

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

Фармацевтичний факультет

Кафедра організації та економіки фармації з технологією ліків

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

_____ Наталія БЕЛЕЙ

«___» _____ 2024 р.

УДК 615.07.322:66.061.3:582.921:581.44

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему: Дослідження впливу методу екстрагування на ступінь вилучення
біологічно активних речовин із золототисячника звичайного трави**

Виконав здобувач вищої освіти V курсу

заочної форми навчання

спеціальності 226 Фармація, промислова фармація

_____ Павло КРИВОШ

Науковий керівник:

кандидат фармацевтичних наук, доцентка, доцентка закладу вищої

освіти кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків

_____ Лілія БУДНЯК

ТЕРНОПІЛЬ 2024

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	4
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1 ЗОЛОТОТИСЯЧНИК ЗВИЧАЙНИЙ – ПЕРСПЕКТИВНА РОСЛИНА ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ РОСЛИННИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	8
1.1 Ботанічна характеристика, поширення та хімічний склад золототисячника звичайного	8
1.2 Сучасний стан досліджень золототисячника звичайного спрямованих на подальшу розробку лікарських засобів та дієтичних добавок	11
1.3 Методи одержання лікарських засобів на рослинній основі	15
Висновок до розділу 1	17
РОЗДІЛ 2 ОБ’ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	18
2.1 Об’єкти дослідження	18
2.2 Короткі відомості про прилади, методи і реактиви	18
2.3 Методики встановлення якісного складу БАР та визначення їх кількісного вмісту	19
Висновок до розділу 2	24
РОЗДІЛ 3 АНАЛІЗ ВІТЧИЗНЯНОГО РИНКУ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ НА ОСНОВІ ЗОЛОТОТИСЯЧНИКА ЗВИЧАЙНОГО ТА ОЦІНКА ВПЛИВУ МЕТОДІВ ЕКСТРАГУВАННЯ НА ВИЛУЧЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ІЗ РОСЛИНИ	25
3.1 Аналіз асортименту лікарських засобів на основі золототисячника звичайного	25

3.2 Вплив методів екстрагування на ступінь вилучення біологічно активних речовин, кількість одержаного сухого залишку та вихід екстрактивних речовин із золототисячника звичайного трави	26
3.2.1 Вплив методу екстрагування на вилучення суми кислот гідроксикоричних	27
3.2.2 Вплив методу екстрагування на вилучення суми флавоноїдів	29
3.2.3 Вплив методу екстрагування на вилучення суми поліфенолів	31
3.2.4 Вплив методу екстрагування на кількість одержаного сухого залишку	32
3.2.5 Вплив методу екстрагування на вихід екстрактивних речовин	33
3.3 Якісний склад та кількісний вміст індивідуальних сполук кислот гідроксикоричних	34
3.4 Якісний склад та кількісний вміст індивідуальних сполук флавоноїдів	36
Висновок до розділу 3	38
ВИСНОВКИ	39
ДОДАТКИ	48

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАР – біологічно активні речовини;

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я;

ДФУ – Державна фармакопея України;

ЛЗ – лікарський засіб;

ФСЗ – Фармакопейний стандартний зразок.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження.

Рослини протягом століть використовують не тільки як джерело харчування, але й для лікування багатьох захворювань. Особливо цінними є ті рослини, що мають комплексну дію, оскільки вони можуть бути ефективними у лікуванні ряду супутніх захворювань.

Традиційна медицина є основним джерелом інформації при пошуку нових лікарських рослин. Використовуючи багатовіковий досвід та сучасні наукові досягнення у фармакогнозії, фармакології, технології виробництва лікарських засобів (ЛЗ) та фармацевтичній хімії, було розроблено велику кількість фітопрепаратів на основі біологічно активних речовин (БАР), одержаних із сировини лікарських рослин. На сьогоднішній день багато рослин є та залишаються об'єктами наукових досліджень.

Незважаючи на те, що кожного року кількість синтетичних ЛЗ, які часто моделюють БАР рослин збільшується, рослини не втрачають своєї важливості. ЛЗ рослинного походження мають перевагу над синтетичними, оскільки рідко викликають побічні реакції і добре переносяться пацієнтами будь-якого віку.

Експериментальні дослідження та клінічне використання лікарських засобів рослинного походження підтверджують їхню високу ефективність у лікуванні багатьох, особливо хронічних, захворювань [1-4].

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), близько 10-50 % людей у країнах із високим показником валового внутрішнього продукту на душу населення регулярно використовують засоби на рослинній основі у тій чи іншій формі. Основна причина їх вживання полягає у тому, що вони вважаються більш безпечними порівняно з синтетичними, але, на жаль, не завжди дешеві та доступні у країнах, що розвиваються. Найпоширенішими причинами застосування рослинних засобів є кашель, застуда, психічні та шлунково-кишкові захворювання, а також болючі стани, такі як біль у суглобах, ревматичні захворювання, скутість тощо [5].

З огляду на те, що на фармацевтичному ринку України ЛЗ на основі золототисячника звичайного представлені у незначній кількості, дане дослідження є актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами

Наукова робота виконана в рамках науково-дослідної програми кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України «Дизайн досліджень із фармацевтичної розробки лікарських засобів, маркетингового і фармакоекономічного аналізу, фармакологічної і клінічної активності" (номер Державної реєстрації 0123U100065).

Мета і завдання дослідження

Метою кваліфікаційної роботи було дослідити вплив режимів екстрагування на ступінь вилучення БАР із золототисячника звичайного трави.

Для реалізації цієї мети необхідно виконати такі завдання:

- провести інформаційний пошук і проаналізувати джерела літератури щодо поширення, хімічного складу, фармакологічної активності золототисячника звичайного та застосування у традиційній та офіциналній медицині;
- дослідити асортимент лікарських засобів, дієтичних добавок із золототисячника звичайного трави, що представлені на фармацевтичному ринку;
- дослідити вплив режимів екстрагування на ступінь вилучення біологічно активних речовин із золототисячника звичайного трави;
- встановити методом ВЕРХ якісний склад та визначити кількісний вміст індивідуальних флавоноїдів та кислот гідроксикоричних у витяжках із найвищим вмістом суми цих біологічно активних речовин.

Об'єкти дослідження – золототисячника звичайного (*Centaureum erythraea*) трава, витяжки із золототисячника звичайного трави.

Предмет дослідження – вплив режиму екстрагування на ступінь вилучення БАР із золототисячника звичайного трави.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше досліджено вплив різних методів екстрагування на ступінь вилучення деяких БАР із золототисячника звичайного трави.

Встановлено, що метод мацерація з перемішуванням забезпечує найбільший вихід суми кислот гідроксикоричних, суми флавоноїдів та суми поліфенолів у порівнянні з іншими методами. Одержані дані можуть бути використані для дослідження фармакологічної активності золототисячника звичайного трави, а також подальшого виробництва ЛЗ на його основі.

Практичне значення одержаних результатів. Вибір методу мацерації з перемішуванням як найбільш ефективного, за результатами проведених досліджень, методу забезпечує вилучення найбільшої кількості досліджуваних БАР. Дані знання можуть дозволити підприємствам удосконалити свої технологічні процеси, зменшити втрати активних компонентів та підвищити ефективність готових продуктів.

Апробація результатів роботи. Результати роботи викладенні та обговоренні на Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю “Запорізький фармацевтичний форум-2023” (Запоріжжя, 2023) та Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю “Сучасна фармація: реалії сьогодення та перспективи розвитку” (Одеса, 2024).

Публікації. За матеріалами кваліфікаційної роботи опубліковано 2 тез доповідей у матеріалах Всеукраїнських конференцій з міжнародною участю, одна з яких представлена у вигляді стендової доповіді.

РОЗДІЛ 1
ЗОЛОТОТИСЯЧНИК ЗВИЧАЙНИЙ – ПЕРСПЕКТИВНА РОСЛИНА
ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ РОСЛИННИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ
(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

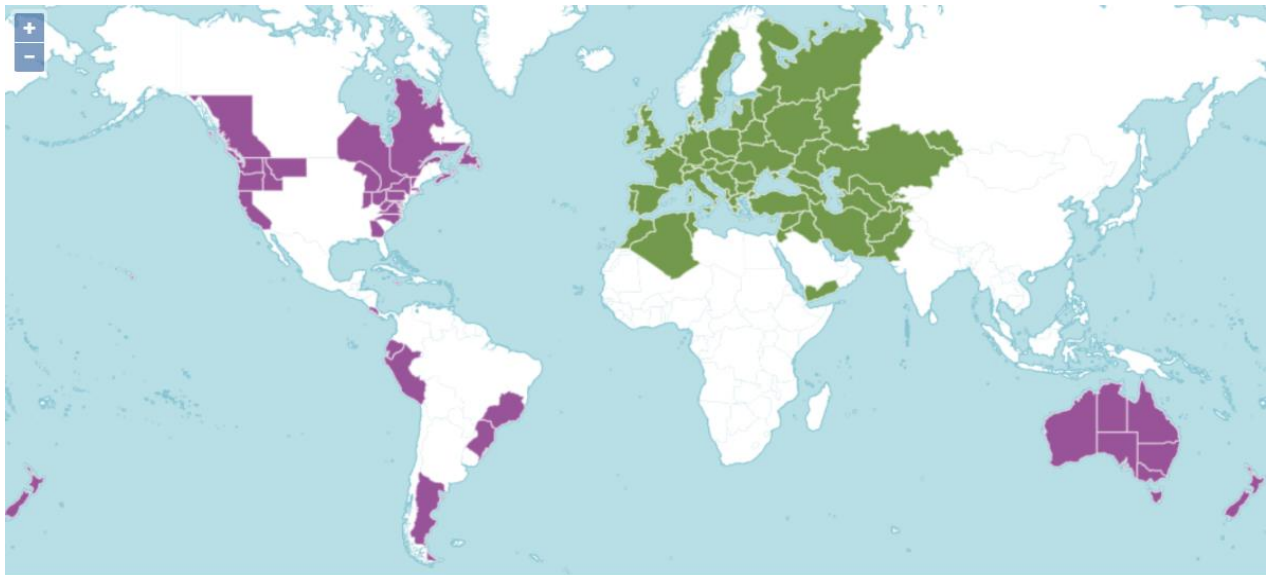
1.1 Ботанічна характеристика, поширення та хімічний склад золототисячника звичайного

Золототисячник звичайний (*Centaurium erythraea* Rafn.) – дворічний/однорічний вид (заввишки 2-50 см) з поодинокими (рідше 2-5) стеблами, чотиригранними, у верхній частині розгалуженими, причому гілки спрямовані вгору [6, 7]. Прикореневі листки обернено-яйцеподібні або еліптичні, з виразними від 3 до 7 жилками. Стеблові листки коротші, вузькі та гострі, а квіти сидячі або майже сидячі. Крім того, наявні бічні квітки з 2 маленькими приквітками, розташованими трохи нижче чашечки [8]. Віночок приблизно 10 мм завдовжки і до 10 мм в діаметрі. Квітки яскраво-рожевого кольору, п'ятипелюсткові, зібрані в зонтикоподібне суцвіття. Період цвітіння рослини припадає з червня по серпень [7]. Смак рослини гіркий. Запах ніжний, невиразний.

