забезпечення якості лікарських засобів рослинного походження: стан та перспективи. *Фармацевтичний часопис*. 2017. № 2. URL: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2017.2.7816>
7. Туманов В.А., Поканевич В.В., Гарник Т.П., Фролов В.М., Пересадін М.О. Фітотерапія: сучасні тенденції до використання в лікарській практиці та перспективи подальшого розвитку (огляд літератури та результати власних досліджень). *Фітотерапія*. 2012. № 1. С. 4-11.
8. D.-C. HAO et al. Mining chemodiversity from biodiversity: pharmacophylogeny of medicinal plants of Ranunculaceae. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 2015. Vol. 13, no. 7. P. 507–520. URL: [https://doi.org/10.1016/s1875-5364\(15\)30045-5](https://doi.org/10.1016/s1875-5364(15)30045-5) (date of access: 15.04.2020).
9. G. Cossard et al Subfamilial and tribal relationships of Ranunculaceae: evidence from eight molecular markers. *Plant Systematics and Evolution*. 2016. Vol. 302, No. 4. P. 419–431. URL: <https://doi.org/10.1007/s00606-015-1270-6> (date of access: 15.04.2023).

10. Hörandl E., Emadzade K. Evolutionary classification: A case study on the diverse plant genus *Ranunculus* L. (Ranunculaceae). *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. 2012. Vol. 14, No. 4. P. 310–324. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2012.04.001> (date of access: 15.04.2023).
11. Jurgens A., Dotterl S. Chemical composition of anther volatiles in Ranunculaceae: genera-specific profiles in *Anemone*, *Aquilegia*, *Caltha*, *Pulsatilla*, *Ranunculus*, and *Trollius* species. *American Journal of Botany*. 2004. Vol. 91, No. 12. P. 1969–1980. URL: <https://doi.org/10.3732/ajb.91.12.1969> (date of access: 15.04.2023).
12. Bhandari P., Rastogi R. P. Two nor-triterpene lactones from *Caltha palustris*. *Phytochemistry*. 1984. Vol. 23, No. 8. P. 1699–1702. URL: [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)83472-x](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)83472-x) (date of access: 15.04.2023).
13. Bhandari P., Gray A., Rastogi R. Triterpenoid Saponins from *Caltha palustris*. *Planta Medica*. 1987. Vol. 53, No. 01. P. 98–100. URL: <https://doi.org/10.1055/s-2006-962634> (date of access: 15.04.2023).
14. Bhandari P., Rastogi R. P. Triterpene constituents of *Caltha palustris*. *Phytochemistry*. 1984. Vol. 23, No. 9. P. 2082–2085. URL: [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)84984-5](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)84984-5) (date of access: 15.04.2023).
15. Suszko A., Obmińska-Mrukowicz B. Influence of polysaccharide fractions isolated from *Caltha palustris* L. on the cellular immune response in collagen-induced arthritis (CIA) in mice. A comparison with methotrexate. *Journal of Ethnopharmacology*. 2013. Vol. 145, No. 1. P. 109–117. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.10.038> (date of access: 15.04.2023).
16. Швець В. Родина *Ranunculaceae* Juss. у флорі Херсонської області. *Наука та методика: Збірник наук.ових та методичних праць/ за ред.: М.Ф. Бойко. Херсон, 2015. С. 14–18.*
17. Кащишин О., Гнезділова В. Малопоширені види лікарських рослин у флорі Прикарпаття. *Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень* : Матеріали V Міжнар. наук. конф., с. Березоточа, 2 квіт. 2021 р. Лубни, 2021. С. 56–60.

18. Савельєвна О. Цілеспрямований пошук рослинної сировини нейромедіаторної дії серед представників родин *Lamiaceae* та *Ranunculaceae* : дис. ... канд. фармацевт. Наук : 15.00.02. Харків, 2018. 240 с.
19. Журавель У., Базавлук Є., Конечна Р. Визначення екстрактивних речовин сировини *Thalictrum foetidum*. *Сучасні аспекти створення лікарських засобів* : Матеріали II Міжнар. науково-практ. дистанц. конф., м. Харків, 1 лют. 2022 р. Харків, 2022. С. 115.
20. Лук'янчук А. В., Хропот О. С., Конечна Р. Т., Курка М. С., Новіков В. П., Ясіцка-Місяк І., Вечорек П. П. Дослідження вмісту фенольних сполук *Anemona nemorosa* // *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології*. – 2017. – Том 3. – С. 171–173.
21. Гродзінський А.М. Лікарські рослини. Енциклопедичний довідник. Київ : Видавництво «Українська Енциклопедія» ім. М. П. Бажана, 1992. 544 с.
22. Державний реєстр лікарських засобів України. Інформаційний фонд. URL:<http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/all/shlist?opendocument> (дата звернення: 15.01.2021).
23. Компендіум. Лікарські препарати. URL: <https://compendium.com.ua/uk/> (дата звернення: 12.12.2020).
24. Ліки контроль. URL: <http://likicontrol.com.ua> (дата звернення: 15.01.2021).
25. D.-C.Hao et al. Anticancer Chemodiversity of Ranunculaceae Medicinal Plants: Molecular Mechanisms and Functions. *Current Genomics*. 2016. Vol. 18, no. 1. P. 39–59. URL: <https://doi.org/10.2174/1389202917666160803151752> (date of access: 15.04.2023).
26. Доброчаєва Д. Н., Котов М. И., Прокудин Ю. Н. Определитель высших растений Украины. Київ : Наукова думка, 1987. 548 с.
27. Дідух Ю. О., Маховська Л. Й. Біоекологічні особливості представників родини *Ranunculaceae* Juss. у флорі Надвірнянського району Івано-Франківської області. *Збірник наукових праць з актуальних проблем економічних наук*, м. Запоріжжя, 29-30 листопада 2019 р. С. 136-139.

28. Дідух Я. П., Бурда Р. І., Зиман С. М. Екофлора України. Том 2 / за заг. ред.: Я.П. Дідуха. Київ : Фітосоціоцентр, 2004. 480 с.
29. Ковальов В. М., Павлій О. І., Ісакова Т. І. Фармакогнозія з основами біохімії рослин: підручник для студентів вищих фармацевтичних навчальних закладів та фармацевтичних факультетів вищих медичних навчальних закладів III—IV рівнів акредитації. 2-ге вид. Харків : НФаУ, МТК-книга, 2004. 704 с.
30. Boiko T. An analysis of the current state of dendrological objects protected by the city of Kherson. *19th SGEM international multidisciplinary scientific geoconference EXPO proceedings*. 2019. URL: <https://doi.org/10.5593/sgem2019/6.2/s27.044> (date of access: 15.04.2023).
31. Boussin A. Mise à jour d'un site de toxicologie végétale à destination des vétérinaires : Doctoral dissertation. Toulouse, 2019.
32. Гризодуб А. И., Евтиева О. А., Проскурина К. И. Особенности фармакопейных подходов к количественному определению лекарственного растительного сырья и суммарных фитопрепаратов. *Фармаком*. 2012. №3. С. 7-31.
33. Hao D.-C., Gu X., Xiao P. Anemone medicinal plants: ethnopharmacology, phytochemistry and biology. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2017. Vol. 7, No. 2. P. 146–158. URL: <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2016.12.001> (date of access: 15.04.2022).
34. D.-C. HAO et al. Mining chemodiversity from biodiversity: pharmacophylogeny of medicinal plants of Ranunculaceae . *Chinese Journal of Natural Medicines*. 2015. Vol. 13, No.7. P. 507–520. URL: [https://doi.org/10.1016/s1875-5364\(15\)30045-5](https://doi.org/10.1016/s1875-5364(15)30045-5) (date of access: 15.04.2023).
35. XIAO P.-G. A pharmacophylogenetic study of Aconitum L. (Ranunculaceae) from China. *Acta Phytotaxonomica Sinica*. 2006. Vol. 44, No. 1. P. 1-46. URL: <https://doi.org/10.1360/aps050046> (date of access: 15.04.2023).
36. Chawla R., Kumar S., Sharma A. The genus Clematis (Ranunculaceae): Chemical and pharmacological perspectives. *Journal of Ethnopharmacology*.

2012. Vol. 143, No. 1. P. 116–150. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.06.014> (date of access: 15.04.2023).
37. Gregory M. Hepatoprotective Activity of *Thalictrum Foliosum* (Ranunculaceae) Root Ethanolic Extract. *International Journal of pharma and Bio Sciences*. 2020. Vol. 11, No. 3. URL: <https://doi.org/10.22376/ijpbs/lpr.2020.10.3.p8-11> (date of access: 15.04.2023).
38. Bazavluk Y.V., Konechna R.T., Fedorova O.V. Prospective species of medicinal plants of the family *Ranunculaceae* in the flora of the Ukrainian Carpathians. *THE EUROPEAN POTENTIAL FOR DEVELOPMENT OF NATURAL SCIENCE*. 2020. URL: <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-006-3-1> (date of access: 15.04.2023).
39. Хропот О. С. Використання рослин родини Ranunculaceae для отримання біологічно активних речовин в системі in vitro : дисертація ... доктора філософії. Львів, 2021. URL: <https://ena.lpnu.ua/handle/ntb/56788> (дата звернення: 15.04.2023).
40. Державна Фармакопея України. 2-е вид. в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Х., 2015. Т. 1. 1128 с.
41. Державна Фармакопея України. 2-е вид. в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Х., 2014. Т. 2. 690 с.
42. Державна Фармакопея України. 2-е вид. в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Х., 2014. Т. 3. 732 с.
43. Державна Фармакопея України. Держ. п-во «Науковоекспертний фармакопейний центр». 2-е вид., допов. 2. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Х., 2018. 336с.
44. Державна Фармакопея України. ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 1-е вид., 4 допов. Х. : Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2011. 540 с.

45. Лук'янчук А. В., Хропот О. С., Конечний Ю. Т. Анемона дібровна. *Anemone nemorosa* L. Аналітичний огляд. Наукове сходження: Фармацевтичні науки. 2017. Том 3 (7). С. 38–42.
46. Лекарственные препараты. URL:<https://medzai.net/> (дата звернення: 15.01.2021).
47. Дослідження вмісту фенольних сполук *Anemone nemorosa*. Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології. зб. наук. пр. / Лук'янчук А. В. та ін. Харків : Вид-во НФаУ. 2017. Вип. 3. С.171–173.
48. Хропот О. С. та ін. Вивчення гострої токсичності та протизапальної активності спиртових екстрактів трави сну білого (*Pulsatilla alba*). *Фармацевтичний часопис*. 2019. No 2. С. 60–66.
49. R. Konechna, Y. Bazavluk, O. Korniychuk et al. The study of the composition of chloroform fraction of *Anemone nemorosa* L. *French-Ukrainian Journal of Chemistry*. 2020. Vol. 7, No. 2. P. 153–159.
50. Fritz H. Ranunculaceae. In: Anatomic atlas of aquatic and wetland plant stems. Cham: Springer, 2020. 487 p.
51. Tianpeng Yin; Le Cai, Zhongtao Ding. A systematic review on the chemical constituents of the genus *Consolida* (Ranunculaceae) and their biological activities. *RSC Advances*, 2020. No. 10. URL: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2020/ra/d0ra06811j>. (дата звернення: 15.10.2021).
52. Калюжниця болотна (*Caltha palustris*). URL: <http://fitoapteka.org/herbs-k/1073-caltha-palustris> (дата звернення: 10.02.2020)
53. *Caltha palustris*. Семейство Лютиковые (*Ranunculaceae*). URL: https://www.greeninfo.ru/marginal_plants/caltha_palustris.html (дата звернення: 10.02.2020)
54. Екофлора України (укр.) / Відпов. редактор Я.П. Дідух. Київ: Фітосоціоцентр, 2004. Т. 2. 480 с.
55. Нестерук Ю. Чорногора. Львів: «БаК», 2003. 520 с.

