

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Факультет хімії та фармації
Кафедра фармакології та технології ліків

Кваліфікаційна робота
на здобуття ступеня вищої освіти «магістр»
на тему: «Фітохімічний та фармакологічний аналіз екстракту *Helichrysum*
arenarium».
« Phytochemical and pharmacological analysis of *Helichrysum arenarium*
extract»

Виконала: студентка денної форми навчання
Спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація»

Леоненко Катерина Ігорівна

Керівник: Устянська О.В., доц., к.б.н. _____

Рецензент: Кіосе Т.О., доц. д.х.н. _____

Рекомендовано до захисту:
протокол засідання кафедри
№ ____ від _____ 2025 р.
Завідувач кафедри
_____ проф. Грицук О.І.
(підпис)

Захищено на засіданні ЕК № ____
протокол № ____ від « ____ » _____ 2025 р
Оцінка _____ / _____ / _____
(за національною шкалою/ за шкалою ECTS/ бал)
Голова ЕК

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота здійснена в Одеському національному університеті імені І.І. Мечникова, на кафедрі загальної та клінічної фармації, факультету хімії та фармації, і зосереджена на аналізі хімічного складу та фармакологічній активності екстракту *Helichrysum arenarium*.

За результатами проведеного дослідження показано, що квіти цмину піщаного є багатим джерелом поліфункціональних біологічно активних сполук, зокрема поліфенолів (13,8 мг/г у перерахунку на галову кислоту), флавоноїдів (30,7 мг/г у перерахунку на рутин), антоціанів (0,86 мг/г у перерахунку на ціанідин-3,5-диглікозид), гідроксикоричних кислот (1,1мг/г у перерахунку на хлорогенову кислоту), дубильних речовин (7,9 мг/г у перерахунку на танін), органічних кислот (9,5 мг/г у перерахунку на яблучну кислоту), вітаміну С (11,25 мг/г у перерахунку на яблучну кислоту), вітаміну К 1,59 мг/г у перерахунку на вікасол).

Проведене дослідження підтвердило високий рівень гемостатичної активності водно-спиртового екстракту квіток *Helichrysum arenarium*. За умов *in vivo* та *in vitro* моделювання встановлено достовірне зниження протромбінового часу (ПЧ) на 16,7–23,8% та скорочення активованого часткового тромбoplastинового часу (АЧТЧ) на 25,3–36,4% відносно контрольної групи. Це свідчить про активацію як зовнішнього, так і внутрішнього шляхів згортання крові під впливом екстракту, що пов'язано з наявністю у його складі флавоноїдів, дубильних речовин, поліфенолів і вітаміну К₁.

Кваліфікаційна робота викладена на 66 сторінках друкованого тексту та містить: 6 таблиць; 5 рисунків; використано 46 літературних джерел.

ЗМІСТ

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ, ЦМИН ПІЩАНИЙ	7
1.1. Ботанічна характеристика	7
1.2. Використання та господарське значення.....	11
1.3. Використання в народній медицині	13
1.4. Хімічний склад	15
1.5. Фармакологічні властивості.....	16
1.6. Побічні ефекти	24
РОЗДІЛ 2. Матеріали та методи дослідження	27
2.1. Об'єкт дослідження	27
2.2. Методи дослідження.....	27
2.2.1. Спектрофотометричне визначення сумарного вмісту антоціанів.	27
2.2.2. Визначення вмісту гідроксикоричних кислот	28
2.2.3. Методика кількісного визначення вмісту хлорофілів та каротиноїдів	28
2.2.4. Методика визначення вмісту вільних органічних кислот	30
2.2.5. Методика визначення вмісту аскорбінової кислоти	30
2.2.6. Спектрофотометричне визначення вмісту флавоноїдів	31
2.2.7. Дослідження вмісту поліфенольних сполук в екстрактах методом Фоліна-Чокальтеу	33
2.2.8. Методика визначення дубильних речовин в ЛРС	35
2.2.9. Спектрофотометричне визначення вітаміну К у лікарській рослинній сировині.	36
2.2.10. Методика визначення впливу рослинних екстрактів на протромбіновий час (ПЧ)	37
2.2.11. Методика визначення впливу рослинних екстрактів на активований частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ)	38
Розділ 3. Результати та їх обговорення.....	40
3.1. Фітохімічний аналіз квітів цмину піщаного	40
3.1.1. Визначення вмісту антоціанів	40
3.1.2. Визначення вмісту гідроксикоричних кислот	40