Centaurium erythraea Rafn. належить до родини *Gentianaceae*. Ця лікарська рослина була описана Діоскоридом ще в першому столітті нашої ери. *Centaurium erythraea* широко поширена в більшості країн Європи [9].

Рідним ареалом цього виду є Азорські острови, Марокко, Європа до Південного Сибіру та Іран, Ємен (рис. 1.1).

Більшість популяцій *Centaurium erythraea* Rafn. в Центральній Європі зменшується через надмірне використання та погіршення природних середовищ існування.



■ Рідна ■ Введено

Рисунок 1.1 – Ареал поширення *Centaurium erythraea* Rafn. [8]

Основними сполуками, виділеними із *Centaurium erythraea* Rafn., були ксантони та секоїридоїди. Секоїридоїди, такі як генціопікрин і сверозид, та ксантони були ідентифіковані з водного екстракту наземних частин золототисячника вирощеного у Португалії [10].

Van der Sluis і Labadie були першими дослідниками, які ідентифікували три секоїридоїди у метаноловому екстракті з квіток *Centaurium erythraea* Rafn., зокрема сверозид, свертіамарин (основна сполука) та генціопікрин [8].

Дослідження Siler та інших продемонструвало, що метаноловий екстракт наземних частин і коренів *Centaurium erythraea* Rafn., що походять з Сербії, багатий на секоїридоїдні глікозиди, а саме генціопікрин, свертіамарин та сверозид. В іншому дослідженні Siler та інших були ідентифіковані ті ж секоїридоїдні глікозиди та ксантони, включаючи еустомін, диметилеустомін у тій же частині та типі екстракту золототисячника з мангіферином як внутрішнім стандартом. У тій же країні (Сербія), дослідники змогли ідентифікувати секоїридоїди та ксантони з метанолового екстракту наземних частин і коренів *Centaurium erythraea* Rafn [11, 12].

Методом ВЕРХ у ліофілізованому екстракті наземних частин рослини, вирощених у Північній Македонії, виявили наявність чотирьох різних секоїридоїдів, що становлять 53 % (свертіамарин, генціопікрин, сверозид та центапікрин), і семи ксантонів, що становлять 22 % (метоксиксантон та його похідні, такі як 1-гідрокси-3-метокси-ксантоїн-3 рамноза, 1-гідрокси-3-метокси-ксантон, 3-гідрокси-3-метокси-ксантон, 3-гідрокси-3-метокси-ксантон та еустомін) [13, 14].

Вочуауа та інші досліджували склад ефірної олії *Centaureum erythraea* Rafn. з Марокко і виявила, що основними терпеноїдами, виділеними з цієї рослини, були карвакрол, ментол та трикозан [15]. Фітохімічний аналіз ефірної олії золототисячника, що походить із Сербії, призвів до ідентифікації кількох домінуючих сполук, а саме неофітадієну ізомеру III (10,1 %), карвакролу (7,9 %), *n*-камфорену (5,6 %), гексадеканової кислоти (4,9 %) і тимолу (4,2 %) [16].

Основною сполукою жирних кислот, що ідентифікована у *Centaureum erythraea* Rafn. (ефірна олія), що походить із Сербії, була гексадеканова кислота (4,9 %) [16]. Однак пальмітинова та лінолева кислоти були основними жирними кислотами, ідентифікованими із золототисячника (фракція ефірної олії) з Хорватії [17]. Сполуки ефірної олії змінювалися у залежності від походження золототисячника та виду екстракту.

Золототисячник звичайний багатий на фенольні кислоти та флавоноїди. Загальний вміст фенольних сполук у різних екстрактах золототисячника звичайного з Болгарії становив від 595,17 до 2208,6 мкг/г. Найнижчий вміст було отримано за допомогою мікрохвильової екстракції. Настойка рослини містила 1009 мкг/г фенолів. Сполуки, що ідентифіковані у всіх екстрактах – розмаринова кислота та *n*-кумарова кислота [18].

Chda та інші встановили, що метанольний екстракт з надземної частини золототисячника багатий на флавоноїди. Найбільш розповсюдженими флавоноїдами були кемпфероль-3-*O*-(*n*-кумароїль, рамнозил) рутинозид-7-*O*-рамнозид та кверцетин-3-*O*-(рамнозил) рутинозид-7-*O*-(*n*-кумароїл)

рутинозид, які складали відповідно 23,3 та 18,1 % від загального вмісту фенольних сполук. Ізорамнетин-3-*O*-(*n*-кумароїл, рамнозил) рутинозид 7-*O*-рамнозид був єдиним ідентифікованим похідним ізорамнетину, який складав 6,4 % від загального вмісту фенольних сполук.

Фітохімічний аналіз водного екстракту із золототисячника методом ВЕРХ показав наявність 22 глікозидів флавоноїдів, що включають похідні ацильованого кверцетину, кемпферолу та ізорамнетину. Водний екстракт квітучих верхівок містив *n*-кумароїл-похідні кверцетину-3-*O*-(рамнозил) рутинозиду-7-*O*-рамнозиду та кемпферол-3-*O*-(*n*-кумароїл, рамнозил) рутинозиду-7-*O*-рамнозиду [19].

Аналіз метанольного екстракту лікарської рослини з Північної Македонії методом ВЕРХ виявив наявність 7 глікозидів флавоноїдів (кверцетину, кемпферолу та їх похідних), які становили 25 % всіх сполук [14]. Загальний вміст фенольних сполук у етанольному екстракті рослини вирощеної у Румунії становив 271,613 мг/л у перерахунку на галову кислоту [20].

Золототисячника звичайного трава також містить: ефірну олію, слиз, сліди кислоти нікотинової, кислоту аскорбінову, каротиноїди, дубильні речовини, барвники, смоли, віск, солі Хрому.

Показник гіркот для золототисячника повинен становити не менше 2000 [21].

1.2 Сучасний стан досліджень золототисячника звичайного спрямованих на подальшу розробку лікарських засобів та дієтичних добавок

Численні дослідження показали антибактеріальну ефективність ефірних олій й екстрактів з різних частин золототисячника звичного [22-26].

Siler та інші тестували антибактеріальну активність метанолових екстрактів надземної частини і корнів золототисячника. Екстракти продемонстрували антибактеріальну активність. Найбільш чутливими до

метанолового екстракту були *Bacillus cereus*, *Micrococcus flavus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Salmonella typhimurium* з МІС значенням 0,10 мг/мл.

Противіробкову активність екстрактів і ефірної олії *Centaureum erythraea* Rafn. проти багатьох видів грибів було описано в кількох роботах [23, 27, 28]. Метаноловий екстракт, отриманий із наземної частин рослини, був оцінений проти 8 видів грибів за допомогою методу мікророзведення. Результати показали, що використаний екстракт виявив сильну активність проти *Penicillium funiculosum*, *Penicillium ochrochloron* тощо.

Противіробкова активність може бути пов'язана з секоїридоїдними глікозидами (монотерпенами) та фенольними сполуками, включаючи флавоноїди та ксантони [22]. Багато досліджень підкреслюють антимікробну активність деяких іридоїдних глікозидів, але тільки у присутності рослинних β -глюкозидаз, що свідчить про те, що вплив на мікроорганізми був обмежений агліконовою формою. Противіробковий ефект також може бути зумовлений наявністю аглікону генціопікрину та його метаболізованого продукту.

Різні дослідження показали антиоксидантну активність ефірної олії та екстрактів із різних частин золототисячника звичайного, використовуючи відомі методи, такі як DPPH, FRAP, β -каротен, ABTS, NO, TAC, TBARS та CUPRAC [23-26, 28-32]. *n*-Гексановий екстракт продемонстрував значну здатність зменшувати радикал DPPH ($IC_{50} = 49,54 \pm 2,43$ мкг/мл), за яким слідували метаноловий, етил ацетатний та етаноловий екстракти. Отже, результати різних методів аналізу показали, що метанолові екстракти з надземної частини рослини були більш ефективні (до 13 разів), ніж ті, що з коренів.

Численні дослідження повідомляли про *in vitro* та *in vivo* антидіабетичний ефект екстрактів та ефірної олії, отриманих з різних частин золототисячника [33-35]. Loizzo та інші продемонстрували інгібуючий ефект хлороформного екстракту на α -глюкозидазу та α -амілазу зі значеннями IC_{50} 74,9 та 64,9 мкг/мл відповідно.

Лікування золототисячником, також, зменшило розвиток жирової дистрофії печінки на 70 %. Воно також зменшило тяжкість макровезикулярної жирової дистрофії печінки та накопичення тригліцеридів, пригнічувало гіпертригліцеридемію, гіперглікемію та покращувало чутливість до інсуліну [36, 37].

Kachmar та інші досліджували протизапальний ефект екстрактів золототисячника звичайного. Вони оцінили *in vitro* протизапальну дію водного екстракту досліджуваної рослини за допомогою спектрофотометричних мікродосліджень у неклітинних і клітинних системах (макрофагальна клітинна лінія RAW 267.4). Результати показали, що водний екстракт листя пригнічував 5-ліпоксигеназу в залежності від дози і не впливав на активність мітохондрій при тестованих концентраціях [19].

Цитотоксичну активність екстрактів золототисячника звичайного було досліджено у кількох дослідженнях [38]. Золототисячник звичайний виявив значний антипроліферативний ефект проти людських ракових клітин з IC50 значеннями 7,5, 8,00, 6,00, 5,75, 7,55 та 8,25 мкг/мл відповідно [8].

Діуретичний ефект екстракту золототисячника звичайного оцінювали за об'ємом сечі та екскрецією натрію, калію та хлоридів після перорального введення (щодня протягом 1 тижня) водного екстракту всієї рослини (доза 10 мл/кг 8 % або 16 % екстракту у дистильованій воді). Діуретичну активність приписували таким БАР, як флавоноїди, сапоніни або органічні кислоти, присутні в екстракті [39].

Chda та інші встановили, що водний екстракт надземної частини золототисячника має спазмолітичний ефект. Рухливість гладкої м'язової тканини, ймовірно, може бути пригнічена за наявності генціопікрину, ксантону та флавоноїдів [40, 41]. Спазмолітичний ефект водного екстракту може бути пояснений, принаймні, цими сполуками.

Гастропротекторну активність водно-етанольного екстракту, отриманого з трави золототисячника, досліджували за оцінкою ураження шлункової стінки, спричиненого аспірином, у білих самців щурів. Ці

результати свідчили про те, що використаний екстракт захищав слизову оболонку шлунка від ураження аспірином завдяки його антиоксидантній активності [42].