56. Ukrainian Biodiversity Information Network. Національна мережа інформації з біорізноманіття. URL: www.ukrbio.com (дата звернення: 10.03.2020)
57. Калюжниці болотна, лікарські властивості та протипоказання. URL: <https://toxicplants.pp.ua/index.php/otrui-roslini/r> (дата звернення: 10.02.2020)
58. Bonora, A., Tosi, B., Donini, A., Botta, B., Bruni, A. Elicitor-induced Accumulation of Protoanemonin in *Caltha palustris* L. *Journal of Plant Physiology*, 1987. Vol.131. No5. P. 489–494. doi: [https://doi.org/10.1016/s0176-1617\(87\)80291-2](https://doi.org/10.1016/s0176-1617(87)80291-2)(дата звернення: 10.02.2020)
59. . Форманчук К. В. Рослини дарують здоров'я// Фітотерапевтичний енциклопедичний довідник. Львів, 2007.С. 568.
60. . Пневський В. Золотиста кайма весни. *Лісовий вісник*. 2016. № 4. URL: <https://lisvisnyk.com.ua/%D0%>(дата звернення: 10.12.2020)
61. Haliu-Kheel – instruktsiia, pokazannia, sklad, sposib zastosuvannia. URL: <https://tabletki.ua/uk/> (дата звернення: 10.09.2020)
62. Washington Homeopathic Products. URL: <http://www.homeopathyworks.com> (дата звернення: 10.02.2021)
63. European Patent Office. URL: <https://worldwide.espacenet.com/> (дата звернення: 18.02.2021)
64. Морозюк С.С. Трав'янисті рослини/ за ред. С.С. Морозюк, В.В. Протопопова . Київ: Радянська школа, 1986. 160 с.
65. Єлін Ю.Я. Дари лісів/ за ред. Ю.Я. Єлін, М.Я. Зерова, В.І. Лушпа, С.І. Шаброва . Київ, 1979. 312 с
66. Єлін Ю.Я. Рослини наших лісів. 1983. С.204
67. «Энциклопедия декоративных садовых растений».URL: <http://flower.onego.ru/index.html>(дата звернення: 10.10.2020)
68. Трава пшінки весняної. URL: <https://www.pen.com.ua/herb-pshinka-vesnyana.html> (дата звернення: 10.11.2020)

69. Texier, O., Ahond, A., Regerat, F., & Pourrat, H. A triterpenoid saponin from *Ficaria ranunculoides* tubers. *Phytochemistry*.1984. Vol.23. No. 12. P. 2903-2905
70. Marston, A., Cabo, M., Lubrano, C., Robin, J.-R., Fromageot, C., & Hostettmann, K. Clarification of the Saponin Composition of *Ranunculus ficaria* Tubers. *Natural Product Communications*. 2006. Vol.1. No1. P. 27-32
71. Tomczyk, M., & Gudej, J. Quantitative Analysis of Flavonoids in the Flowers and Leaves of *Ficaria verna* Huds. *Zeitschrift Für Naturforschung*.2003. Vol.58. P. 763–765.
72. Gudej J. and Tomczyk M. (1999), Polyphenolic compounds from flowers of *Ficaria verna* Huds. *Acta Pol.Pharm. - Drug Res*.1999. Vol. 56. P. 475-476
73. Tomczyk Michał , Gudej Jan . Quercetin and kaempferol glycosides from *Ficaria verna* flowers and their structure studied by 2D NMR spectroscopy. *Polish Journal of Chemistry*. October 2002. Vol. 76 . No. 11. P.1601-1605
74. Azimova S. S., Glushenkova A. I. *Ficaria verna* Huds. (*Ranunculus ficaria* L.). *Lipids, Lipophilic Components and Essential Oils from Plant Sources*. London, 2012. P. 669–670. URL: https://doi.org/10.1007/978-0-85729-323-7_2220 (date of access: 15.04.2023).
75. Tomczyk M., Gudej J., and Sochacki M. Flavonoids from *Ficaria verna* Huds. *Z. Naturforsch.* 2002. Vol.57. P. 440-444.
76. Bonora, A., Botta, B., Menziani-Andreoli, E., & Bruni, A. (1988). Organ-specific Distribution and Accumulation of Protoanemonin in *Ranunculus ficaria* L. *Biochemie Und Physiologie Der Pflanzen*.1988. Vol.183. No. 5. P. 443–447.
77. Портулак городній, повитиця європейська, приворотень звичайний, пухівка широколиста, пшінка весняна: опис рослин. URL: <https://osvita.ua/vnz/reports/biolog/23583/>(дата звернення: 18.11.2020)
78. Чистяк весняний. URL: <http://mediclab.com.ua/index.php?newsid=6652> (дата звернення: 02.12.2020)

79. Екофлора України / за ред. Я. П. Дідух. Київ :Фітосоціоцентр, 2004. Т. 2. 480 с.
80. Popay A. I, Edmonds D., Lytle L. A., Phung H. T. Chemical control of giant buttercup (*Ranunculus acris* L.). *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 1999.Vol 32, No. 2. P. 299–303.
81. Margaret Grieve. *Modern Herbal*. London: Stone Basin Books, 2015. 1018 p.
82. Warburg, E. F., Tutin, T. G., Clapham, A. R. *Flora of the British Isles*. 3rd edition Cambridge: Cambridge University Press, 1992. 1236 p.
83. *Poisonous plants and animals*. Altmann. H.; transl. And edited by Gwynne Vevers. London: Chatto and Windus, 1985. 143 p.
84. Andrew Chevallier. *Encyclopedia of Herbal medicine*. London: Dorling Kindersley, 2016. 336 p.
85. Elias. T., Dykeman. P. *A North American field guide to over 200 natural foods*. New York: Sterling Publishing, 2009. 288 p.
86. Kelemen C. D., Houdkova, K. Urbanova M. et al. Chemical composition of the essential oils of aerial parts of *Aconitum*, *Anemone* and *Ranunculus* (*Ranunculaceae*) species from Romania. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2019. Vol 22, No. 3. P.728-745.
87. Bandyakova V. A., Macekas A., Svirmickas G., Kadziauskiene K. Amino acid composition of pollen of some nectariferous plants. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*. 1988. No. 4. P. 610-611.
88. Scott, M. G., Peterson, R. L. Publication. The root endodermis in *Ranunculus acris*. Histochemistry of the endodermis and the synthesis of phenolic compounds in roots. *Canadian Journal of Botany*.1979. Vol 57, No.9. P. 1063-1077 .
89. Detection and identification of complex oxylipins in meadow buttercup (*Ranunculus acris*) leaves. I. R. Chechetkin, A. S. Blufard, A. Y. Yarin, et al. *Phytochemistry*. 2019. Vol. 157. P. 92-102
90. Paul B. Hamel, Mary U. Chiltoskey. *Cherokee plants and their uses: A 400 Year history*. Cherokee: Cherokee Publications, 2002. 71 p.

91. Činčura F. Pospolite rośliny środkowej Europy. Warszawa: Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne. 1990. 90 s.
92. Tsewang. J. Tsarong. Tibetan medicinal plants. Tibetanmedical publications, 1995. 132 p.
93. Аралбай Н. К., Оракова А. К. О лечебные свойствах Лютиков (*Ranunculus* L.) Казахстана. *Bulletin d'EUROTALENT-FIDJIP*. 2014. No 6. С. 80–83.
94. Stary F., Berger Z. Poisonous plants. Magna books, 1995. 82 p.
95. Frohne D., Pfänder H. J. A colour atlas of poisonous plants. Translated by N. G. Bisset. London: Wolfe, 1985. 291 p.
96. Сидоров Ю.І. Екстракція рослинної сировини / І.Ю. Сидоров, І.І. Губицька, Р.Т. Конечна, В.П. Новіков // Львів Видавництво Національного університету «Львівська політехніка», 2008. – 334 с.
97. Т. А. Шостак, Т. Г. Калинюк, Н. І. Гудзь. Особливості фармацевтичної розробки рослинних препаратів (Огляд літератури). *Фітотерапія. Часопис*. 2014. №4. С. 77-82.
98. Вишневська Л. І. Технологічні дослідження лікарської рослинної сировини та її композицій у створенні нових препаратів / Л. І. Вишневська. Вісн. фармац. 2008. No 4. С. 33-38.
99. WHO guidelines on good herbal processing practices (GHPP) for herbal medicines. Traditional and Complementary Medicine, Service Delivery and Safety Department, World Health Organization, Geneva, Switzerland. 2016. 57 p.
100. Онишків О. І. Розробка складу та технології таблеток на основі фітоекстракту кори осики: автореф. дис.... канд. фарм. наук: спец. 15:00:01 – Технологія ліків, організація фармацевтичної справи та судова фармація / О. І. Оношків. – Львів, 2013. – 20 с.
101. Чубка М. Б. Розробка і стандартизація капсул «Уролесан»: автореф. дис.... канд. фарм. наук: спец. 15:00:03. – Стандартизація і організація виробництва лікарських засобів / М. Б. Чубка. – Х., 2012. – 21 с.

102. Ковальов В. В. Розробка складу та технології м'якої лікарської форми з екстрактом хлорофіліпту: автореф. дис.... канд. фарм. наук: спец. 15:00:01 – Технологія ліків, організація фармацевтичної справи / В. В. Ковальов. – Х., 2009. – 23 с. 78
103. Ролік С. М. Розробка складу, технології та дослідження ком-бінованого стоматологічного гелю: автореф. дис... канд. фарм. наук: спец. 15:00:01 – Технологія ліків, організація фармацевтичної справи / С. М. Ролік. – Львів. – 2009. – 22 с.
104. Баранова І. І. Теоретичне та експериментальне обґрунтування застосування сучасних гелеутворювачів природного та синтетичного походження у технології м'яких лікувально-косметичних засобів: автореф. дис.... доктора фарм. наук: спец. 15.00.01 – Технологія ліків, організація фармацевтичної справи та судова фармація / Баранова І. І. – Х., 2011. – 43 с.
105. Xun Yan, Jatinder Rana, Amitabh Chandra et al. Medicinal herb extraction strategy –a solvent selection and extraction method study. 5p. URL: <https://pdfs.semanticscholar.org/c049/60879a0795db0c462ba25506c6eb999533b0.pdf>
106. Методичні рекомендації для самостійної роботи з дисципліни «Сучасний стан наукових знань спеціальності «Фармація» для здобувачів вищої освіти рівня Phd / Кисличенко В. С., Хворост О.П. Харків : Вид-во НФаУ, 2019. 55.
107. Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів: наказ МОЗ України від 14.12.2009 № 944. Дата оновлення 28.09.2022. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0053-10#Text>(дата звернення 20.08.2020 р.)
108. База патентів України. URL: <https://uapatents.com/> (дата звернення:20.01.2021).