3.1.3. Визначення вмісту хлорофілів та каротиноїдів.....	41
3.1.4. Визначення вмісту флавоноїдів.....	42
3.1.5. Визначення вмісту поліфенолів	45
3.1.6. Визначення вмісту дубильних речовин.....	47
3.1.7. Визначення вмісту вільних органічних кислот	48
3.1.8. Визначення вмісту аскорбінової кислоти	48
3.1.9. Визначення вмісту філохінону (вітаміну К)	49
3.1.10. Узагальнення результатів фітохімічного аналізу.....	50
3.2. Визначення фармакологічної активності екстракту квітів цмину піщаного	53
3.2.1. Визначення впливу рослинних екстрактів на протромбіновий час (ПЧ)	53
3.2.2. Методика визначення впливу рослинних екстрактів на активований частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ).....	56
Узагальнення та перспективи подальших досліджень.....	59
ВИСНОВКИ.....	60
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	61

ВСТУП

Фармакологія, як одна з ключових галузей сучасної медицини, постійно перебуває у пошуку нових, ефективних і безпечних лікарських засобів. Рослинні препарати, які базуються на натуральних екстрактах, займають особливе місце в терапії багатьох захворювань. Актуальним стає дослідження рослин з доведеними лікувальними властивостями, серед яких особливе місце займає *Helichrysum arenarium* (цмин піщаний).

Цмин піщаний відомий своїм багатим хімічним складом, який включає флавоноїди, кумарини, ефірні олії, фенольні кислоти та інші біологічно активні сполуки. Ці компоненти забезпечують широкий спектр фармакологічної активності рослини, зокрема протизапальну, жовчогінну, антибактеріальну та антиоксидантну дію. Проте, незважаючи на великий обсяг літературних даних, питання фармакологічної активності екстракту *Helichrysum arenarium* все ще залишаються недостатньо вивченими.

Актуальність цієї роботи обумовлена необхідністю розширення наукових знань про механізми дії екстракту *Helichrysum arenarium* на організм, що може сприяти створенню нових лікарських препаратів з підвищеною ефективністю та мінімальними побічними ефектами.

Метою даної роботи є здійснення фітохімічного аналізу та дослідження фармакологічної активності екстракту *Helichrysum arenarium* як потенційного активного компонента лікарських та лікувально косметичних засобів.

Завдання дослідження. Задля досягнення цілі необхідно здійснити такі кроки:

- Провести аналіз сучасної літератури щодо хімічного складу та фармакологічних властивостей *Helichrysum arenarium*;
- Здійснити фітохімічний аналіз екстракту квітів цмину піщаного (*Helichrysum arenarium*) та встановити кількісний вміст поліфенольних сполук, флавоноїдів, антоціанів, дубильних речовин, вільних органічних кислот, вітамінів С та К;

- Визначити вплив екстракту на протромбіновий час в дослідях *in vivo* та *in vitro*
- Визначення впливу рослинних екстрактів на активований частковий тромбопластиновий час в дослідях *in vivo* та *in vitro*
- Узагальнити отримані результати та надати рекомендації щодо можливих напрямів подальшого використання екстракту у фармакології.

Новизна дослідження. У роботі вперше проведено комплексний фітохімічний аналіз екстракту *Helichrysum arenarium*. Отримані дані дозволяють глибше зрозуміти механізми дії рослини, що розширює можливості її застосування в медицині. Також вперше досліджено гемостатичну активність екстракту цмину піщаного.

Об'єктом дослідження є біологічно активні речовини, які містяться в екстракті *Helichrysum arenarium*, та їх вплив на фізіологічні функції організму.

Методи дослідження. Для вирішення поставлених завдань застосовано комплекс експериментальних методів, включаючи аналітичні, фармакологічні та статистичні методи аналізу.