Нейропротективна активність. Інгібування ацетилхолінестерази, бутирилхолінестерази та тирозиназ пов'язане з хворобами Альцгеймера та Паркінсона. Підхід молекулярного докінгу *in silico* показав, що велика кількість ксантонів є перспективними інгібіторами ацетилхолінестерази, виявленими в золототисячнику. Кореляції між кількістю фенолів у фракціях та активністю інгібування ферменту не спостерігалось, що було очікувано, оскільки багато факторів впливають на константу інгібування ацетилхолінестерази, і більшість з них не пов'язані з кількістю фенольних груп у екстракті [10].

Дерматопротекторна активність. Ферментативне забарвлення шкіри людини включає утворення меланіну, який проходить кілька стадій і включає декілька ферментів [43]. Серед цих ферментів, тирозиназа бере участь в перших двох стадіях, і її інгібування представляє собою терапевтичний шлях для розробки засобів захисту шкіри. Дерматопротекторну активність трави досліджуваної рослини оцінювали за допомогою випробування на інгібування тирозинази. Ефірна олія показала інгібування тирозинази [8].

Антилейшманійна активність метанольного, етанольного, *n*-гексанового та етилацетатного екстрактів золототисячника була оцінена проти *Leishmania infantum*, *Leishmania tropica* та *Leishmania major*. Різні антилейшманійні ефекти цих екстрактів були пов'язані не лише з їх хімічною природою, але і з характером видів *Leishmania*. Механізм дії залежав від конкретних клітинних мішеней, які руйнують клітинну мембрану. Взаємодія з мітохондріальною мембраною, також, може бути розглянута як ще один шлях впливу, який викликає смерть паразитів апоптозом. Ці дії можуть бути пов'язані з загальним вмістом флавоноїдів, які показали пряму кореляцію з антилейшманійною активністю, особливо проти *Leishmania infantum*, *Leishmania major* [8].

Мгоueh та інші встановили, що метанольний екстракт з трави проявляв гепатопротекторну активність проти токсичності, викликаной ацетамінофеном, у щурів. Екстракт значно знизив підвищені рівні трьох ферментів: до 10,4 % для середньоклітинної амінотрансферази глютамату, 31,9 % для середньоклітинної амінотрансферази глютамату пірувату та 22,9 % для лактатдегідрогенази [44].

1.3 Методи одержання лікарських засобів на рослинній основі

В фармацевтичному виробництві значну кількість лікарських засобів одержують за допомогою процесу екстракції БАР. Є різні технологічні підходи до екстрагування речовин, що знаходяться в клітині.

Процес виділення БАР із сировини з клітинною структурою покладено в основу технології виробництва багатьох препаратів й лікарських форм, серед яких екстракти, настойки, соки тощо.

На сьогоднішній день переважну більшість екстракційних ЛЗ отримують з висушеної лікарської рослинної сировини, тобто зневоднюють шляхом природного або теплового висушування. У ході висушування свіжі рослини втрачають воду.

Останнім часом для висушування рослинної сировини застосовується технологія мікрохвильового зневоднення, що ґрунтується на дії інтенсивного електромагнітного поля надвисоких частот на рослину. Основна відмінність мікрохвильового зневоднення від традиційних способів висушування полягає в об'ємності нагріву. Тепло проникає в сировину не з поверхні, а утворюється всередині самого матеріалу і розподіляється по всьому його об'єму. За рахунок цього відбувається видалення вологи, висушування сировини і одночасно – вирівнювання вологості у всьому об'ємі продукту. Обробка рослинного матеріалу методом НВЧ-висушування дозволяє отримувати високоякісний продукт за короткий час без втрачання тепла [45].

Витяжки, що отримані із висушеної лікарської рослинної сировини, за складом БАР, як якісним, так і кількісним, не завжди є рівноцінні рослинам, що свіжозібрані. Багатьох учених дослідження показують, що під час процесів заготівлі, а також, висушування і зберігання впродовж року вміст БАР зменшується в декілька разів. Особливістю препаратів із свіжих рослин є те, що у них наявний весь комплекс БАР, що у найбільш природному їм стані входять до складу рослинної сировини. Тому є доцільним одержання ЛЗ шляхом пресування чи екстрагування сировини із свіжих лікарських рослин. Методом екстрагування сировини отримують витяги із свіжих видів рослин, у разі, якщо використовується сировина є малосоковитою й пресування стає недостатньо ефективним [46].

Головною метою отримання екстракційних ЛЗ є максимальне добування БАР із клітини при мінімальній кількості в екстракті речовин баластних, яке досягається у разі вивчення основ процесу екстрагування та, як результат, правильним вибором методу екстрагування та очищення одержаної витяжки.

Екстрагування лікарської рослинної сировини – масообмінні складні процеси, що визначаються законами масопередачі та складаються із кількох окремих процесів, що тісно переплітаються між собою: розчинення, осмосу, діалізу, дифузії; десорбції речовин.

Усі способи екстрагування, які існують, класифікують за характером перебігу процесу на динамічні і статичні. В статичних методах рослинну сировину з певною періодичністю заливають екстрагентом і настоюють протягом певного періоду. В динамічних методах проходить безперервна зміна екстрагенту чи сировини й екстрагента.

З метою екстрагування використовують різні методи, багато з яких і до сьогодні використовують. До них належать:

- мацерація;
- ремацерація (дробна мацерація);
- мацерація з примусовою циркуляцією екстрагента;

- перколяція;
- реперколяцію;
- протитечійне екстрагування;
- циркуляційне екстрагування;
- турбоекстракція;
- екстрагування сировини за допомогою роторно-пульсаційного апарата;
- ультразвукова (акустична) екстракція;
- екстрагування із застосуванням імпульсного магнітного поля;
- екстрагування електроімпульсною дією;
- електродіаліз;
- екстрагування сировини із застосуванням криогенних технологій;
- екстрагування зрідженими газами [45].

Висновок до розділу 1

Золототисячник звичайний (*Centaurium erythraea* Rafn.) є перспективною рослиною для одержання ЛЗ завдяки своєму багатому хімічному складу, що включає ксантони, секоіридоїди, флавоноїди та інші БАР. Він має широкий спектр фармакологічної дії, включаючи антибактеріальну, протигрибкову, антиоксидантну, антидіабетичну, протизапальну та цитотоксичну активність. Ефективність використання цієї рослини підтверджена численними дослідженнями, що свідчать про її значний потенціал у розробці нових ЛЗ та дієтичних добавок. Різні методи екстракції, особливо сучасні технології, дозволяють максимально зберегти і виділити БАР, забезпечуючи високу якість отриманих ЛЗ.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об'єкти дослідження

Золототисячника звичайного траву заготовляли на початку цвітіння (червень-липень) 2023 року. Сировину заготовляли на околицях міста Зборів Тернопільської області. Золототисячника звичайного траву сушили у тепло-конвекційній сушарці при температурі 40 °С.

Витяжки з трави одержували при використанні 69% етанолу, при співвідношенні сировина : екстрагент – 1 : 5 [2] за допомогою таких методів екстрагування: мацерація, мацерація з перемішуванням, ремацерація, ультразвукова екстракція.

2.2 Короткі відомості про прилади, методи і реактиви

З метою встановлення якісного складу БАР використовували реакції ідентифікації.

Якісний склад та кількісний вміст індивідуальних сполук фенольної природи визначали методом ВЕРХ на Agilent 1200 (Agilent Technologies, США). На хроматографічній колонці Zorbax SB-Aq (4,6 мм ± 150 мм, 3,5 мкм) (Agilent Technologies, США) проводили розділення.

Дослідження проводили використовуючи такі методи:

- фізико-хімічні (абсорбційна спектрофотометрія в УФ-ділянці спектру);
- хімічні (гравіметрія);
- статистичні (математична обробка одержаних результатів).

Кількісний вміст суми кислот гідроксикоричних, суми флавоноїдів, суми поліфенолів визначали спектрофотометричним методом. Сухий залишок визначали за допомогою гравіметричного методу [47, 48].

Під час досліджень використовували мірний посуд, ФСЗ, реактиви, що відповідають вимогам ДФУ, водяну баню, сушильну шафу, ексикатор, аналітичні ваги, спектрофотометр LabAnalyt SP-V1000, спектрофотометр Lambda 25 Perkin Elmer, Shimadzu 1800-UV.

2.3 Методики встановлення якісного складу БАР та визначення їх кількісного вмісту

Визначення суми флавоноїдів

Проводили ідентифікацію флавоноїдів за допомогою таких якісних реакцій:

- ціанідінова реакція. До 1 мл елюату додавали 2 краплі кислоти хлористоводневої і щіпку порошку металічного магнію;
- реакція із ферум (III) хлоридом. До 1 мл елюату додавали 2 краплі 10 % розчину ферум (III) хлориду .
- реакція з лугом. До 1 мл елюату додавали 2 краплі 10 % спиртового розчину калію гідроксиду;
- реакція з плюмбум ацетатом. До 1 мл елюату додавали 4 краплі 10 % розчину плюмбум ацетату.

Кількісне визначення вмісту суми флавоноїдів.

Випробовуваний розчин. Аліквоту одержаної витяжки поміщали у мірну колбу місткістю 25 мл, додавали 10 мл 70 % етанолу, 2 мл 3 % спиртового розчину алюмінію хлориду і доводили об'єм отриманого розчину етанолом 70 % до позначки та перемішували.

Компенсаційний розчин. Аліквоту отриманої витяжки поміщали у мірну колбу місткістю 25 мл і доводили об'єм розчину 70 % етанолом до позначки та перемішували.

Розчин стандартного зразка рутину. 0,05 г (точна наважка) стандартного зразка рутину поміщали у мірну колбу місткістю 100 мл,

додавали 70 мл 70 % етанолу, розчиняли та доводили об'єм розчину тим же розчинником до позначки і перемішували.

Розчин порівняння. 1 мл розчину стандартного зразка рутину поміщали в мірну колбу місткістю 25 мл, додавали 2 мл 3% спиртового розчину алюміній хлориду і доводили об'єм розчину 70 % етанолом до позначки, перемішували.

Компенсаційний розчин. 1 мл розчину стандартного зразка рутину поміщали в мірну колбу місткістю 25 мл та доводили об'єм розчину етанолом 70 % до позначки, перемішували.

Оптичну густину випробовуваного розчину і розчину порівняння вимірювали через 45 хв після приготування за довжини хвилі 408 нм відносно компенсаційних розчинів для кожного відповідно [49].

Вміст суми флавоноїдів обчислювали у перерахунку на рутин, у мг/мл.

Визначення суми поліфенолів

Визначення проводили за загальноприйнятою методикою ДФУ 2.8.14 у такій редакції [50].

Одержану витяжку доводили водою до об'єму 250 мл. Суміш фільтрували крізь фільтрувальний папір. Відкидали перші 50 мл фільтрату.