109. Сучасна фітотерапія : навч. посіб. / С. В. Гарна, І. М. Владимірова, Н. Б. Бурд та ін. Харків : «Друкарня Мадрид», 2016. 580 с.
110. Современный фармацевтический справочник /сост. Галецкая В. Г. Донецк : ООО «Глория Трейд», 2011. 912 с
111. Шульга Л. І., Безкровна К. С., Файзуллін О. В. Науковометодичні підходи до вибору рослинних об'єктів при розробці фітопрепаратів для гастроентерології: метод. рек.. Харків : НФаУ, 2019. 48 с.
112. Енциклопедія народної медицини / укладач і відп. ред. О. Михайлевський. Бережани : ПП Михайлевський, 2008. Т. 2. 1172 с
113. Вишневська Л. І., Шмалько О. О., Солдатов Д. П. Дослідження з розробки багатокомпонентного екстракту урохолуму сухого та його фармакотехнологічних показників. Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. 2019. № 2 (58). С. 16–21.
114. M. V. Alkhalaf, O. A. Ruban, N. A. Gerbina, Ju. S. Masliy. Studies of physico-chemical and pharmacotechnological properties of Zingiber officinale dry extract. *Journal of Pharmaceutical Science and Research*. 2018. Vol. 10 , No. 1. P. 5–7
115. O. Savelieva, I. Vladymyrova, T. Tishakova, O. Levashova. Development of composition and technology of combination drug with neurally mediated action «Memofit» . *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2017. № 6 (10). P. 38–44.
116. Bezкровна К. S. Methodological aspects of the drugs development – as an initial stage of the new herbal remedy creation. Topical issues of new drugs development : тези доповідей XXIV міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів : в 2 т. Харків, 20 квітня 2017 р. Харків : НФаУ, 2017. Т. 1. С. 55
117. Бондаренко А. С., Гладух Є. В., Котенко О. М. Дослідження технологічних параметрів лікарської рослинної сировини при створенні сиропу для лікування застудних захворювань. *Вісник фармації*. 2011. № 3. С. 17–19.

118. Шпичак О. С. Визначення технологічних параметрів лікарської рослинної сировини, що входить до складу комплексного апіфітопрепарату «Апісед». *Вісник фармації*. 2013. № 1 (73). С. 3–8.
119. Изучение технологических параметров сырья *Valeriana turkestanica* (Sumn) и *Leonurus turkestanicus* (V. I. Krecz. & Kuprian) / О. В. Сермухамедова и др. Вестник Алматинского технического университета. 2015. № 4 (109). С. 97–102
120. Determination of certain pharmaco-technological parameters of a medicinal plant *Artemisia cina* / T. S. Bekezhanova et all. Фармация Казахстана. 2015. № 9. С. 34–37
121. Сидоров Ю. І. Екстракція рослинної сировини / Ю. І. Сидоров, І. І. Губицька, Р. Т. Конечна, В. П. Новіков // Навч. посібник для студ. напряму "Фармація" ВНЗів. Вид-во. НУ "Львівська політехніка". -Львів. - 2008. -334 с.
122. Грицик А. Р. Дослідження фенольних сполук видів роду Щавель / А. Р. Грицик // Медична хімія. - 2007. - Т. 9, № 3. - С. 78-81.
123. Спосіб одержання екстракту з трави *Caltha palustris* з антиоксидантною активністю : пат. 149454 UA. № u202104122 ; заявл. 15.07.2021 ; опубл. 17.11.2021, Бюл. № 46.
124. Jasicka-Misiak I., Stanek N. HPTLC Phenolic Profiles as Useful Tools for the Authentication of Honey. *Food Analytical Methods*. 2018. No. 11. P. 2979–2989.
125. Quy Diem Do, Artik Elisa Angkawijaya, Phuong Lan Tran-Nguyen, et al. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2014. Vol. 22, No. 3. P. 296–302. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001> (date of access: 20.04.2023).
126. E. Skotti et al. Total phenolic content, antioxidant activity and toxicity of aqueous extracts from selected Greek medicinal and aromatic plants. *Industrial*

- Crops and Products*. 2014. Vol. 53. P. 46–54. URL: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.013> (date of access: 20.04.2021).
127. Луценко Ю. О. Визначення кількісного вмісту суми поліфенолів у листі плюща звичайного / Ю. О. Луценко, І. Матлавська, Р. Є. Дармограй // Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація. - 2010. № 1-2. - С. 85- 87.
128. О. В. Войцехівська, О. В. Ситар, Н. Ю. Таран. Фенольні сполуки: різноманіття, біологічна активність, перспективи застосування. *Вісник харківського національного аграрного університету серія біологія*. 2015. №. 1 (34). С. 104-119.
129. S. Vitalini, G. Beretta, M. Iriti et al. Phenolic compounds from *Achillea millefolium* L. and their bioactivity. *Acta Biochim. Pol.* 2011. Vol.58, № 2. P.203-219.
130. V.Karpiuk, R.Konechna. Total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity of *Ficaria verna*. *Scientific journal of Polonia university*. 2021. Vol.46. No.3. P. 229-234.
131. Ковальов В. М. Фармакогнозія з основами біохімії рослин / В. М. Ковальов, О. І. Павлій, Т. І. Ісакова. - Х. : «Прапор», видавництво НФаУ, 2000. - 703 с
132. С. М. Марчишин, О. Б. Амброзюк. Дубильні речовини перстачу гусячого (*Potentilla anserine* L.) . *Фармацевтичний журнал*. 2011. № 3. С. 71-74.
133. Cinelli M. A., Jones A. D. Alkaloids of the Genus *Datura*: Review of a Rich Resource for Natural Product Discovery. *Molecules*. 2021. Vol. 26, No. 9. P. 2629. URL: <https://doi.org/10.3390/molecules26092629> (date of access: 20.04.2023).
134. F. Abdhleem Babiker et al. Characterization, purification and identification of some Alkaloids in *Daturastramonium* . *International Food Research Journal*. 2017. P. 540–543.

135. Е. А. Паращук, С. М. Марчишин, Л. В. Слободянюк Дослідження похідних кумаринів бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.). *Фітотерапія. Часопис*. 2019. N 1. С. 66-70
136. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати : посібник з фармакогнозії з основами біохімії лікарських рослин / Н. М. Солодовниченко, М. С. Журавльов, В. М. Ковальов. - Х. : Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2001. - 408 с..
137. Н.С. Юрченко, Т.В. Ільїна, А.М. Ковальова. Дослідження складу хлороформної фракції трави маренки запашної. *Український біофармацевтичний журнал*. 2012. № 3(20). с.72-76 .
138. V. Karpiuk et al. The study of the composition of chloroform fraction of *ficaria verna* . *Chemistry, Technology and Application of Substances*. 2022. Vol. 5, no. 1. P. 61–66. URL: <https://doi.org/10.23939/ctas2022.01.061> (date of access: 20.04.2023).
139. Viktoriia Karpiuk, Roksolana Konechna Yulian Konechnyi ,Wieczorek Piotr Pawel, Jasicka Misiak Izabela , Lesia Zhurakhivska, Lilia Bolibrukh The Study of the Composition of Chloroform Fraction of *Caltha palustris*.. *Research Journal of Pharmacy and Technology* .2023 , Vol : 16 , Issue : 3. P. 1254-1258.
140. Васенда М. М. Сучасний стан виробництва фітопрепаратів. *Фармацевтичний часопис*. 2013. № 4. С. 143-147.
141. Гарна С. В., Ветров П. П., Георгіянц В. А. Взаємозв'язок основних технологічних параметрів рослинної сировини. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2012. № 1. С.54-57.
142. Kha Dyk An, Kukhtenko O. S., Gladukh Ye. V. Development of technology for producing compound thick extract obtained by common extraction of thyme, yarrow, chamomile and eucalyptus. Actual Questions of Development of New Drugs : Abstracts of XXIII International Scientific And Practical Conference of Young Scientists And Student, April 21, 2016. Kharkiv : Publishing Office, 2016. Vol. 1, P. 26

- 143.Шостак Т. А. Калинюк Т. Г. Гудзь Н. І. Особливості фармацевтичної розробки рослинних препаратів (Огляд літератури). *Фітотерапія. Часопис*. 2014. № 4. С. 77-82.
- 144.Liakh V., Konechna R., Mylyanych A., Zhurakhivska L., Hubytska I., Novikov V. *Caltha palustris*. Analytical overview. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2020. № 2 (24). С. 51–56.
- 145.Карпюк В. Р., Юзьків С. Л., Журахівська Л. Р., Конечна Р. Т., Конечний Ю. Т. Жовтець їдкий (*Ranunculus acris* L. L.) аналітичний огляд поширення, хімічного складу, біологічної активності та медичного застосування. *Фармацевтичний часопис*. 2021. № 3 (59). С. 74–82.
- 146.Карпюк В. Р., Юзьків С. Л., Журахівська Л. Р., Конечна Р. Т., Конечний Ю. Т. *Ficaria verna*. Аналітичний огляд. *Фітотерапія. Часопис*. 2021. № 4. С. 40–46. Карпюк В. Р., Юзьків С. Л., Журахівська Л. Р., Конечна Р. Т., Конечний Ю. Т. *Ficaria verna*. Аналітичний огляд. *Фітотерапія. Часопис*. 2021. № 4. С. 40–46.
147. В.Р. Карпюк. Дослідження з розробки складного екстракту на основі рослин родини Жовтецеві. *Chemistry, technology and application of substances*. 2022. Vol. 5, No. 2. С. 94-99. <https://doi.org/10.23939/ctas2022.02.094>
148. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Офіційний переклад. Страсбург, 1986. URL: http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/994_137
- 149.Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах: наказ Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України від 01.03.2012 р. №249. Офіційний вісник України. №24. С. 82.
- 150.European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose. – Strasburg, Council of Europe,

Publication and Documents Division. – Printed in France. – Edition November, 1987.