Кваліфікаційна робота має на меті не лише поглиблення наукових знань про *Helichrysum arenarium*, але й практичне застосування отриманих результатів у розробці нових засобів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Pljevljakušić D., Bigović D., Janković T., Šavikin K. Sandy Everlasting (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench): Botanical, Chemical and Biological Properties // *Front. Plant Sci.* – 2018. – №9. – С. 1115
2. Aslanyan M., Bobrytska L., Hrytsenko V., Shpychak O., Popova N., Germanyuk T., Kryvoviaz O., Ivko T. Technological aspects of development of a new drug in tablets called «Lavaflam» and its pharmacoeconomic evaluation // *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci. (RJPBCS)*. – 2017. – №8. – С. 800.
3. Gadjalova A.V., Mihaylova D. Ultrasound-assisted extraction of medicinal plants and evaluation of their biological activity // *FoodRes.* – 2019. – №3. – С. 525–540.
4. Abdelhameed R.M., El-Sayed H.A., El-Shahat M., El-Sayed A.A., Darwesh O.M. Novel Triazolothiadiazole and Triazolothiadiazine Derivatives Containing Pyridine Moiety: Design, Synthesis, Bactericidal and Fungicidal Activities // *Curr. Bioact. Compd.* – 2018. – №14. – С. 170–183.
5. Darwesh O.M., Mahmoud R.H., Abdo S.M., Marrez D.A. Isolation of *Haematococcus lacustris* as source of novel anti-multi-antibiotic resistant microbes agents; fractionation and identification of bioactive compounds // *Biotechnol. Rep.* – 2022. – №35.
6. Kutluk I., Aslan M., Orhan I.E., Özçelik B. Antibacterial, antifungal and antiviral bioactivities of selected *Helichrysum* species // *S. Afr. J. Bot.* – 2018. – №119. – С. 248–260.
7. Tepe B., Sokmen M., Akpulat A.H., Sokmen A. In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of four *Helichrysum* species from Turkey // *Food Chemistry.* – 2005. – №90(4). – С. 680–690.
8. Bouchaala M., Ramdani M., Lograda T., Chalard P., Figueredo G. Chemical composition, antibacterial activity and chromosome number of *Helichrysum lacteum*, endemic from Algeria // *Int. J. Pharma Res. Health. Sci.* – 2017. – №5(1). – С. 1530–1545.

9. Cheng M., Ding L., Kan H., Zhang H., Jiang B., Sun Y., Cao S., Li W., Koike K., Qiu F. Isolation, structural elucidation and in vitro hepatoprotective activity of flavonoids from *Glycyrrhiza uralensis* // J. Nat. Med. – 2019. – №73. – C. 845–855.
10. Giovanelli S., De Leo M., Cervelli L., Ruffoni B., Ciccarelli D., Pistelli L. Essential oil composition and volatile profile of seven *Helichrysum* species grown in Italy // Chem. Biodiversity. – 2018. – №15(5).
11. Velikorodov A.V., Pilipenko V.N., Pilipenko T.A., Tyrkov A.G. // Khimiya rastitel'nogo syr'ya. – 2017. – №4. – C. 115–122.
12. Dias M.C., Pinto D.C.G.A., Silva A.M.S. Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity // Molecules. – 2021. – №26.
13. Litvinenko V.I. On the issue of isosalipurposide standard in the control of raw materials and phytopreparations from immortelle sandy // Farmakom. – 2016. – C. 20–28.
14. Mao Z., Gan C., Zhu J., Ma N., Wu L., Wang L., Wang X. Anti-atherosclerotic activities of flavonoids from the flowers of *Helichrysum arenarium* L. Moench through the pathway of anti-inflammation // Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters. – 2017. – №27. – C. 2810–2820.
15. Jaradat N., Qneibi M., Hawash M., Sawalha A., Qtaishat S., Hussein F., Issa L. Chemical Composition, Antioxidant, Antiobesity, and Antidiabetic Effects of *Helichrysum sanguineum* (L.) Kostel. from Palestine // Arab J. Sci. Eng. – 2021. – №46. – C. 40–53.
16. Yilmaz M.T., İspirli H., Taylan O., Balubaid M., Dertli E. Facile biomimetic synthesis of AgNPs using aqueous extract of *Helichrysum arenarium*: Characterization and antimicrobial activity // Inorg. Nano-Met. Chem. – 2022. – №52. – C. 1–13.
17. Liu X., Jing X., Li G. A process to acquire essential oil by distillation concatenated liquid-liquid extraction and flavonoids by solid-liquid extraction simultaneously from *Helichrysum arenarium* (L.) Moench inflorescences under ionic liquid microwave mediated // Sep. Purif. Technol. – 2019. – №209. – C. 162–175.