Випробовуваний розчин. Аліквоту поміщали у мірну колбу місткістю 25 мл, додавали 1 мл фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву і 10 мл води очищеної та доводили об'єм розчину до позначки розчином 290 г/л натрію карбонату, перемішували.

Стандартний розчин. 50 мг пірогалолу розчиняли у воді і доводили об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл, перемішували. 5 мл одержаного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 100 мл і доводили об'єм розчину водою очищеною до позначки, перемішували.

Розчин порівняння. 2 мл стандартного розчину пірогалолу поміщали у мірну колбу місткістю 25 мл, додавали 1 мл фосфорномолібденово-

вольфрамового реактиву і 10 мл води очищеної та доводили об'єм розчину до позначки розчином 290 г/л натрію карбонату, перемішували.

Через 30 хв вимірювали оптичну густина випробовуваних розчинів і розчину порівняння за довжини хвилі 760 нм, використовуючи як компенсаційний розчин воду очищену [49].

Вміст суми поліфенолів обчислювали у перерахунку на пірогалол, у відсотках.

Визначення суми кислот гідроксикоричних

Наявність кислот гідроксикоричних встановлювали за реакцією з розчином ферум (III) хлориду. До 1 мл одержаної витяжки додавали 2 краплі 10 % розчину ферум (III) хлориду. З'являлося зелено-сіре забарвлення, що свідчить про наявність кислот гідроксикоричних.

Кількісне визначення вмісту суми кислот гідроксикоричних.

Кількісне визначення суми кислот гідроксикоричних проводили за методикою описаною у монографії ДФУ 2.2 «Ортосифону тичинкового (нирковий чай) листя^N» та методикою, описаною у монографії Європейської Фармакопеї “Меліси листя” [51, 52] у такій редакції.

Вихідний розчин. Аліквоту отриманої спиртової витяжки поміщали у мірну колбу місткістю 100 мл та доводили етанолом 50 % до позначки, перемішували.

Випробуваний розчин. До 1,0 мл вихідного розчину додавали 2 мл 0,5 М розчину хлористоводневої кислоти, 2 мл свіжоприготованого розчину 10 г натрію нітриту і 10 г натрію молібдату у 100 мл води очищеної, потім додавали 2 мл натрію гідроксиду розчину розведеного, доводили об'єм розчину водою очищеною до 10 мл і перемішували.

Компенсаційний розчин. 1 мл вихідного розчину доводили водою очищеною до 10 мл. Оптичну густина випробовуваного розчину вимірювали відразу за довжини хвилі 505 нм.

Вміст суми кислот гідроксикоричних обчислювали у перерахунку на розмаринову кислоту, у мг/мл.

Вихід екстрактивних речовин

В одержаних витяжках вихід екстрактивних речовин визначали виходячи із загального об'єму витяжки, визначеного сухого залишку та маси рослинної сировини використаної для екстрагування [53].

Встановлення якісного складу та визначення кількісного вмісту індивідуальних сполук кислот гідроксикоричних

Одержану витяжку з трави золототисячника розводили у 4 рази 60 % етанолом. Отриманий розчин центрифугували при 3000 об/хв. Потім центрифугат фільтрували через одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм.

На рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200 проводили рідинну хроматографію. В якості рухомої фази використовували метанол (А) та 0,1 % розчин мурашиної кислоти в воді (В).

Елюювання проводили в градієнтному режимі (табл. 2.1).

Таблиця 2.1 – Параметри градієнтного режиму елюювання

Час, хв	Елюент А, %	Елюент В, %
0	10	90
40	75	25
45	100	0
55	100	0

Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-C18 (3,5 мкм, 150 мм x 4,6 мм) (Agilent Technologies, USA). Швидкість потоку через колонку становила 0,6 мл/хв, температура термостату 30 °С, об'єм інжекції – 3 мкл.

Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 275 та 330 нм та фіксацією спектрів поглинання у діапазоні 210-700 нм [54].

Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили з використанням стандартних розчинів кислот гідроксикоричних.

Вміст кислот гідроксикоричних розраховували у мг/мл витяжки.

Встановлення якісного складу та визначення кількісного вмісту індивідуальних сполук флавоноїдів

Одержану витяжку з трави щавнату розводили у 8 разів 80 % етанолом. Отриманий розчин центрифугували при 3000 об/хв. Потім центрифугат фільтрували через одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм.

На рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200 проводили рідинну хроматографію. В якості рухомої фази використовували ацетонітрил (А) та 0,1 % розчин мурашиної кислоти в воді (В). Елюювання проводили в градієнтному режимі (табл. 2.2).

Таблиця 2.2 – Параметри градієнтного режиму елюювання

Час, хв	Елюент А, %	Елюент В, %
0	5	95
20	30	70
50	100	0
60	100	0

Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-C18 (3,5 мкм, 150 ммх 4,6 мм) (Agilent Technologies, USA). Швидкість потоку через колонку становила 0,25 мл/хв, температура термостату 30 °С, об'єм інжекції – 4 мкл.

Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 280 та 365 нм та фіксацією спектрів поглинання у діапазоні 210 – 700 нм [54].

Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили з використанням стандартних розчинів флавоноїдів (рутину, кверцетин-3-*O*- β -*D*-глюкозиду, нарінгіну, неогесперідину, кверцетину, нарінгеніну, кемпферолу, лютеоліну, апігеніну, кемпферол-3-*O*- β -*D*-глюкозиду, фісетину, силібініну, байкалеїну, рамнетину, кастицину).

Вміст флавоноїдів розраховували у мг/мл витяжки.

Визначення сухого залишку

Визначення сухого залишку у рідкому екстракті проводили згідно ДФУ 2.8.16 [50].

2 мл екстракту поміщали у зважений бюкс, що мав висоту близько 3 см і діаметр близько 5 см. Випарювали насухо на водяній бані та в сушильній шафі сушили при температурі від 100°C до 105°C протягом 3 год. Бюкс охолоджували у ексікаторі над фосфор (V) оксидом при кімнатній температурі протягом 30 хв і зважували.

Висновки до розділу 2

1. Наведено характеристику об'єктів дослідження.
2. Наведено короткі відомості про прилади, методи і реактиви.
3. Наведено методики встановлення якісного складу БАР та визначення їх кількісного вмісту.

РОЗДІЛ 3

АНАЛІЗ ВІТЧИЗНЯНОГО РИНКУ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ НА ОСНОВІ ЗОЛОТОТИСЯЧНИКА ЗВИЧАЙНОГО ТА ОЦІНКА ВПЛИВУ МЕТОДІВ ЕКСТРАГУВАННЯ НА ВИЛУЧЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ІЗ РОСЛИНИ

3.1. Аналіз асортименту лікарських засобів на основі золототисячника звичайного

Асортимент ЛЗ на основі золототисячника звичайного вивчали за Державним реєстром лікарських засобів України.

Станом на листопад 2023 року, є 4 торгові назви ЛЗ, що представлені 7 асортиментними позиціями. Результати дослідження наведено у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1 – Асортимент лікарських засобів на основі золототисячника звичайного

Назва/форма випуску (лікарська форма, упаковка)	Виробник, країна-виробник
1	2
Канефрон® Н • таблетки, вкриті оболонкою, по 20 таблеток у блістері; по 3 блістери в картонній коробці; • краплі оральні, по 100 мл у флаконі зі скла з дозуючим крапельним пристроєм; по 1 флакону в коробці з картону.	«Біонорика СЕ», Німеччина
Нефродол таблетки, вкриті оболонкою, по 10 таблеток у блістері; по 6 блістерів у пачці з картону	ПрАТ «Технолог», Україна

Продовження таблиці 3.1

1	2
Золототисячника трава <ul style="list-style-type: none"> • по 75 г у пачках з внутрішнім пакетом; • по 1,5 г у фільтр-пакеті; по 20 фільтр-пакетів у пачці. 	ПрАТ «Ліктрави», Україна
Тринефрон-Здоров'я <ul style="list-style-type: none"> • краплі оральні по 50 мл або 100 мл у флаконі з пробкою-крапельницею; по 1 флакону в картонній коробці; • капсули по 10 капсул у блістері; по 3 або по 6 блістерів у коробці. 	ТзОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я», Україна

3.2. Вплив методів екстрагування на ступінь вилучення біологічно активних речовин, кількість одержаного сухого залишку та вихід екстрактивних речовин із золототисячника звичайного трави

Для отримання витяжок із золототисячника звичайного трави з найбільшим вмістом суми флавоноїдів, суми кислот гідроксикоричних, суми поліфенолів, а також найбільшою кількістю сухого залишку, найвищим виходом екстрактивних речовин використовували в якості екстрагента 69 % етанол при співвідношенні сировини та екстрагента – 1 : 5. Дану концентрацію екстрагента та співвідношення було обрано на основі результатів попередньо проведених досліджень. При використанні 69 % етанолу та при співвідношенні сировина : екстрагент – 1 : 5 вилучалась найбільша кількість кислот гідроксикоричних та фенольних сполук [2]. Наступним етапом є дослідження впливу методу екстрагування, який дозволив отримати найбільший вихід бажаних БАР: флавоноїдів, кислот гідроксикоричних, поліфенолів.

Витяжки отримували за допомогою таких методів екстрагування як мацерація, мацерація з перемішуванням, ремацерація (дробна мацерація) і ультразвукова екстракція. В одержаних витяжках визначали вміст БАР, сухого залишку і екстрактивних речовин.

3.2.1 Вплив методу екстрагування на вилучення суми кислот гідроксикоричних

Вміст суми гідроксикоричних кислот у витяжках, які одержували різними методами екстрагування, визначали спектрофотометричним методом, в перерахунку на кислоту розмаринову, за довжини хвилі 505 нм.

Результати дослідження впливу методу екстрагування на вміст суми кислот гідроксикоричних у витяжці, одержаній методом мацерації із золототисячника звичайного трави наведено у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1 – Метрологічна характеристика результатів визначення кількісного вмісту суми кислот гідроксикоричних у витяжці одержаній методом мацерації (серія 1)

m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	$\varepsilon_{\%}$, %
5	4	10,2542	10,06	0,0560	0,1059	0,95	2,78	$10,06 \pm 0,29$	2,92
		9,9752							
		10,0493							
		9,7218							
		10,3145							

У витяжці (серія 1), яку одержали методом мацерації вміст суми кислот гідроксикоричних становив ($10,06 \pm 0,29$) мг/мл.

Вміст суми кислот гідроксикоричних у витяжці, одержаній із використанням такого методу як мацерація з перемішуванням наведено у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2 – Метрологічна характеристика результатів визначення кількісного вмісту суми кислот гідроксикоричних у витяжці одержаній методом мацерації з перемішуванням (серія 2)

m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	$\varepsilon_{\%}$
5	4	11,0429	11,24	0,0323	0,0804	0,95	2,78	11,24 ± 0,22	1,99
		11,3275							
		11,1437							
		11,1942							
		11,5075							

У витяжці (серія 2) одержаній методом мацерації з перемішуванням вміст суми кислот гідроксикоричних у 1,12 рази більший у порівнянні з вмістом цих сполук у витяжці отриманій методом мацерації та становив (11,24 ± 0,22) мг/мл.

Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у витяжці одержаній методом ультразвукової екстракції наведено у таблиці 3.3.

Таблиця 3.3 – Метрологічна характеристика результатів визначення кількісного вмісту суми кислот гідроксикоричних у витяжці одержаній методом ультразвукової екстракції (серія 3)

m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	$\varepsilon_{\%}$
5	4	10,5117	10,62	0,0089	0,0423	0,95	2,78	10,62 ± 0,12	1,11
		10,6473							
		10,5411							
		10,7214							
		10,7032							

В 1,06 рази меншим є вміст досліджуваних БАР у витяжці одержаній методом ультразвукової екстракції, у порівнянні з методом мацерації з

перемішуванням. Також, кількісний вміст даних БАР у 1,06 рази є більшим, у порівнянні з кількісним вмістом суми кислот гідроксикоричних у витяжці одержаній методом мацерації та становив $(10,62 \pm 0,12)$ мг/мл відповідно.

Вміст досліджуваних БАР у витяжці, яка одержана при використанні такого методу як ремацерація, наведено у таблиці 3.4.

Таблиця 3.4 – Метрологічна характеристика результатів визначення кількісного вмісту суми кислот гідроксикоричних у витяжці одержаній методом ремацерації (серія 4)

m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	ε_{-} , %
5	4	10,5117	10,39	0,0271	0,0737	0,95	2,78	$10,39 \pm 0,20$	1,97
		10,3816							
		10,5408							
		10,4147							
		10,1247							

Сума кислот гідроксикоричних в 1,03 рази вища у витяжці одержаній методом ремацерації, у порівнянні з вмістом цих сполук у серії 1, у 1,08 рази менша у порівнянні з серією 2, в 1,02 рази менша порівняно з серією 3 та становила $(10,39 \pm 0,20)$ мг/мл відповідно.

3.2.2 Вплив методу екстрагування на вилучення суми флавоноїдів

Встановлено спектрофотометричним методом вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин, у витяжках, що одержані мацерацією, ремацерацією, мацерацією з перемішуванням, а також ультразвуковою екстракцією, за довжини хвилі 408 нм. Результати досліджень наведено у таблиці 3.5.

У витяжці одержаній при використанні методу мацерації з перемішуванням кількісний вміст суми флавоноїдів становив $(16,57 \pm 0,19)$ мг/мл та був вищим у 1,47 рази, порівняно з вмістом даних сполук у

витажці одержаній методом мацерації. Також, вміст суми флавоноїдів у 1,64 рази перевищував кількісний вміст цих сполук у серіях 3 і 4, одержаних методами ультразвукової екстракції та ремацерації та становив $(10,12 \pm 0,26)$ мг/мл і $(10,12 \pm 0,16)$ мг/мл відповідно.

Таблиця 3.5 – Метрологічна характеристика результатів визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів у витажках (серія 1-4)

m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	ε , %
Серія 1									
5	4	11,3517	11,25	0,0867	0,1317	0,95	2,78	$11,25 \pm 0,37$	3,26
		11,3693							
		11,5469							
		11,1897							
		10,7698							
Серія 2									
5	4	16,6779	16,57	0,0222	0,0666	0,95	2,78	$16,57 \pm 0,19$	1,12
		16,4209							
		16,3859							
		16,6843							
		16,6589							
Серія 3									
5	4	10,2354	10,12	0,0425	0,0922	0,95	2,78	$10,12 \pm 0,26$	2,53
		9,7827							
		10,0678							
		10,2832							
		10,2368							
Серія 4									
5	4	10,1709	10,12	0,0156	0,0558	0,95	2,78	$10,12 \pm 0,16$	1,53
		10,2856							
		10,0675							
		9,9489							
		10,1361							

3.2.3 Вплив методу екстрагування на вилучення суми поліфенолів

Кількісний вміст суми поліфенолів у витяжках, які одержували різними методами екстрагування, визначали спектрофотометричним методом, в перерахунку на пірогалол, за довжини хвилі 760 нм.

Таблиця 3.6 – Метрологічна характеристика результатів визначення кількісного вмісту суми поліфенолів у витяжках (серія 1-4)

m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	ε , %
Серія 1									
5	4	18,1765	18,00	0,0319	0,0798	0,95	2,78	18,00 ± 0,22	1,23
		17,7754							
		18,0675							
		17,8489							
		18,1361							
Серія 2									
5	4	18,3958	18,20	0,0224	0,0669	0,95	2,78	18,20 ± 0,19	1,02
		18,2359							
		18,2584							
		18,0087							
		18,1012							
Серія 3									
5	4	17,2156	17,35	0,0180	0,0600	0,95	2,78	17,35 ± 0,17	0,96
		17,2332							
		17,3421							
		17,3948							
		17,5456							
Серія 4									
5	4	16,1467	16,21	0,0076	0,0391	0,95	2,78	16,21 ± 0,11	0,67
		16,1247							
		16,3467							
		16,2135							
		16,2354							

3.2.4 Вплив методу екстрагування на кількість одержаного сухого залишку

Сухий залишок – показник, який використовується для визначення кількості твердих речовин, що залишаються після випаровування екстрагента з рідкого екстракту або настойки рослинної сировини. Цей параметр є важливим для оцінки якості лікарських засобів, оскільки він вказує на концентрацію БАР у готовому продукті.

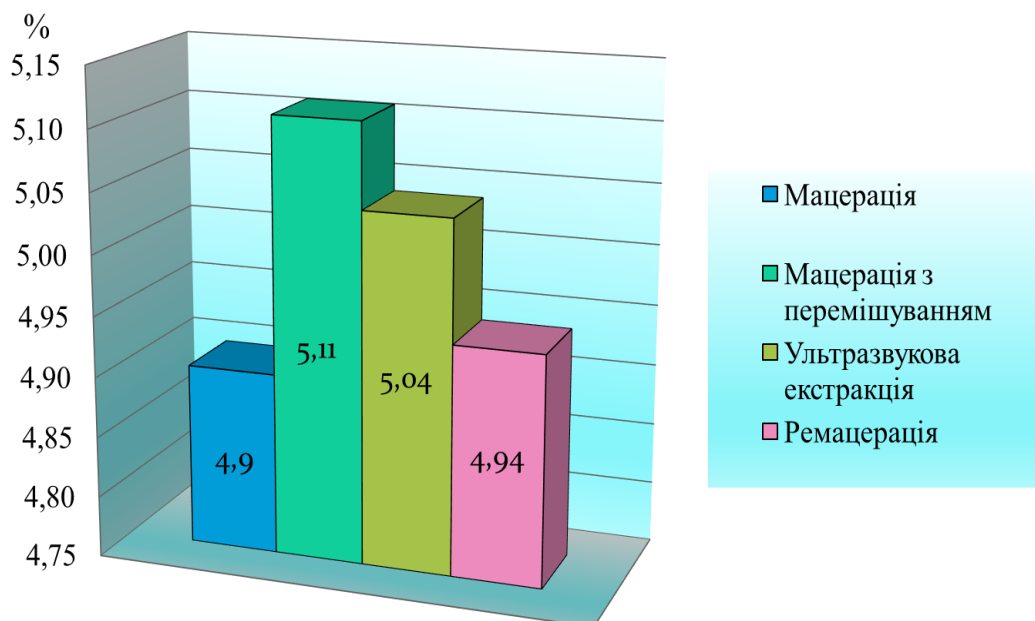


Рисунок 3.1 – Діаграма кількості отриманого сухого залишку із золототисячника звичайного трави

У витяжці (рис. 3.1), що одержували методом мацерації з перемішуванням, кількість сухого залишку була найбільшою, порівняно з іншими витяжками, та становила – $(5,11 \pm 0,16) \%$.

Значення сухого залишку полягає в оцінці якості, контролі стандартів та порівняння зразків.

При оцінці якості значна кількість сухого залишку свідчить про високу концентрацію БАР, що є ознакою якості екстракту. Низький вміст може

свідчити про недостатнє вилучення БАР або про велику кількість екстрагенту в екстракті.

Контроль стандартів полягає у тому, що сухий залишок використовується для забезпечення відповідності стандартам і регламентам, встановленим ДФУ або регулюючими органами. Це допомагає гарантувати, що ЛЗ містять достатню кількість БАР для досягнення терапевтичного ефекту.

При порівнянні зразків значення сухого залишку дозволяє порівнювати різні серії екстрактів або настоїв між собою для визначення найбільш ефективного методу екстрагування та оптимальних умов процесу.

У промислових умовах визначення сухого залишку є важливою частиною контролю якості виробництва ЛЗ. Це дозволяє виробникам підтримувати постійний рівень якості продуктів, виявляти відхилення у виробничому процесі та вживати заходів для їх усунення, забезпечувати відповідність готових продуктів фармацевтичним стандартам та регламентам.

3.2.5 Вплив методу екстрагування на вихід екстрактивних речовин

Екстрактивні речовини – комплекс БАР, які виділяють з рослинної сировини під час процесу екстрагування. Вони є важливими компонентами ЛЗ, дієтичних добавок та косметичних засобів, оскільки мають широкий спектр фармакологічної дії.

Вихід екстрактивних речовин із витяжок трави золототисячника звичайного коливався у межах 24,5 – 25,55 % (рис. 3.2). З витяжки одержаної методом мацерації з перемішуванням вилучено найбільше екстрактивних речовин – 25,55 %. В 1,04 рази меншим є вихід екстрактивних речовин із витяжки отриманої методом мацерації. Результати наведено на рисунку 3.2.