151. Про захист тварин від жорстокого поводження: Закон України від 21.02.2006 р. № 3447-IV. Відомості Верховної Ради України. 2006. № 27. Ст. 230. Поточна редакція від 13.02.2020 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text>
152. Про ветеринарну медицину: Закон України від 25.06.1992 р. №2498-XII. Відомості Верховної Ради України. 1992. №36. Ст. 531. 163 Поточна редакція від 16.10.2020. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2498-12#Text>
153. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів / В. М. Коваленко, О. В. Стефанов, Ю. М. Максимов, І. М. Трахтенберг. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / за ред. О. В. Стефанова. К. : Авіцена, 2001. С. 74-97
154. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария, Б. В. Западнюк. К. : Вища школа. Головне видавництво, 1983. 383 с.
155. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical microbiology and infection* 2012. Vol.18. No.3. P. 268-81.
156. Balouiri, M., Sadiki, M., Ibnsouda, S.K. .Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity. *J. Pharm. Anal.* 2016. Vol.6. No.2. P. 71-79. Doi: 10.1016/j.jpha.2015.11.005
157. EUCAST. Disk Diffusion—Manual v 8.0. URL: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/2020_manuals/Manual_v_8.0_EUCAST_Disk_Test_2020.pdf
(дата звернення: 18.12. 2021)

158. Jeong-Sook Park, Jae-Hyeok Lee. Mechanism in Antibacterial Activity on Fraction of *Coptidis Rhizoma* against *Candida Albicans*. *Research J. Pharm. and Tech.* 2017; 10(7):2387-2390. doi: 10.5958/0974-360x.2017.00422.x
159. A. R. Skira, O. S. Yaremkevych, N. L. Zayarnyuk, M. S. Kurka. Research of antioxidant properties of grape marc extracts as perspective pharmaceutical and cosmetic products. *Chemistry, technology and application of substances*. 2020. Vol. 3, No. 2. P. 79-84. doi: <https://doi.org/10.23939/ctas2020.02.079> (дата звернення: 10.02.2022)
160. R. Konechna, O. Khropot, R. Petrina, M. Kurka, Z. Gubriy, V. Novikov. Research of antioxidant properties of extracts of the plants and the callus biomass. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2017. Vol.10, No.7. P. 182-185.
161. V. Katalinic, M. Milos, T. Kulisic, M. Jukic. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*. 2006. Vol. 94, Issue 4. P. 550-557.
162. Kandi Sridhar, Albert Linton Charles. In vitro antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH and ABTS assays: Estimation methods for EC50 using advanced statistical programs. *Food Chemistry*. March 2019. Vol. 275. No.1 P. 41-49.
163. Pooja Shah¹, H.A. Modi. Comparative Study of DPPH, ABTS and FRAP Assays for Determination of Antioxidant Activity. *International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology*. June 2015. Vol. 3. Issue 4. P.636-641.
164. Лушчак, В.І., Багнюкова, Т.В., Лужна, Л.І. Показники оксидативного стресу. Пероксиди ліпідів. *Український біохімічний журнал*. 2006. No.78(5). С. 113–119.
165. Morgan, G.A., Leech, N.L., Gloeckner, G.W., & Barrett, K.C. (2012). IBM SPSS for Introductory Statistics. In: Use and Interpretation. Fourth Edition. Routledge Taylor & Francis Group, New York, 256 p.

166. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. Official Journal of the European Communities. L 358. 1986. P. 1-28. URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=OJ:L:1986:358:FULL&from=EN> (дата звернення - 29.01.2021).
167. Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайфетдінова Г.А. Науковопрактичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Державний фармакологічний центр МОЗ України. – Київ, 2002. – 155 с
168. Лужников Е.А. Клиническая токсикология: учебник. М. : Медицина, 1994. 256 с
169. Del Prete A., Scalera A., Iadevaia M. D. Herbal products: benefits, limits, and applications in chronic liver disease. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2012. Vol. 12. P. 1-19.
170. Octacosanol attenuates disrupted hepatic reactive oxygen species metabolism associated with acute liver injury progression in rats intoxicated with carbon tetrachloride / K. Ohashi, T. Matsura, K. Tokunaga, A. Kitagawa. Clinical Biochemistry and Nutrition. 2008. № 42 (2). P. 118-125.
171. Reduction of carbon tetrachloride-induced hepatotoxic effect by oral administration of betaine in male wistar rats: a morphometric histologic study / M. Junnila, T. Rahko, A. Sukura, L. Lindberg. Veterinary Pathology. 2000. №37(3). P. 231-238
172. J. Singh, T. Dutta, K.H. Kim, M. Rawat, P. Samddar, P. Kumar, "Green" synthesis of metals and their oxide nanoparticles: Applications for environmental remediation. *J. Nanobiotechnology*. 2018. №16. P. 1–24. URL: [doi:10.1186/s12951-018-0408-4](https://doi.org/10.1186/s12951-018-0408-4).
173. Pandian S. R. K., Kunjiappan S., Sundarapandian V. Synthesis of quercetinfunctionalized silver nanoparticles by rapid one-pot approach.

BioTechnologia. *Journal of Biotechnology Computational Biology and Bionanotechnology*. 2021. № 1. C. 102.

174. Bityutskyy V., Tsekhmistrenko S., Tsekhmistrenko O., Demchenko A. Ecofriendly biotechnology for biogenic nanoselenium production and its use in combination with probiotics in poultry feeding: innovative feeding concepts. International scientific innovations in human life. Proceedings of the 8th International scientific and practical conference. Cognum Publishing House. Manchester, 2022, United Kingdom, 13–21.
175. Tsekhmistrenko S., Bityutskyy V., Tsekhmistrenko O. Factors affecting “green” nanoparticle synthesis. Proceedings of III international conference “European dimensions of sustainable development”, 2021, 62–63.
176. Satyavani K., Ramanathan T., Gurudeeban S. Plant mediated synthesis of biomedical silver nanoparticles by using leaf extract of *Citrullus colocynthis*. *Res. J. Nanosci. Nanotechnol.* 2011. V. 1, № 2. P. 95—101.
177. Virkutyte J., Varma R.S. Green synthesis of metal nanoparticles: Biodegradable polymers and enzymes in stabilization and surface functionalization. *Chem. Sci.* 2011. V. 2. P. 837—846.
178. Shukla R., Nune S.K., Chanda N. et al. Soybeans as a phytochemical reservoir for the production and stabilization of biocompatible gold nanoparticles. *Small*. 2008. V. 4, № 9. P. 1425—1436.
179. Ghaffari-Moghaddam, M., Hadi-Dabanlou, R., Khajeh, M., Rakhshanipour, M., & Shameli, K. Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts. *Korean Journal of Chemical Engineering*. 2014. № 31(4). P. 548–557.
180. Ovais, M., Khalil, A. T., Raza, A., Khan, M. A., Ahmad, I., Islam, N. U., Shinwari, Z. K. Green synthesis of silver nanoparticles via plant extracts: beginning a new era in cancer theranostics. *Nanomedicine*. 2016. № 11(23). P. 3157–3177.
181. Muhammad Rafique, Iqra Sadaf, M. Shahid Rafique & M. Bilal Tahir. A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications.

Artificial Cells, *Nanomedicine, and Biotechnology* . An International Journal. 2017. Vol. 45, Issue 7. P. 1272-1291.

182. Shakeel Ahmed, Saifullah, Mudasir Ahmad, Babu Lal Swami, Saiqa Ikram. Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. 2016. Vol. 9, Issue 1. P. 1-7.

ДОДАТКИ

Додаток А.1

Таблиця 1.1 – Лікарські препарати, що містять у складі рослини родини *Ranunculaceae*

№ з/п	Назва препарату	Країна	Виробник	Назва рослини з родини <i>Ranunculaceae</i>	Фармако-терапевтична група	Лікарська форма	Дія
1.	Кардіолін	Україна	ПрАТ «Біолік»	<i>Herba adonidis vernalis</i>	Комбіновані кардіологічні препарати.	Краплі для перорального застосування.	Позитивно впливає на обмін речовин у міокарді, печінці, зокрема пригнічує процеси перекисного окиснення ліпідів, підвищує активність антиоксидантних ферментів, енергетичний баланс клітин, стимулює синтез аденілових нуклеотидів, глікогеноліз, підвищує активність ряду ферментів циклу Кребса, легка седативну дію.
2.	Галіум-Хеель	Німеччина	Biologische Heilmittel Heel GmbH.	<i>Caltha palustris</i>	Гомеопатичний засіб	Краплі	Профілактика грипу.

Продовження додаток А.1

Продовж. табл.1. 1

3.	Кардіофіт	Україна	ТОВ «Науково- виробнича фармацевти чна компанія «ЕЙМ».	<i>Herba adonidis vernalis</i>	Засоби, що застосовують ся в кардіології. Інші кардіоло- гічні комбінова-ні препарати.	Настойка складна.	Кардіотонічна, антиаритмічна та м'яка гіпотензивна
4.	Афлу тайсс	Німеччина	Др.Тайсс Натурварен ГмбХ/Dr.Th eiss Naturwaren GmbH.	<i>Aconitum napellus</i>	Комплекс- ний гомеопатич- ний засіб.	Розчин для орального застосування.	Протизапальна, Жарознижувальна
5.	Гомео- вокс	Франція	БУАРОН / BOIRON	<i>Aconitum napellus</i>		Таблетки, вкриті оболонкою	Протизапальна та муколітична

Продовження додаток А.1

Продовж. табл.1. 1

6.	Грип-гран	Україна	ПрАТ «Націона- льна Гомеопатична Спілка».	<i>Aconitum napellus</i>		Гранули	Імуномодуюча.
7.	Грип-хеель	Німеччина	Biologische Heilmittel Heel GmbH.	<i>Aconitum napellus</i>		Розчин для ін'єкцій. Таблетки.	Дезінтоксикаційної, протизапальної, імунокоригуючої
8.	Гуна-флу	Італія	Гуна С.п.а	<i>Aconitum napellus</i>		Гранули.	Лікування та профілактика грипу
9.	Інфлюцид	Німеччина	Deutsche Homoeopath ie-Union DHU- Arzneimittel GmbH & Co.KG.	<i>Aconitum napellus</i>		Розчин оральний. Таблетки	Протизапальної, жарознижувальна.

Продовження додаток А.1

Продовж. табл.1. 1

10.	Седатив ПЦ®	Франція	БУАРОН / BOIRON	<i>Aconitum napellus</i>		Таблетки	Седативна
11.	Спаскупре ль	Німеччина	Biologische Heilmittel Heel GmbH.	<i>Aconitum napellus</i>		Розчин для ін'єкцій. Таблетки	Протиспазматична
12.	Траумель С	Німеччина	Biologische Heilmittel Heel GmbH.	<i>Aconitum napellus</i>		Мазь	Протизапальна, аналгетична, антиексудативна, імунокоригуюча, репаративна
13.	Траумель С Гель	Німеччина	Biologische Heilmittel Heel GmbH.	<i>Aconitum napellus</i>		Гель	Протизапальна, аналгетична, антиексудативна, імунокоригуюча, репаративна.
14.	Аденома- гран	Україна	ПрАТ «Національ на Гомеопатич на Спілка».	<i>Pulsatilla</i>	Комплекс- ний гомеопати- чний препарат.	Гранули	Нормалізації рівня загальних естрогенів і підтримання статевої функції

Продовження додаток А.1

Продовж. табл.1. 1

15.	Вібуркол	Німеччина	Biologische Heilmittel Heel GmbH.	<i>Pulsatilla pratensis</i>		Супозиторії	Протизапальна, знеболювальна, седативна, дезінтоксикаційна, спазмолітична
16.	Гастрікум ель	Німеччина	Biologische Heilmittel Heel GmbH.	<i>Pulsatilla pratensis</i>		Таблетки	Протизапальна, антиспастична, седативна, гемостатична, гастропротекторна
17.	Делуфен®	Австрія	Ріхард Бітнер АГ.	<i>Pulsatilla pratensis</i>		Спрей назальний.	Протизапальна, протиалергічна, репаративна та захисна
18.	Дисменор м	Німеччина	Deutsche Homöopath ie-Union DHU- Arzneimittel GmbH & Co.KG.	<i>Pulsatilla pratensis</i>		Таблетки	Регулює ритм, інтенсивність і тривалість менструальних кровотеч і зменшує симптоми, характерні для передменструального синдрому.

Продовження додаток А.1

Продовж. табл.1. 1

19.	Еуфор- біум компо- зитум назентроп фен с	Німеччина	Biologische Heilmittel Heel GmbH.	<i>Pulsatilla pratensis</i>		Спрей назальний.	Протинабрякова, протизапальна, протівірусна, імунокоригуюча тапротиалергічну
20.	Інцена®	Австрія	Ріхард Біттнер АГ.	<i>Pulsatilla pratensis</i>		Краплі оральні.	Протизапальна, знеболювальна, десенсибілізуюча, імуномодуюча та репаративна
21.	Кліфе спаг. Пека	Німеччина	ПЕКАНА НАТУРХА ЙЛЬМІТТЕ ЛЬ ГмбХ.	<i>Pulsatilla pratensis</i>		Краплі оральні.	У період менопаузи
22.	Коензим композиту м	Німеччина	Biologische Heilmittel Heel GmbH.	<i>Pulsatilla pratensis</i>		Розчин для ін'єкцій	Метаболічна, антиоксидантна, дезінтоксикаційн, імуномодуюча.

Продовження додаток А.1

Продовж. табл.1. 1

23.	Коризалія ®	Франція	БУАРОН / BOIRON	<i>Pulsatilla pratensis</i>		Таблетки вкриті оболонкою	Комплексна дія активних компонентів, спрямованою на зняття симптомів застуди та риніту
24.	Метро- аднекс- ін'єль	Німеччина	Biologische Heilmittel Heel GmbH.	<i>Pulsatilla pratensis</i>		Розчин для ін'єкцій.	Протизапальна, антиексудативна, дезінтоксикаційна, імунокоригуюча
25.	Мукоза компози- тум	Німеччина	Biologische Heilmittel Heel GmbH.	<i>Pulsatilla pratensis</i>		Розчин для ін'єкцій	Регенеруюча, імуномодуюча, протизапальна, дезінтоксикаційна, муколітична, секретомоторна
26.	Оваріум комполиту м	Німеччина	Biologische Heilmittel Heel GmbH.	<i>Pulsatilla pratensis</i>		Розчин для ін'єкцій	Метаболічна, седативна та протизапальна
27.	Стодаль®	Франція	БУАРОН / BOIRON	<i>Pulsatilla pratensis</i>		Сироп	Бронхолітична, відхаркувальна, муколітична

Додаток А.2

Таблиця 1.2 – Лікарські засоби східної медицини на основі *Caltha palustris*

№	Назва	Автор	Країна	Номер патенту	Застосування
1.	Китайський лікарський засіб для лікування опіків	Liu, Banning	Китай	CN10428835 9 А 2015-01-21	Сприяє загоєнню ран, зменшенню ексудації та набряків, полегшенню болю. Зменшує можливість утворення пухирів, запобігає інфекційним проявам.
2.	Косметика для відбілювання шкіри, що містить специфічні рослинні екстракти або їх засоби для лужної обробки	Tachikawa, Makoto	Японія	JP200120681 9 А 2001-07-31	Косметичний засіб, який пригнічує вироблення меланіну, відбілює шкіру та полегшує віковий наліт і веснянки.

3.	Китайський лікарський склад для лікування простатозу	Huang, Xing	Китай	CN1341427 A 2002-03-27	При лікуванні простатиту, гіперплазії передміхурової залози, орхіту, епідиміту, уретриту, генітального герпесу, олігурії, гідронефрозу та циститу.
4.	Засіб для догляду за порожниною рота для покращення видалення зубного каменю ультразвуковим способом.	Hu, Xiaokun; Liu, Mei; Qin, Tianmu	Китай	CN10938138 5 A 2019-02-26	При зніманні зубного каменю ультразвуком невеликої сили, запобігає кровотечі і інфекції.
5.	Нетоксичний спрей для лікування опіку та технології його отримання	Huang, Haining; Tang, Hongquan; Xu, Wenbing; Wang, Jianjun	Китай	CN10728130 3 A 2017-10-24	Полегшує біль при опіках, прискорює загоєння ураженої ділянок, має бактерицидну дію.

6.	Приготування китайської лікарської мазі для лікування опіків та шкіри голови		Китай	CN10512576 9 A 2015-12-09	Покращує загоєння ран, підвищує кровообіг та зменшує набряки.
7.	Китайський лікарський склад для лікування розладу поперекових хребців.	Zhang, Zhongjian	Китай	CN10326362 1 A 2013-08-28	Для лікування поперекової гіперостеогенії, пролапсу поперекового міжхребцевого диска, напруги поперекового м'язу та ревматичного або ревматоїдного попереку

8.	Лікарський препарат, що застосовується при гострому подагричному артриті та спосіб його застосування	Zhang, Lizhu	Китай	CN10358560 4 A 2014-02-19	Сприяє розсмоктуванню затвердінь, усуває набряки та зменшує больові відчуття. Застосовується безпосередньо на місці набряку та болю, миттєво відчувається охолоджуючий ефект.
9.	Склад традиційної китайської медицини для лікування гіперплазії часточки молочної залози	Dai, Huaying; Bi, Jianyao; Yang, Pengfei; Yu, Hongqian g; Liu, Rong	Китай	CN10577075 1 A 2016-07-20	Сприяє кровообігу, пом'якшенню та розсмоктуванню затвердінь, врівноваженню ендокринної системи для лікування різних типів лобулярної гіперплазії молочної залози.

Додаток А.3

Таблиця 4.14 – Склад та вміст ідентифікованих сполук хлороформного екстракту трави *Caltha palustris* L.

№ з/п	Час утримання	Назва речовини	Вміст, %
1.	7.317	D-Лімонен	0,41
2.	8.846	Олеїнова кислота	0,12
3.	19.249	Генейкозан	0,34
4.	20.050	Генейкозан	0,66
5.	23.265	Трикозан C ₂₃ H ₄₈	0,27
6.	24.894	Гексадекан	0,73
7.	25.823	Докозан	0,34
8.	30.453	Етилпальмітат C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1,14
9.	31.868	Генейкозан	0,50
10.	32.168	Фітол	0,85
11.	32.268	Неідентифіковано	1,62
12.	32.582	Ізопропіл лінолеат C ₂₁ H ₃₈ O ₂	0,64
13.	32.654	Етил лінолеат C ₂₀ H ₃₄ O ₂	1,58
14.	32.954	Етил стеарат C ₂₀ H ₄₀ O ₂	0,55
15.	34.083	Октакозан C ₂₈ H ₅₈	0,50
16.	34.540	L-валін н-пентафторпропіоніл-, гептиловий естер C ₁₅ H ₂₄ F ₅ NO ₃	1,53
17.	34.912	Генейкозан	1,20
18.	35.498	Трикозан C ₂₃ H ₄₈	0,47
19.	35.783	Трикозан C ₂₃ H ₄₈	0,89
20.	35.926	Докозан	1,06
21.	36.241	Докозан	1,26
22.	36.312	Нонадекан	0,86
23.	36.612	Октадецил хлорид C ₁₈ H ₃₇ Cl	1,85
24.	36.969	Ейкозан C ₂₀ H ₄₂	1,31
25.	37.670	Генейкозан C ₂₁ H ₄₄	0,79
26.	37.998	Ейкозан C ₂₀ H ₄₂	0,79
27.	46.315	Андростендіол діацетат C ₂₃ H ₃₄ O ₄	0,05
28.	46.616	Петроселінова кислота C ₁₈ H ₃₄ O ₂	0,04
29.	46.716	Петроселінова кислота C ₁₈ H ₃₄ O ₂	0,04
30.	46.901	Дезоксидигідроестрон C ₁₈ H ₂₄ O	0,18
31.	47.087	Дезоксидигідроестрон C ₁₈ H ₂₄ O	0,27
32.	47.416	андрост-5-ен-3-ол, 4,4- диметил (3.бета.)	0,96
33.	48.202	Піридин- 3-карбоксамід, оксим-(N-2-трифторметилфеніл)	7,29
34.	48.388	Нордекстрометорфан (2-метоксиморфінан) C ₁₇ H ₂₃ NO	2,70
35.	48.531	Нордекстрометорфан (2-метоксиморфінан) C ₁₇ H ₂₃ NO	2,46
36.	48.631	Нордекстрометорфан (2-метоксиморфінан) C ₁₇ H ₂₃ NO	1,51

Продовження додаток А.3

Продовж. табл.4.14

37.	48.773	5,10-диметилбензакридин $C_{19}H_{15}N$	2.13
38.	48.816	5,10-диметилбензакридин $C_{19}H_{15}N$	1.09
39.	49.031	Нордекстрометорфан (2-метоксиморфіан) $C_{17}H_{23}NO$	2.55
40.	49.088	1,5 -диметилбензакридин $C_{19}H_{15}N$	2.50
41.	49.274	1,5 -диметилбензакридин $C_{19}H_{15}N$	0.92
42.	49.331	Нордекстрометорфан (2-метоксиморфіан) $C_{17}H_{23}NO$	1.24
43.	49.631	Нордекстрометорфан (2-метоксиморфіан) $C_{17}H_{23}NO$	1.17
44.	49.702		1.26
45.	49.788	5,10-диметилбензакридин $C_{19}H_{15}N$	1.02
46.	50.060	Неідентифіковано	1.03
47.	50.203	Геранілацетон $C_{13}H_{22}O$	2.23
48.	50.588	2-децилтридециловий ефір фумарової кислоти	1.26
49.	50.960	Неідентифіковано	1.84
50.	51.346	Нордекстрометорфан (2-метоксиморфіан) $C_{17}H_{23}NO$	1.69
51.	51.946	Нордекстрометорфан (2-метоксиморфіан) $C_{17}H_{23}NO$	0.27
52.	52.189	Нордекстрометорфан (2-метоксиморфіан) $C_{17}H_{23}NO$	0.22
53.	52.332	Нордекстрометорфан (2-метоксиморфіан) $C_{17}H_{23}NO$	0.29

Додаток А.4

Таблиця 4.15 – Склад та вміст ідентифікованих сполук хлороформного екстракту трави *Ficaria verna* Huds.