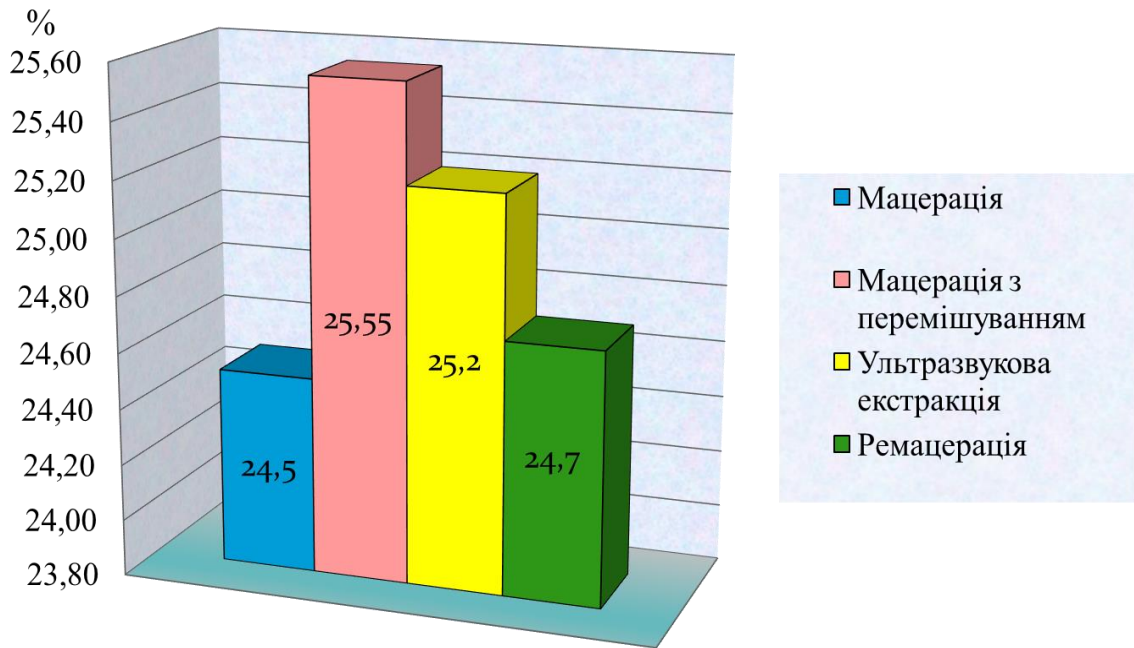


Рисунок 3.2 – Діаграма виходу екстрактивних речовин із золототисячника звичайного трави

Вибір методу екстрагування має важливе значення для отримання високоякісних екстрактів з максимальною кількістю БАР. Оптимізація процесу екстрагування дозволяє забезпечити високу ефективність ЛЗ, дієтичних добавок та косметичних продуктів на основі золототисячника звичайного трави.

3.3 Якісний склад та кількісний вміст індивідуальних сполук кислот гідроксикоричних

У витяжці золототисячника звичайного трави методом вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) за довжини хвилі 275 нм встановлено наявність таких кислот: хлорогенової, розмаринової, кофейної, гідроксифенілоцтової, сирінгової, *пара*-кумарової, *транс*-ферулової, синапової, *транс*-цинамової (рис. 3.3, табл. 3.6).

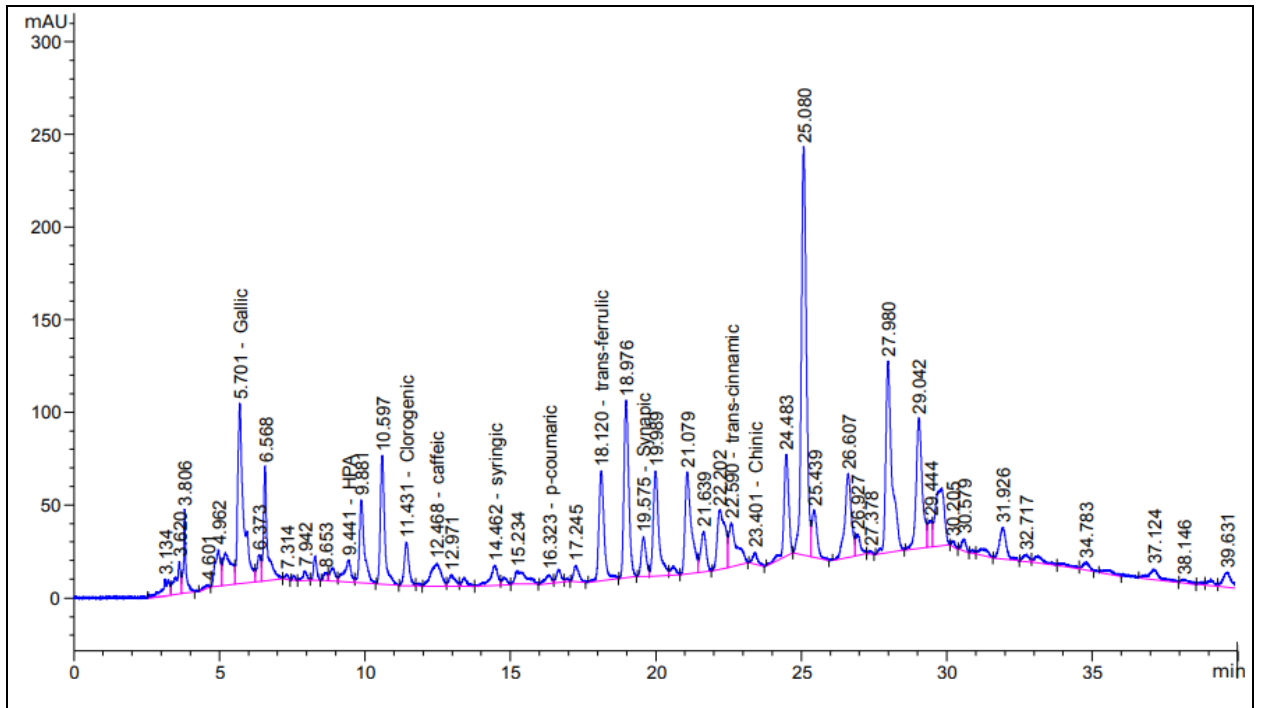


Рисунок 3.3 – ВЕРХ-хроматограма кислот гідроксикоричних витяжки із золототисячника звичайного трави

За довжини хвилі 330 нм встановлено наявність кислоти розмаринової (рис. 3.4).

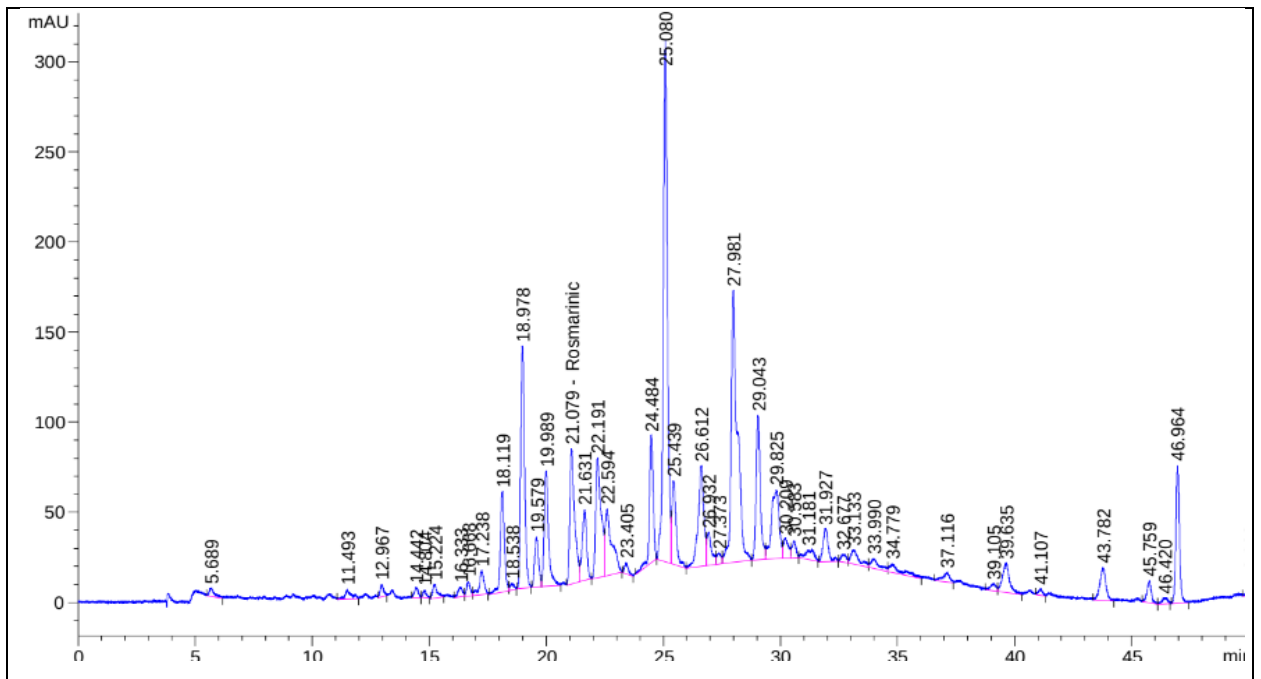


Рисунок 3.4 – ВЕРХ-хроматограма кислот гідроксикоричних витяжки із золототисячника звичайного трави

Результати визначення кількісного вмісту індивідуальних кислот гідроксикоричних наведено у таблиці 3.7.

Таблиця 3.7 – Якісний склад і кількісний вміст індивідуальних кислот гідроксикоричних у витяжці з золототисячника звичайного трави

Назва сполуки	Кількісний вміст	
	мг/мл	%*
розмаринова кислота	0,41	29,93
хлорогенова кислота	0,40	29,20
гідроксифенілоцтова	0,06	4,38
кофейна кислота	0,14	10,22
сирінгова кислота	0,05	3,65
<i>пара</i> -кумарова кислота	0,02	1,46
<i>транс</i> -ферулова	0,19	13,87
синапова	0,05	3,65
<i>транс</i> -цинамова	0,05	3,65
Всього	1,37	100
Примітка. %* – від загальної кількості ідентифікованих кислот гідроксикоричних		

Серед ідентифікованих кислот гідроксикоричних найбільший кількісний вміст був у кислоти розмаринової та становив 0,41 мг/мл (29,93 % від загальної кількості ідентифікованих кислот гідроксикоричних).

3.4 Якісний склад та кількісний вміст індивідуальних сполук флавоноїдів

У витяжці золототисячника звичайного трави, за довжини хвилі 280 нм, встановлено наявність таких флавоноїдів: рутин, кемпферол, кверцетин-3-*O*- β -*D*-глюкозид, кемпферол-3-*O*- β -*D*-глюкозид, неогесперидин, кверцетин (рис. 3.5).

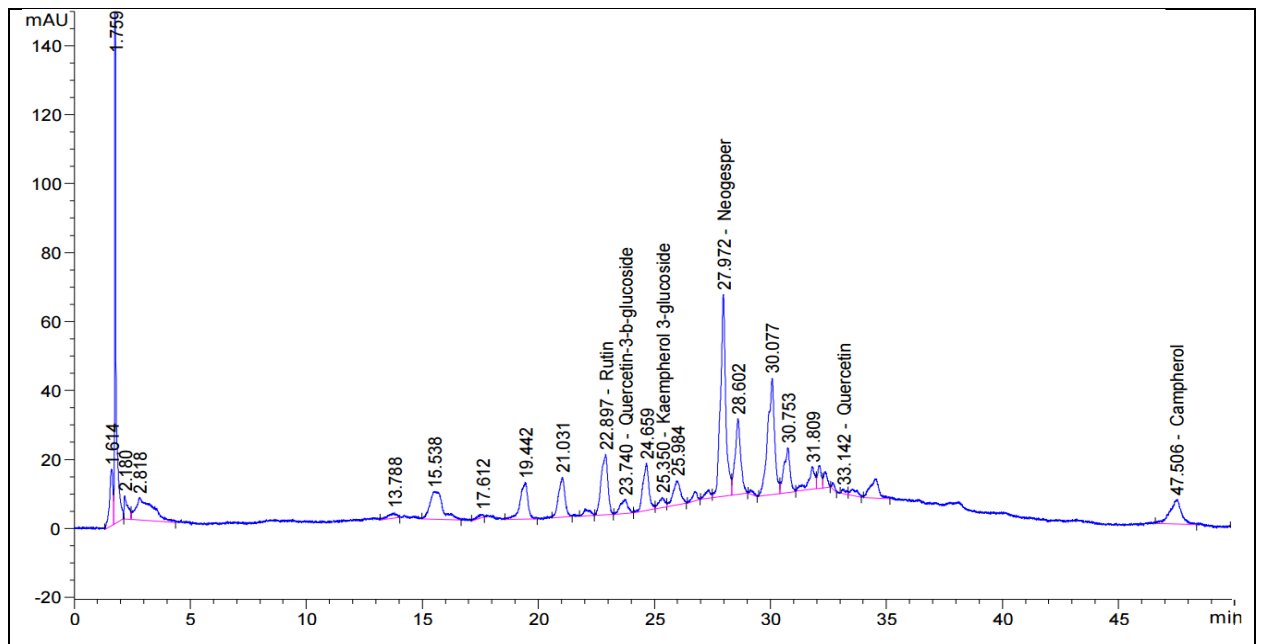


Рисунок 3.5 – ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів витяжки із золототисячника звичайного трави

Результати визначення кількісного вмісту індивідуальних флавоноїдів наведено у таблиці 3.8.

Таблиця 3.8 – Якісний склад і кількісний вміст індивідуальних флавоноїдів у витяжці з золототисячника звичайного трави

Назва сполуки	Кількісний вміст	
	МГ/МЛ	%*
рутин	0,22	23,15
кверцетин-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -глюкозид	0,02	2,11
кемпферол-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -глюкозид	0,01	1,05
неогесперидин	0,64	67,37
кверцетин	0,02	2,11
кемпферол	0,04	4,21
Всього	0,95	100

Примітка. %* – від загальної кількості ідентифікованих флавоноїдів

Серед визначених індивідуальних сполук флавоноїдів домінував неогесперидин, кількісний вміст якого становив 0,64 мг/мл (67,37 % від загальної кількості ідентифікованих флавоноїдів).

Висновок до розділу 3

Проведено аналіз вітчизняного фармацевтичного ринку ЛЗ на основі золототисячника звичайного та оцінено вплив різних методів екстрагування на вилучення біологічно активних речовин із цієї рослини.

Виявлено, що станом на листопад 2023 року в Україні зареєстровано 7 асортиментних позицій ЛЗ на основі золототисячника звичайного, які випускаються під чотирма торговими назвами.

Результати досліджень показали, що вибір методу екстрагування впливає на якісний склад та кількісний вміст витяжок із золототисячника звичайного трави. Мацерація з перемішуванням виявилася найбільш ефективним методом, забезпечуючи максимальний вихід БАР. Сучасні методи, такі як ультразвукова екстракція, також, показали високі результати, що робить їх перспективними для подальшого використання у промисловому виробництві ЛЗ, дієтичних добавок та косметичних засобів.

ВИСНОВКИ

1. Проведено інформаційний пошук та проаналізовано джерела літератури щодо поширення, хімічного складу, фармакологічної активності золототисячника звичайного та його застосування у традиційній та офіційній медицині.

2. На вітчизняному фармацевтичному ринку є 4 торгові назви ЛЗ на основі золототисячника звичайного, що представлені 7 асортиментними позиціями. Також, на фармацевтичному ринку України та світу є дієтичні добавки і гомеопатичні засоби на основі золототисячника звичайного сировини.

3. Досліджено вплив методів екстрагування на вилучення БАР із витяжок золототисячника звичайного трави. В одержаних витяжках визначено кількісний вміст суми кислот гідроксикоричних, суми флавоноїдів, суми поліфенолів, кількість одержаного сухого залишку та вихід екстрактивних речовин. Витяжка одержана методом мацерації з перемішуванням містила найбільшу кількість кислот гідроксикоричних, флавоноїдів та поліфенолів, що становили 11,24, 16,57 та 18,2 мг/мл, відповідно. Найбільша кількість сухого залишку та екстрактивних речовин, також, одержана із витяжки отриманої методом мацерації з перемішуванням та становила 5,11 % та 25,55 %, відповідно.

4. Методом ВЕРХ встановлено якісний склад та визначено кількісний вміст індивідуальних сполук кислот гідроксикоричних та флавоноїдів. Серед кислот гідроксикоричних домінувала кислота розмаринова, її вміст становив 0,41 мг/мл. Серед флавоноїдів переважав неогесперидин, його вміст становив 0,64 мг/мл.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Kurylo Kh., Budniak L., Volska A., Zablotskyy B., Klishch I. Influence of phytocompositions on dynamics of change in basic glycemia and glycemia in oral glucose tolerance test in rats with streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes mellitus type 2. *Georgian Medical News*. 2020. Vol. 300, №3. P. 112–116.
2. Stoiko L., Kurylo Khr. Development of optimal technology of alcohol extract *Centaurium erythraea* Rafn. herb. *Archives of the Balkan Medical Union*. 2018. Vol. 53. P. 523–528. DOI: <https://doi.org/10.31688/ABMU.2018.53.4.06>.
3. Slobodianiuk L., Budniak L., Marchyshyn S., Sinichenko A., Demydiak O. Determination of amino acids of cultivated species of the genus *Primula* L. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 2021. Vol. 11. P. 8969–8977. DOI: <https://doi.org/10.33263/BRIAC112.89698977>.
4. Darzuli N., Budniak L., Hroshovyi T. Selected excipients in oral solid dosage form with dry extract of *Pyrola rotundifolia* L. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 2019. Vol. 11. P. 210–216. DOI: <https://doi.org/10.22159/ijap.2019v11i6.35282>.
5. Herbal Medicine Market Research. URL: <https://www.marketresearchfuture.com/reports/herbal-medicine-market-3250> (дата звернення: 20.08.2023).
6. Van Rossum F. Succession stage variation in population size in an early-successional herb in a peri-urban forest. *Acta Oecologica*. 2009. № 35. С. 261–268. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actao.2008.11.005>.
7. Paniagua-Zambrana N.Y., Bussmann R.W. *Centaurium erythraea* Rafn GENTIANACEAE. In: Paniagua-Zambrana N., Bussmann R. (eds) *Ethnobotany of the Andes. Ethnobotany of Mountain Regions*. Cham: Springer, 2020. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-28933-1_60
8. El Menyiy N., Guaouguaou F. E., El Baaboua A., El Omari N., Taha D., Salhi N., Shariati M. A., Aanniz T., Benali T., Zengin G., El-Shazly M., Chamkhi I., Bouyahya A. Phytochemical properties, biological activities and medicinal use of

Centaurium erythraea Rafn. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021. Vol. 276. P. 114171. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114171>.

9. Flora Europaea Online Database. 2011. Royal Botanical Garden Edinburgh, Edinburgh.

10. Guedes L., Reis P.B.P.S., Machuqueiro M., Ressaissi A., Pacheco R., Serralheiro M.L. Bioactivities of *Centaurium erythraea* (Gentianaceae) decoctions: antioxidant activity, enzyme inhibition and docking studies. *Molecules*. 2019. Vol. 24. P. 3795. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24203795>.

11. Subotić A., Jevremović S., Grubišić D., Janković T. Spontaneous Plant Regeneration and Production of Secondary Metabolites from Hairy Root Cultures of *Centaurium erythraea* Rafn. In: Jain S.M., Saxena P.K. (eds) *Protocols for In Vitro Cultures and Secondary Metabolite Analysis of Aromatic and Medicinal Plants. Methods in Molecular Biology*, vol 547. Totowa, NJ: Humana Press, 2009. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-60327-287-2_17.

12. Trifunović-Momčilov M., Krstić-Milošević D., Trifunović S., Podolski-Renić A., Pešić M., Subotić A. Secondary Metabolite Profile of Transgenic Centaury (*Centaurium erythraea* Rafn.) Plants, Potential Producers of Anticancer Compounds. In: Jha S. (eds) *Transgenesis and Secondary Metabolism. Reference Series in Phytochemistry*. Cham: Springer, 2016. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-27490-4_5-2.

13. Stefkov G., Miova B., Dinevska-Kjovkarovska S., Stanoeva J. P., Stefova M., Petrussevska G., Kulevanova S. Chemical characterization of *Centaurium erythraea* L. and its effects on carbohydrate and lipid metabolism in experimental diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*. 2014. Vol. 152. P. 71–77. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.11.047>.

14. Stefkov G., Miova B., Dinevska-Kjovkarovska S., Stanoeva J. P., Stefova M., Petrussevska G., Kulevanova S. Chemical characterization of *Centaurium erythraea* L. and its effects on carbohydrate and lipid metabolism in experimental diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*. 2014. Vol. 152. P. 71–77. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.11.047>.

15. Bouyahya A., Belmehdi O., El Jemli M., Marmouzi I., Bourais I., Abrini J., Faouzi M. E. A., Dakka N., Bakri Y. Chemical variability of *Centaurium erythraea* essential oils at three developmental stages and investigation of their in vitro antioxidant, antidiabetic, dermatoprotective and antibacterial activities. *Industrial Crops and Products*. 2019. Vol. 132. P. 111–117. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.042>.
16. Jovanović O., Radulović N., Stojanović G., Palić R., Zlatković B., Gudžić B. Chemical composition of the essential oil of *Centaurium erythraea* Rafn (Gentianaceae) from Serbia. *Journal of Essential Oil Research*. 2013. Vol. 21. P. 317–322. DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.2009.9700181>.
17. Jerković I., Gašo-Sokač D., Pavlović H., Marijanović Z., Gugić M., Petrović I., Kovač S. Volatile Organic Compounds from *Centaurium erythraea* Rafn (Croatia) and the Antimicrobial Potential of Its Essential Oil. *Molecules*. 2012. Vol. 17. P. 2058–2072. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules17022058>.
18. Mihaylova D., Vrancheva R., Popova A. Phytochemical profile and in vitro antioxidant activity of *Centaurium erythraea* Rafn. *Bulgarian Chemical Communications*. 2019. Vol. 51, № 6.
19. Kachmar M.R., Oliveira A.P., Valentão P., Gil-Izquierdo A., Domínguez-Perles R., Ouahbi A., Badaoui K.E., Andrade P.B., Ferreres F. HPLC-DAD-ESI/MSⁿ phenolic profile and in vitro biological potential of *Centaurium erythraea* Rafn aqueous extract. *Food Chemistry*. 2019. Vol. 278. P. 424–433. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.082>.
20. Sandru D., Niculescu V., Lengyel E., Tița O. Identification and quantification of total polyphenols in plants with bioactive potentially. *International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine*. 2016. Vol. 4. P. 47–51. URL: www.scipress.com/IJPPE.4.47.
21. Повний атлас лікарських рослин / укладач І. С. Алексєєв. Донецьк: Глорія Трейд, 2013. 400 с.
22. Siler B., Zivković S., Banjanac T., Cvetković J., Nestorović Zivković J., Cirić A., Soković M., Mišić D. Centauries as underestimated food additives:

antioxidant and antimicrobial potential. *Food Chemistry*. 2014. Vol. 147. P. 367–376. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.007>.