Компонентний склад леткої фракції КХ			
№ з/п	Час утримання	Назва речовини	Вміст, %
1.	7.303	D-лімонен	0.93
2.	8.217	Метилундекан C ₁₂ H ₂₆	1.03
3.	8.374	Ейкозан C ₂₀ H ₄₂	0.51
4.	14.548	Тридекан C ₁₃ H ₂₈	1.11
5.	14.777	Гексадекан	0.46
6.	17.935	1-йододекан C ₁₀ H ₂₁ I	0.61
7.	19.235	Гептадекан C ₁₇ H ₃₆	0.88
8.	19.907	Гептадекан C ₁₇ H ₃₆	0.78
9.	20.050	Гептадекан (тетракозан)	1.12
10.	24.894	Гексадекан (цетан)C ₁₆ H ₃₄	1.11
11.	27.595	Міртанал C ₁₀ H ₁₆ O	1.11
12.	28.438	Гідразид стеаринової кислоти C ₁₈ H ₃₈ N ₂ O	0.68
13.	28.938	2-амінобензофенон гідрозон	0.82
14.	30.067	Пальмітинова кислота C ₁₆ H ₃₂ O ₂	2.27
15.	30.196	Пальмітинова кислота C ₁₆ H ₃₂ O ₂	0.46
16.	31.339	Гептадекан	0.27
17.	31.868	Октадекан	0.75
18.	32.125	Фітол C ₂₀ H ₄₀ O	2.57
19.	32.411	(5Z)-5,17 – октадекадієніл ацетат	1.18
20.	32.611	Нонадекан	0.88
21.	32.654	Трикозан, ейкозан	0.68
22.	32.754	Генейкозан	0.62
23.	32.854	Пентадекан C ₁₅ H ₃₂	0.78
24.	33.711	Трибутил ацетилцитрат C ₂₀ H ₃₄ O ₈	0.51
25.	34.012	Трикозан C ₂₃ H ₄₈	0.84
26.	34.412	Трикозан C ₂₃ H ₄₈	1.63
27.	34.626	Олеамід C ₁₈ H ₃₅ NO	3.28
28.	34.712	Ейкозан C ₂₀ H ₄₂	0.83
29.	34.926	Октадекан C ₁₈ H ₃₈	0.54
30.	35.541	Метилгексадекан C ₁₇ H ₃₆	0.89
31.	35.784	Тетрадекан C ₁₄ H ₃₀	2.16
32.	36.041	Ейкозан C ₂₀ H ₄₂	2.92
33.	36.198	Фталева кислота, ізогексил неопентил естер	4.14
34.	36.427	Олеїнова кислота C ₁₈ H ₃₄ O ₂	1.04
35.	36.584	2-метилгексан C ₁₇ H ₃₆	1.72
36.	36.770	Олеїнова кислота C ₁₈ H ₃₄ O ₂	0.25
37.	36.841	Олеїнова кислота C ₁₈ H ₃₄ O ₂	0.51
38.	36.984	Октилдодеканол C ₂₀ H ₄₂ O	2.21
39.	37.670	Ейкозан C ₂₀ H ₄₂	2.16

Продовження додаток А.4

Продовж. табл.4.15

40.	37.784	1-докозен $C_{22}H_{44}$	4.10
41.	37.984	Хлороікозан $C_{20}H_{41}Cl$	1.08
42.	38.484	Тетракозан $C_{24}H_{50}$	1.85
43.	38.713	16-гексадеканолактон	0.99
44.	39.499	9-циклогексилгептадекан $C_{23}H_{46}$	1.84
45.	40.542	Трикозан $C_{23}H_{48}$	5.13
46.	40.800	Октакозил перфторбутират $C_{32}H_{57}F_7O_2$	0.96
47.	41.414	Ейкозан $C_{20}H_{42}$	1.09
48.	41.600	Метиллінолеат $C_{19}H_{34}O_2$	1.09
49.	43.515	2-нонео-1-ол $C_9H_{18}O$	1.18
50.	45.172	Ейкозан $C_{20}H_{42}$	6.23

Додаток А.5

Таблиця 4.16 – Склад та вміст ідентифікованих сполук хлороформного екстракту трави *Ranunculus acris* L.

№ з/п	Час утримання	Назва речовини	Вміст, %
1.	7.317	D-лімонен	0.62
2.	17.935	Міристальдегід C ₁₄ H ₂₈ O	0.59
3.	19.264	3-етилтридекан C ₁₅ H ₃₂	0,50
4.	19.921	Генейкозан C ₂₁ H ₄₄	0.40
5.	20.050	Гептадекан	0.55
6.	24.894	Генейкозан C ₂₁ H ₄₄	0.63
8.	25.809	Нонадекан	0.30
10.	28.595	3-метилнонадекан	0.53
11.	29.210	Октакозан C ₂₈ H ₅₈	0.70
12.	29.367	Генейкозан C ₂₁ H ₄₄	0.45
13.	30.110	Пальмітинова кислота C ₁₆ H ₃₂ O ₂	2.86
14.	30.196	Пальмітинова кислота C ₁₆ H ₃₂ O ₂	0.57
15.	31.339	Докозан C ₂₂ H ₄₆	0.39
16.	31.868	Генейкозан C ₂₁ H ₄₄	0.82
18.	32.182	Октакозан C ₂₈ H ₅₈	0.62
19.	32.282	2-(феніл-піперидиніл) метил)циклогексанол C ₁₈ H ₂₇ NO	1.92
20.	32.397	Тетракозан C ₂₄ H ₅₀	0.78
21.	32.597	9-метилнонадекан C ₂₀ H ₄₂	0.54
22.	32.668	Октакозан C ₂₈ H ₅₈	0.44
23.	32.754	Пентакозан C ₂₅ H ₅₂	0.41
24.	32.825	Лаурил амід C ₁₂ H ₂₅ NO	0.40
25.	33.011	Гексадекан (цетан) C ₁₆ H ₃₄	0.50
26.	33.168	Ейкозан C ₂₀ H ₄₂	0.39
27.	33.426	3-метилгептадекан C ₁₈ H ₃₈	0.51
28.	33.797	Нонадекан C ₁₉ H ₄₀	0.51
29.	34.054	9-метилнонадекан C ₂₀ H ₄₂	0.57
30.	34.126	Тетракозан C ₂₄ H ₅₀	0.45
31.	34.426	Пентакозан C ₂₅ H ₅₂	1.09
32.	34.612	Олеамід C ₁₈ H ₃₅ NO	2.65
33.	34.855	Нонадекан C ₁₉ H ₄₀	0.56
34.	34.926	Трикозан C ₂₃ H ₄₈	0.85
35.	35.269	Трикозан C ₂₃ H ₄₈	0.64
36.	35.541	3,6-диметил декан C ₁₂ H ₂₆	0.50
37.	35.626	Гептадекан C ₁₇ H ₃₆	0.77
38.	35.784	Бехеніл хлорид) 1-хлородокозан C ₂₂ H ₄₅ Cl	0.82
39.	35.941	Трикозан C ₂₃ H ₄₈	0.82
40.	36.012	Нонадекан C ₁₉ H ₄₀	1.15
41.	36.198	Нонадекан C ₁₉ H ₄₀	0.63
42.	36.255	2-метил-гептадекан C ₁₈ H ₃₈	0.70
43.	36.398	Трикозан C ₂₃ H ₄₈	0.68

Продовження додаток А.5

Продовж. табл.4.16

44.	36.627	Нонадекан $C_{19}H_{40}$	2.19
45.	36.984	2-метилгексадекан $C_{17}H_{36}$	1.59
46.	37.484	Ейкозан $C_{20}H_{42}$	1.38
47.	37.870	1,2-бензізотіазол,3-(гексагідро-1Н-азепін-1-іл)-,1,1-діоксид $C_{13}H_{16}N_2O_2S$	0.78
48.	37.999	Докозан $C_{22}H_{46}$	0.96
49.	38.327	3-метил-октадекан	0.95
	38.470	Трикозан	0.83
50.	38.685	Еруциламід (13-докозамід) $C_{22}H_{43}NO$	3.36
51.	39.027	Тетракозан	1.13
52.	40.128	1-гептадецен $C_{17}H_{34}$	0.94
53.	40.528	Трикозан $C_{23}H_{48}$	1.13
54.	41.971	Тетракозан	1.05
55.	45.158	Трикозан $C_{23}H_{48}$	2.21
56.	47.530	Бехеніл хлорид	0.70
57.	48.502	Нонадекан $C_{19}H_{40}$	1.09
58.	48.902	Пентатріаконтан	2.26
59.	49.245	3-метил-генейкозан	0.94
60.	49.517	Нонадекан $C_{19}H_{40}$	2.36
61.	49.903	Ейкозан $C_{20}H_{42}$	1.00
62.	50.203	Ейкозан $C_{20}H_{42}$	0.71
63.	50.246	Ейкозан $C_{20}H_{42}$	0.74
64.	50.560	Бехеніл хлорид) 1-хлородокозан $C_{22}H_{45}Cl$	0.65
65.	51.332	Гексадецил пропіл естер щавелевої кислоти	0.85
66.	51.389	1-ейкозен (цетил етилен) $C_{20}H_{40}$	1.27

Додаток А.6

Таблиця 6.1 – Результати дослідження гострої токсичності екстрактів *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. та складного екстракту

Досліджуваний екстракт	Концентрація водно-етанольного розчину	Доза досліджуваного екстракту, г/кг	Результати дослідження гострої токсичності, кількість загиблих тварин / загальна кількість тварин у групі
Екстракт <i>Caltha palustris</i> L.	20%	5	0/6
		10	0/6
		15	0/6
	40%	5	0/6
		10	0/6
		15	0/6
	70%	5	0/6
		10	0/6
		15	0/6
	90%	5	0/6
		10	0/6
		15	0/6

Екстракт <i>Ficaria verna</i> Huds.	20%	5	0/6
		10	0/6
		15	0/6
	40%	5	0/6
		10	0/6
		15	0/6
	70%	5	0/6
		10	0/6
		15	0/6
	90%	5	0/6
		10	0/6
		15	0/6
Екстракт <i>Ranunculus acris</i> L.	20%	5	0/6
		10	0/6
		15	0/6
	40%	5	0/6
		10	0/6
		15	0/6
	70%	5	0/6
		10	0/6
		15	0/6
	90%	5	0/6
		10	0/6
		15	0/6
Складний екстракт		5	0/6
		10	0/6
		15	0/6

Додаток А.7

Таблиця 6.2 – Динаміка маси тіла щурів під час вивчення гострої токсичності екстрактів *Caltha palustris*, *Ficaria verna*, *Ranunculus acris* L. та складного екстракту

Групи тварин	Концен-трація екстраген-та	Доза, г/кг	Маса тварин, гр.			
			Вихідні дані	3 день	7 день	14 день
Інтактні тварини		-	193±4	196±2	200±3	211±3
Екстракт <i>Caltha palustris</i> L.	20	5	194±4	198±2	203±3	215±3
		10	195±4	197±2	202±3	213±3
		15	193±4	196±2	200±3	211±3
	40	5	191±2	196±3	202±3	215±3
		10	193±2	197±2	204±3	214±3
		15	191±2	198±3	202±3	212±3
	70	5	191±3	197±3	204±2	214±4
		10	192±3	198±3	205±2	215±4
		15	193±3	197±3	202±2	216±4
	90	5	196±4	199±2	204±3	215±3
		10	196±4	198±2	202±3	214±3
		15	195±4	199±2	203±3	214±3