23. Božunović J., Zivković S., Gašić U., Glamočlija J., Cirić A., Matekalo D., Siler B., Soković M., Tešić Z., Mišić D. In vitro and in vivo transformations of *Centaurium erythraea* secoiridoid glucosides alternate their antioxidant and antimicrobial capacity. *Industrial Crops and Products*. 2018. Vol. 111. P. 705–721. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.11.040>.

24. Bouyahya A., Abrini J., EtTouys A., Bakri Y., Dakka N. Indigenous knowledge of the use of medicinal plants in the North-West of Morocco and their biological activities. *European Journal of Integrative Medicine*. 2017a. Vol. 13. P. 9–25. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2017.06.004>.

25. Bouyahya A., Bakri Y., Belmehdi O., Et-Touys A., Abrini J., Dakka N. Phenolic extracts of *Centaurium erythraea* with novel antiradical, antibacterial and antileishmanial activities. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 2017b. Vol. 7, No. 7. P. 433–439.

26. Bouyahya A., Bakri Y., Et-Touys A., Assemian I.C.C., Abrini J., Dakka N. In vitro antiproliferative activity of selected medicinal plants from the North-West of Morocco on several cancer cell lines. *European Journal of Integrative Medicine*. 2018. Vol. 18. P. 23–29. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2018.01.001>.

27. Kirbag S., Zengin F., Kursat M. Antimicrobial activities of extracts of some plants. *Pakistan Journal of Botany*. 2009. Vol. 41. P. 2067–2070.

28. Pereira E., Gomes R., Freire N., Aguiar E., Brandão M., Santos V. In vitro antimicrobial activity of Brazilian medicinal plant extracts against pathogenic microorganisms of interest to dentistry. *Planta Medica*. 2011. Vol. 77. P. 401–404. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0030-1250354>.

29. Merghem M., Dahamna S. Antioxidant activity of *Centaurium erythraea* extracts. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2020. Vol. 10, No. 2. P. 171–174.

30. Valentão P., Fernandes E., Carvalho F., Andrade P.B., Seabra R.M., Bastos M.L. Antioxidant activity of *Centaureum erythraea* infusion evidenced by its superoxide radical scavenging and xanthine oxidase inhibitory activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001. Vol. 49. P. 3476–3479. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf001145s>.

31. Valentão P., Fernandes E., Carvalho F., Andrade P.B., Seabra R.M., Bastos M.L. Hydroxyl radical and hypochlorous acid scavenging activity of small Centaury (*Centaureum erythraea*) infusion. A comparative study with green tea (*Camellia sinensis*). *Phytomedicine*. 2003. Vol. 10. P. 517–522. DOI: <https://doi.org/10.1078/094471103322331485>.

32. Shahat A.A., Cos P., Hermans N., Apers S., Bruyne T.D., Pieters L., Berghe D.V., Vlietinck A.J. Anticomplement and antioxidant activities of new acetylated flavonoid glycosides from *Centaureum spicatum*. *Planta Medica*. 2003. Vol. 69. P. 1153–1156. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-2003-818009>.

33. Đorđević M., Mihailović M., Arambašić Jovanović J., Grdović N., Uskoković A., Tolić A., Sinadinović M., Rajić J., Mišić D., Siler B., Poznanović G., Vidaković M., Dinić S. *Centaureum erythraea* methanol extract protects red blood cells from oxidative damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2017. Vol. 202. P. 172–183. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.03.016>.

34. Đorđević M., Grdović N., Mihailović M., Arambašić Jovanović J., Uskoković A., Rajić J., Sinadinović M., Tolić A., Mišić D., Siler B., Poznanović G., Vidaković M., Dinić S. *Centaureum erythraea* extract improves survival and functionality of pancreatic beta-cells in diabetes through multiple routes of action. *Journal of Ethnopharmacology*. 2019. Vol. 242. P. 112043. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112043>.

35. Đorđević M., Grdović N., Mihailović M., Arambašić-Jovanović J., Uskoković A., Rajić J., Đorđević M., Tolić A., Mišić D., Siler B., Poznanović G., Vidaković M., Dinić S. *Centaureum erythraea* extract reduces redox imbalance and

improves insulin expression and secretion in pancreatic β -cells exposed to oxidative and nitrosative stress. *Archives of Biological Sciences*. 2020. Vol. 72. P. 117–128.

36. Hamza N., Berke B., Cheze C., Agli A.-N., Robinson P., Gin H., Moore N. Prevention of type 2 diabetes induced by high fat diet in the C57BL/6J mouse by two medicinal plants used in traditional treatment of diabetes in the east of Algeria. *Journal of Ethnopharmacology*. 2010. Vol. 128. P. 513–518. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.01.004>.

37. Hamza N., Berke B., Cheze C., Marais S., Lorrain S., Abdouelfath A., Lassalle R., Carles D., Gin H., Moore N. Effect of *Centaurium erythraea* Rafn, *Artemisia herba-alba* Asso and *Trigonella foenum-graecum* L. on liver fat accumulation in C57BL/6J mice with high-fat diet-induced type 2 diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015. Vol. 171. P. 4–11. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.05.027>.

38. Tuglu M.I., Aydemir I., Sonmez P.K., Buran T., Mete M. The effects of medicinal plants on cancer cell lines and efficacy of experimental animal model. *International Journal of Secondary Metabolite*. 2018. Vol. 5. P. 49–59. DOI: <https://doi.org/10.21448/ijsm.365065>.

39. Haloui M., Louedec L., Michel J.-B., Lyoussi B. Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaurium erythraea*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000. Vol. 71. P. 465–472. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00184-7](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00184-7).

40. Capasso R., Aviello G., Romano B., Atorino G., Pagano E., Borrelli F. Inhibitory effect of quercetin on rat trachea contractility in vitro. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2009. Vol. 61. P. 115–119. DOI: <https://doi.org/10.1211/jpp/61.01.0016>.

41. Rojas A., Bah M., Rojas J.I., Gutiérrez D.M. Smooth muscle relaxing activity of gentiopicroside isolated from *Gentiana spathacea*. *Planta Medica*. 2000. Vol. 66. P. 765–767. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-2000-9774>.

42. Tuluze Y., Ozkol H., Koyuncu I., Ine H. Gastroprotective effect of small centaury (*Centaurium erythraea* L) on aspirin-induced gastric damage in rats.

Toxicology and Industrial Health. 2011. Vol. 27. P. 760–768. DOI: <https://doi.org/10.1177/0748233710397421>.

43. Karioti A., Protopappa A., Megoulas N., Skaltsa H. Identification of tyrosinase inhibitors from *Marrubium velutinum* and *Marrubium cylleneum*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2007. Vol. 15. P. 2708–2714. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.01.035>.

44. Mroueh M., Saab Y., Rizkallah R. Hepatoprotective activity of *Centaureum erythraea* on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Phytotherapy Research*. 2004. Vol. 18. P. 431–433. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.1498>.

45. Гладух Є. В., Рубан О. А., Сайко І. В., Чуєшова В. І. Промислова технологія лікарських засобів: базовий підручник для студ. вищ. навч. фармац. закладу (фармац. ф-тів). 2-ге вид., випр. та допов. Харків: НФаУ: Новий Світ-2000, 2018. 486 с.

46. Промислова технологія лікарських засобів: базовий підручник для студ. фармац. ЗВО (фармац. ф-тів) / Є. В. Гладух, О. А. Рубан, І. В. Сайко [та ін.]; за ред. Є. В. Гладуха, В. І. Чуєшова. Вид. 2-ге, випр. та допов. Х.: НФаУ: Новий Світ-2000, 2023. 526 с.

47. Марчишин С. М., Стойко Л. І., Покотило О. О. Дослідження хімічного складу деяких рослин родини *Gentianaceae*. Медична та клінічна хімія. 2017. № 3. С. 23–28.

48. Марчишин С. М., Стойко Л. І. Визначення фенольних сполук у траві *Centaureum erythraea* Rafn. методом ВЕРХ. Фармацевтичний часопис. 2014. № 1. С. 15–17.

49. Budniak L., Vasenda M., Marchyshyn S., Kurylo K. Determination of the optimum extraction regime of reducing compounds and flavonoids of *Primula denticulata* Smith leaves by a dispersion analysis. *Pharmacia*, 2020, 67(4), 373–378. DOI: <https://doi.org/10.3897/pharmacia.67.e54170>.

50. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид., Т. 1. Харків: Держ.

п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. 1128 с.

51. European Pharmacopoeia. Council of Europe. 6.0 edition. Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines, 2007. Vol. 2.2. 3308 p.

52. Марчишин С. М., Стойко Л. І., Дахим І. С. Визначення якісного складу та кількісного вмісту кислот гідроксикоричних у тирличу хрещатого траві (*Gentiana cruciata* L.) *Фармацевтичний журнал*. 2016. № 3-4. С. 76–81.

53. Grytsyk A., Dubel N., Grytsyk L. Research of extraction parameters of alchemilla subcrenata bus. herb. *SSP modern pharmacy and medicine*. 2021. Vol. 1, no. 2. P. 1–9.

54. Sumere B. R., de Souza M. C., Dos Santos M. P., Bezerra R. M. N., da Cunha D. T., Martinez J., Rostagno M. A. Combining pressurized liquids with ultrasound to improve the extraction of phenolic compounds from pomegranate peel (*Punica granatum* L.). *Ultrasonics Sonochemistry*. 2018. Vol. 48. P. 151–162. doi:10.1016/j.ultsonch.2018.05.028.

55. Будняк Л. І., Кривош П. В. Дослідження ринку лікарських засобів на основі золототисячника звичайного (*Centaureum erythraea* Rafn.). *Запорізький фармацевтичний форум - 2023* : матеріали Всеукр. науково-практ. конф. з міжнар. участю, м. Запоріжжя, 23–24 листоп. 2023 р. Запоріжжя, 2023. С. 14.

56. Будняк Л., Кривош П. В. Визначення гідроксикоричних кислот у витяжці з трави золототисячника звичайного. *Сучасна фармація: реалії сьогодення та перспективи розвитку* : Тези доп. Всеукр. науково-практ. конф. з міжнар. участю, м. Одеса, 9-12 квіт. 2024 р. Одеса, 2024. С. 152–153.

ДОДАТКИ