Екстракт <i>Ficaria verna</i> Huds.	20	5	194±4	198±2	203±3	215±3
		10	195±4	197±2	202±3	213±3
		15	193±4	196±2	200±3	211±3
	40	5	191±2	196±3	202±3	215±3
		10	193±2	195±2	204±3	214±3
		15	191±2	194±3	202±3	212±3
	70	5	191±3	193±3	201±2	211±4
		10	192±3	195±3	202±2	214±4
		15	193±3	197±3	202±2	216±4
	90	5	196±4	197±2	204±3	215±3
		10	196±4	198±2	205±3	213±3
		15	195±4	196±2	204±3	214±3
Екстракт <i>Ranunculus acris</i> L.	20	5	191±3	195±3	201±3	215±3
		10	192±4	198±2	203±3	215±3
		15	192±4	197±2	202±3	213±3
	40	5	191±4	196±2	200±3	211±3
		10	191±2	195±3	204±3	213±3
		15	193±2	197±2	204±3	214±3
	70	5	191±2	197±3	202±3	213±3
		10	192±3	197±3	204±2	214±4
		15	192±3	196±3	202±2	212±4
	90	5	195±3	198±3	203±2	216±4
		10	196±4	197±2	205±3	215±3
		15	196±4	197±2	204±3	214±3
Складний екстракт		5	192±2	195±4	199±2	203±3
		10	193±2	195±3	203±3	213±3
		15	191±3	196±2	203±3	215±3

Додаток А.8

Таблиця 6.3 – Протимікробна активність екстрактів *Caltha palustris* L., *Ficaria verna* Huds., *Ranunculus acris* L. та складного екстракту (метод дифузії в агар), $p < 0,05$

Штами мікроорганізмів	Діаметр зони затримки росту, мм																
	90% екстракт			Контроль	70% екстракт			Контроль	40% екстракт			Контроль	20% екстракт			Контроль	Складний екстракт
	<i>C.palustris</i>	<i>F.verna</i>	<i>R.acris</i>		<i>C.palustris</i>	<i>F.verna</i>	<i>R.acris</i>		<i>C.palustris</i>	<i>F.verna</i>	<i>R.acris</i>		<i>C.palustris</i>	<i>F.verna</i>	<i>R.acris</i>		
Стандартні штами																	
Staphylococcus aureus (ATCC 25923 (F-49))	0	0	7,0± 0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Escherichia coli (ATCC 25922)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Raoultella terrigena (ATCC 33257)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Клінічні штами																	
Staphylococcus aureus (MRSA) 23	0	8,8± 0,25	10,3± 0,25	0	0	9,1± 0,25	11,1± 0,25	0	0	0	0	0	0	0		0	10,3± 0,25
Escherichia coli 168 (MDR)	0	0		0	0	7,0± 0,2	10,0± 0,20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9,3± 0,2

Продовження додаток А.8

Продовж. табл.б. 3

Pseudomonas putida 182(пандрагрезистентра PDR)	11,0± 0,20		11,0± 0,20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bacillus cereus 34 (non- MDR)	10,1± 0,20	11,0± 0,20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Enterococcus faecalis 26 (MDR)	0	9,4± 0,20	18,1± 0,20	0	17,0± 0,25	18,6± 0,25	10,1± 0,20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15,5± 0,25

Примітки: ЛРС – лікарська рослинна сировина

Додаток А.9

Таблиця 6.10 – Біохімічні показники плазми крові білих щурів при застосуванні екстрактів трави *Caltha palustris* L., трави *Ficaria verna* Huds., трави *Ranunculus acris* L. та складного екстракту на моделі гострого тетрахлорметан-індукованого токсичного гепатиту ($M \pm m$, $n = 8$)

Групи/ Показники	Інтактний контроль	Моделльна патологія	Карсил, 150 мг/кг	<i>C.palustris</i> , 2 мл/кг	<i>F.verna</i> , 2 мл/кг	<i>R.acris</i> , 2 мл/кг	Складний екстракт, 2 мл/кг
<i>АЛТ, Од/л</i>	62,2±7,1	779,3±31,5 ^{#a}	446,1±26,3 ^{#a,b}	643,4±31,3 ^{#a}	582,6±35,7 ^{#a}	595,75±41,3 ^{#a,b,c}	621,6±39,7 ^{#a,b,c}
<i>АСТ, Од/л</i>	177,1±21,8	1018,5±48,4 ^{#a}	711,4±36,2 ^{#a,b}	943,7±65,4 ^{#a}	856,3±43,7 ^{#a}	876,4±62,1 ^{#a*^b}	854,3±47,0 ^{#a*^b}
<i>ЛФ, Од/л</i>	345,5±15,9	710,6±54,6 ^{#a}	597,2±40,1 ^{#a}	681,2±50,3 ^{#a}	615,4±43,9 ^{#a}	621,6±33,7 ^{#a}	614,3±45,2 ^{#a}
<i>гама-ГТП, МО/л</i>	3,2±0,9	10,8±3,9	8,1±2,7	9,8±2,9	10,5±3,2	10,1±2,9	9,6±3,4
<i>Білірубін загальний, мг/дл</i>	5,15±1,8	11,8±3,0	9,18±2,5	10,5±3,1	12,1±1,8	11,6±3,4	10,8±1,8
<i>Загальний білок, г/л</i>	61,4±5,3	61,5±4,9	69,6±7,1	70,1±6,4	68,3±7,1	70,7±4,9	69,4±7,1

Продовження додаток А.9

Продовж. табл.6. 7

<i>ЛДГ, Од/л</i>	681,2±32,9	1109,71±61,9 ^{#а}	905,5±57,1 ^{*а}	984,9±57,2 ^{#а}	1011,6±57,9 ^{#а}	998,2±47,6 ^{#а}	980,6±62,2 ^{#а}
<i>Холестерин загальний, ммоль/л</i>	1,45±0,19	3,63±1,0 ^{*а}	2,74±1,1	3,11±1,2	3,91±0,9	3,81±0,7	3,39±0,1
<i>Глюкоза, ммоль/л</i>	5,4±1,0	3,1±0,9	4,1±0,8	4,8±0,7	4,98±0,4	4,61±1,0	4,38±0,3

Примітки: * - $p \leq 0,05$; # - $p \leq 0,001$; ^а- по відношенню до групи “інтактний контроль”; ^б- по відношенню до групи “модельна патологія”; ^с- по відношенню до групи “Карсил”.

Додаток Б



УКРАЇНА



про реєстрацію авторського права на твір

Наукова стаття «Total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity of *Ficaria verna*»

Автор(и) **Карпюк Вікторія Русланівна (Viktoriia Karpiuk), Конечна Роксолана Тарасівна (Roksolana Konechna)**

Твір оприлюднено: **Опублікування: Viktoriia Karpiuk, Roksolana Konechna. Total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity of Ficaria verna / PNAP. Scientific journal of Polonia university – Czestochowa. - 2021. - P. 229-234.**

Дата реєстрації 2 вересня 2022 р.

**В.о. Генерального директора
Державного підприємства
«Український інститут
інтелектуальної власності»**



Олександр ОПАНАСЕНКО

Додаток Г.1



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Національного університету
«Львівська політехніка»

Давидчак О.Р.

«___» _____ 2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження:

Визначення кількісного вмісту дубильних речовин, алкалоїдів та кумаринів у рослинній сировині *Caltha palustris*, *Ficaria verna*, *Ranunculus acris* з використанням сучасних методів дослідження.

2. Ким запропоновано, адреса, виконавці:

м. Львів, вул. С. Бандери, 12

Кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології

Національний університет «Львівська політехніка»

к.фарм.н. доц. Конечна Р.Т., аспірант Карпюк В.Р., к.х.н., доц. Журахівська Л.Р.

3. Джерела інформації:

Визначення кількісного вмісту дубильних речовин, алкалоїдів та кумаринів у *Caltha palustris*, *Ficaria verna*, *Ranunculus acris*. В.Р. Карпюк, Ю.Т. Конечний, Л.Р. Журахівська, Р. Т. Конечна. Фітотерапія. Часопис, 1, 53–58, doi: 10.33617/2522-9680-2022-1-53

4. Впроваджено: у навчальний процес кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка».

5. Термін впровадження з 01.10.2022 р.

6. Ефективність впровадження:

Одержані результати та методологічні аспекти досліджень кількісного вмісту дубильних речовин, алкалоїдів та кумаринів у траві *Caltha palustris*, траві *Ficaria verna*, траві *Ranunculus acris* та встановлені перспективи застосування вищевказаних рослин родини *Ranunculaceae*, як сировинних джерел біологічно-активних сполук при розробці субстанцій різної напрямленості дії, що наведено у вказаному джерелі, впроваджено у навчальний процес при вивченні дисципліни «Фармакогнозія» спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація».

7. Зауваження, пропозиції – немає.

Завідувач кафедри біологічно активних
сполук, фармації та біотехнології, д.х.н., професор

 В.І. Лубенець

Додаток Г.2



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Національного університету
«Львівська політехніка»

Давидчак О.Р.

» 2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження:

Проведення ресурсознавчих досліджень та вивчення перспектив застосування неофіційних лікарських рослин родини *Ranunculaceae* у наукових дослідженнях, щодо впровадження їх у практичну фармацію та розробки на їх основі субстанцій різної спрямованості дії.

2. Ким запропоновано, адреса, виконавці:

м. Львів, вул. С. Бандери, 12

Кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології

Національний університет «Львівська політехніка»

к.фарм.н. доц. Конечна Р.Т., аспірант Карпюк В.Р., В.В. Даруга.

3. Джерела інформації:

Clematis vitalba. Аналітичний огляд літератури. В.В. Даруга, В.Р. Карпюк, Ю.Т. Конечний, Р.Т. Конечна. Фітотерапія. Часопис. № 4. 2021. С.30-35

4. Впроваджено: у навчальний процес кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка».

5. Термін впровадження з 01.10.2022 р.

6. Ефективність впровадження:

Результати аналітичного огляду літературних джерел щодо ботанічної характеристики, ареалу поширення, сировинних запасів, вмісту біологічно активних речовин, фармакологічної дії та застосування рослини *Clematis vitalba* родини *Ranunculaceae*, які представлені у вищевказаній публікації, впроваджені у навчальний процес при вивченні дисципліни «Ресурсознавство лікарських рослин» спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація».

7. Зауваження, пропозиції – немає.

Завідувач кафедри біологічно активних
сполук, фармації та біотехнології, д.х.н., професор

В.І. Лубенець

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з науково-педагогічної роботи
Національного університету
«Львівська політехніка»
Давидчак О.Р.
2022 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження:

Вивчення аспектів застосування методів наносинтезу для екстрактів рослинної сировини окремих представників родини *Ranunculaceae*.

2. Ким запропоновано, адреса, виконавці:

м. Львів, вул. С. Бандери, 12

Кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології
Національний університет «Львівська політехніка»
к.фарм.н. доц. Конечна Р.Т., аспірант Карпюк В.Р.

3. Джерела інформації:

1. Liakh, V. R.; Konechna, R. T. Прикладні аспекти застосування лікарських рослин родини *Ranunculaceae* в етномедицині та фармації. Publishing House "Baltija Publishing", 2021.
2. Зелений наносинтез в екстракті *Caltha palustris* Ревякіна Н.А., Лях В.Р., Конечна Р.Т., Новіков В.П. V Міжнародна практично-наукова інтернет-конференція (26 листопада 2020р., Харків) -2020 - с.407-410
3. Аспекти наносинтезу в екстрактах *Ficaria verna*. Лях В.Р., Конечна Р.Т., Юзьків С.Л., Новіков В.П. V Міжнародна практично-наукова інтернет-конференція (26 листопада 2020р., Харків) -2020 - с.225-526

4. Впроваджено: у навчальний процес кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка».

5. Термін впровадження з 01.10.2021 р.

6. Ефективність впровадження:

Результати досліджень методів наносинтезу екстрактів рослинної сировини представників родини *Ranunculaceae*, які наведені у вищевказаних джерелах, впроваджені у навчальний процес при вивченні дисципліни «Технологія біологічно-активних речовин, біомедполімерів і наноструктур» спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація».

7. Зауваження, пропозиції – немає.

Завідувач кафедри біологічно активних
сполук, фармації та біотехнології, д.х.н., професор

В.І. Лубенець

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з навчальної роботи та рекрутації,
кандидат філологічних наук, професор
Громик Юрій Васильович

«_____» _____ 20__ р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження:

Вивчення перспектив застосування неофіційних лікарських рослин родини *Ranunculaceae* у наукових дослідженнях, щодо впровадження їх у практичну фармацію та розробки на їх основі субстанцій різної спрямованості дії.

2. Ким запропоновано, адреса, виконавці:

м. Львів, вул. С. Бандери, 12
Кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології
Національний університет «Львівська політехніка»
к.фарм.н. доц. Конечна Р.Т., аспірант Карпюк В.Р.

3. Джерела інформації:

1. Жовтець їдкий (*Ranunculus acris* L.) аналітичний огляд поширення, хімічного складу, біологічної активності та медичного застосування. Карпюк В. Р., Юзьків С. Л., Журахівська Л. Р., Конечна Р. Т., Конечний Ю. Т. Фармацевтичний часопис. – 2021. – № 3 (59). – С. 74–82.

2. Перспективи використання *Ranunculus acris* у фармації. Юзьків С. Л., Карпюк В. Р., Червцова В. Г., Конечна Р. Т. The concept of modern pharmacy and medicine in Ukraine and EU countries : conference proceedings of the International scientific and practical conference, July 9–10, 2021, Wloclawek. – 2021. – С. 126–128.

4. Впроваджено: у навчальний процес кафедри органічної хімії та фармації.

5. Термін впровадження: жовтень-листопад 2022 р.

6. Ефективність впровадження:

Аналітичний огляд літературних джерел щодо ботанічної характеристики, ареалу поширення, вмісту біологічно активних речовин, фармакологічної дії та застосування рослини *Ranunculus acris* представлений у вищевказаній публікації та впроваджений у навчальний процес при вивченні освітнього компонента «Ресурсознавство лікарських рослин» спеціальності 226 Фармація, промислова фармація.

7. Зауваження, пропозиції – немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри органічної хімії
та фармації Волинського національного
університету імені Лесі Українки,
к.хім.н., доцент

Н.Ю. Сливка

Додаток Г.5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор
з науково-педагогічної роботи,
Львівського національного
медичного університету
імені Данила Галицького,

Солонинко Ірина Іллівна
«18» 05 2023 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження:

Дослідження складу, антиоксидантної та протимікробної дії екстрактів одержаних з рослинної сировини окремих представників родини *Ranunculaceae*.

2. Ким запропоновано, адреса, виконавці:

м. Львів, вул. С. Бандери, 12

Кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології

Національний університет «Львівська політехніка»

к.фарм.н. доц. Конечна Р.Т., аспірант Карпюк В.Р.

3. Джерела інформації:

1. Дослідження складу та дії хлороформного екстракту трави *Ficaria verna*. В.Р. Карпюк, Н.В. Поліш, Н.Я. Качмар-Кос, І.В. Павлюк, Р.Т. Конечна. Chemistry, technology and application of substances. №5(1). С.61-66.

2. Дослідження екстрактів *Ranunculus acris*. Карпюк В. Р., Конечна Р. Т., Конечний Ю. Т. PLANTA+. Наука, практика та освіта : матеріали III Науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 180-річчю Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, 18 лютого 2022 року, м. Київ. – 2022. – С. 21–23..

4. Впроваджено: у навчальний процес кафедри мікробіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

5. Термін впровадження: лютий – березень 2023 р.

6. Ефективність впровадження:

Результати досліджень складу, антиоксидантної та антимікробної дії екстрактів одержаних на основі досліджуваної лікарської рослинної сировини окремих представників родини *Ranunculaceae* представлені у вищевказаних публікаціях та впроваджені у навчальний процес при вивченні дисципліни «Мікробіологія з основами імунології» та вибіркової дисципліни «Мікроорганізми у біотехнологічних процесах» спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація».

7. Зауваження, пропозиції – немає.

Завідувач кафедри мікробіології,
д.м.н., професор

Олена КОРНІЙЧУК

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор закладу вищої освіти з
наукової роботи Тернопільського
національного медичного університету
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
проф. І.М. Кліш
» 2023 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження:

Дослідження кількісного вмісту фенолів та флавоноїдів та вивчення антиоксидантної активності екстрактів на основі рослинної сировини окремих представників родини *Ranunculaceae*.

2. Ким запропоновано, адреса, виконавці:

м. Львів, вул. С. Бандери, 12

Кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології
Національний університет «Львівська політехніка»

к.фарм.н. доц. Конечна Р.Т., аспірант Карпюк В.Р.

3. Джерела інформації:

1. Total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity of *Ficaria verna*. Karpiuk V., Konechna R. *Periodyk Naukowy Akademii Polonijnej (PNAP)*. – 2021. – Т. 46, No. 3. – S. 229–234

2. Total phenolic content of *Caltha palustris*. Karpiuk V., Konechna R. 1st International conference on botany and mycology : abstracts book, 25–26 October 2021, Sofia, Bulgaria. – 2021. – С. 39.

4. Впроваджено: у навчальний процес кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського

5. Термін впровадження: лютий – березень 2023 р.

6. Ефективність впровадження: поглиблення знань здобувачів вищої освіти з питань хімічного складу та фармакологічної активності видів родини *Ranunculaceae*, які наведені у вищевказаних джерелах.

7. Зауваження, пропозиції – немає.

Завідувач кафедри фармакогнозії
з медичною ботанікою,
д.фарм.н., професор



С.М. Марчишин

Додаток Д

ПРОЄКТ

ЗАТВЕРДЖЕНО

Наказ міністерства охорони здоров'я
України

№ _____ від _____

Реєстраційне посвідчення

№ _____

Заявник, країна _____

Виробник, країна _____

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

ЕКСТРАКТ ТРАВИ *CALTHA PALUSTRIS* L.

Екстракт рідкий в полімерній тарі

Додаток Д прод.

МАРКУВАННЯ

На етикетці вказують : назва сировини латинською мовою, адреса постачальника, його товарний знак, маса нетто, маса брутто, реєстраційний номер, номер партії, термін придатності.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

В полімерній тарі, у захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°C.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Розробник

Аспірант кафедри біологічно активних сполук,

фармації та біотехнології

Національного університету

«Львівська політехніка»

Карпюк В.Р.

Завідувач кафедри біологічно активних сполук,

фармації та біотехнології

Національного університету

«Львівська політехніка»

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
«ЛЬВІВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА»
КАДРІВ
02071010
НАЧАЛЬНИК ВІДДІЛУ КАДРІВ
ПІДПИС ЗАСВІДЧУЮ

Директор Інституту хімії

та хімічних технологій

Національного університету

«Львівська політехніка», д.т.н., проф.

Лубенець В.І.

Скорохода В.І.



Додаток Е

ПРОСКТ

ЗАТВЕРДЖЕНО

Наказ міністерства охорони здоров'я
України

№ _____ від _____

Реєстраційне посвідчення

№ _____

Заявник, країна _____

Виробник, країна _____

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

ЕКСТРАКТ ТРАВИ *FICARIA VERNA* HUDS.

Екстракт рідкий в полімерній тарі

Додаток Е прод.

МАРКУВАННЯ

На етикетці вказують : назва сировини латинською мовою, адреса постачальника, його товарний знак, маса нетто, маса брутто, реєстраційний номер, номер партії, термін придатності.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

В полімерній тарі, у захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°C.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Розробник

Аспірант кафедри біологічно активних сполук,

фармації та біотехнології

Національного університету

«Львівська політехніка»

Карпюк В.Р.

Завідувач кафедри біологічно активних сполук,

фармації та біотехнології

Національного університету

«Львівська політехніка»

Директор Інституту хімії та хімічних технологій

Національного університету

«Львівська політехніка», д.т.н., проф.

«Львівська політехніка», д.т.н., проф.

Лубенець В.І.

Скорохода В.І.



Додаток Є

ПРОСКТ

ЗАТВЕРДЖЕНО

Наказ міністерства охорони здоров'я
України

№ _____ від _____

Реєстраційне посвідчення

№ _____

Заявник, країна _____

Виробник, країна _____

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

ЕКСТРАКТ ТРАВИ *RANUNCULUS ACRIS* L.

Екстракт рідкий в полімерній тарі

Додаток Є прод.

МАРКУВАННЯ

На етикетці вказують : назва сировини латинською мовою, адреса постачальника, його товарний знак, маса нетто, маса брутто, реєстраційний номер, номер партії, термін придатності.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

В полімерній тарі, у захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°C.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Розробник

Аспірант кафедри біологічно активних сполук,

фармації та біотехнології

Національного університету

«Львівська політехніка»

Карпюк В.Р.

Завідувач кафедри біологічно активних сполук,

фармації та біотехнології

Національного університету

«Львівська політехніка»

КАДРІВ НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ
«ЛЬВІВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА»
ПІДПИС ЗАСВІДЧУЮ
02071010
НАЧАЛЬНИК ВІДДІЛУ КАДРІВ

Директор Інституту хімії

та хімічних технологій

Національного університету

«Львівська політехніка», д.т.н., проф.

Лубенець В.І.

Скорохода В.Й,



Додаток Ж

ПРОЄКТ

ЗАТВЕРДЖЕНО

Наказ міністерства охорони здоров'я
України

№ _____ від _____

Реєстраційне посвідчення

№ _____

Заявник, країна _____

Виробник, країна _____

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

СКЛАДНИЙ ЕКСТРАКТ ТРАВИ
***CALTHA PALUSTRIS L.*, ТРАВИ *FICARIA VERNА HUDS.* ТА**
ТРАВИ *RANUNCULUS ACRIS L.*

Екстракт рідкий в полімерній тарі

Додаток Ж прод.

МАРКУВАННЯ

На етикетці вказують : назва сировини латинською мовою, адреса постачальника, його товарний знак, маса нетто, маса брутто, реєстраційний номер, номер партії, термін придатності.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

В полімерній тарі, у захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°C.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Розробник

Аспірант кафедри біологічно активних сполук,

фармації та біотехнології

Національного університету

«Львівська політехніка»

Карпюк В.Р.

Завідувач кафедри біологічно активних сполук,

фармації та біотехнології

Національного університету

«Львівська політехніка»



Директор Інституту хімії

та хімічних технологій

Національного університету

«Львівська політехніка», д.т.н., проф.

Лубенець В.І.



Скорохода В.І.