18. Stankov S., Fidan H., Petkova N., Stoyanova A., Dincheva I., Doğan H. Phytochemical composition of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench essential oil (aerial parts) from Turkey // *Ukrainian Food Journal*. – 2020. – №9.
19. Grinev V.S., Shirokov A.A., Navolokin N.A., Polukonova N.V., Kurchatova M.N., Durnova N.A., Bucharskaya A.B., Maslyakova G.N. Polyphenolic compounds of a new biologically active extract from immortelle sandy flowers (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench.) // *Russ. J. Bioorg. Chem.* – 2016. – №42. – C. 770–780.
20. Grădinaru A.C., Sillion M., Trifan A., Miron A., Aprotosoiaie A.C. *Helichrysum arenarium* subsp. *arenarium*: Phenolic composition and antibacterial activity against lower respiratory tract pathogens // *Nat. Prod. Res.* – 2014. – №28.
21. Sawilska A.K. Population structure of sandy everlasting *Helichrysum arenarium* (L.) Moench in relation to the advancement of the secondary succession of swards on sandy soils // *Infrastructure and Environment*. – 2019. – №74.
22. Judžentienė A., Charkova T., Misiūnas A. Chemical composition of the essential oils from *Helichrysum arenarium* (L.) plants growing in Lithuanian forests // *J. Essent. Oil Res.* – 2019. – №11.
23. Zhang Q., Lin L., Ye W. Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review // *Chin. Med.* – 2018. – №13. – C. 21.
24. Goldansaz S.M., Mahboubi A., Yazdi-nejad A., Jahanbakhshi M., Mojab F. Investigation on total phenolic content, antibacterial, and antioxidant activity of ethanolic extract of *Helichrysum leucocephalum* Boiss // *Am. J. Essent. Oil. Nat. Prod.* – 2018. – №6. – C. 19–25.
25. Stankov S., Fidan H., Petkova N., Stoyanova A., Dincheva I. Phytochemical composition of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench essential oil (aerial parts) from Turkey // *Ukrainian Food Journal*. – 2020. – C. 501–510.
26. Catana R., Helepciuc F.E., Zamfir M., Florescu L., Mitoi M. In Vivo and in vitro antioxidant activity of *Cnicus benedictus* // *AgroLife Sci. J.* – 2020. – №9. – C. 70–78.

27. Jia F., Turak A., Zou G. New Phthalide from *Helichrysum arenarium* // Chemistry of Natural Compounds. – 2019. – C. 998–1001.
28. Akin M., Saki N. Antimicrobial, DPPH Scavenging and Tyrosinase Inhibitory activities of *Thymus vulgaris*, *Helichrysum arenarium* and *Rosa damascena* Mill. Ethanol Extracts by using TLC Bioautography and Chemical Screening Methods // J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. – 2019. – C. 201–217.
29. Babotă M., Mocan A., Vlase L., Crișan O., Ielciu I., Gheldiu A.M., Păltinean R. Phytochemical analysis, antioxidant and antimicrobial activities of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. and *Antennaria dioica* (L.) Gaertn. flowers // Molecules. – 2018. – C. 408.
30. Liu Z., Kong L., Lu S., Zou Z. Application of a Combined Homogenate and Ultrasonic Cavitation System for the Efficient Extraction of Flavonoids from *Cinnamomum camphora* Leaves and Evaluation of Their Antioxidant Activity In Vitro // J. Anal. Methods Chem. – 2019. – №12.
31. Judzentiene A., Budiene J., Nedveckyte I., Garjonyte R. Antioxidant and toxic activity of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench and *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don essential oils and extracts // Molecules. – 2022. – №27.
32. Umaz A., Umaz K. Determination and comparison of volatile compounds of gold grass (*Helichrysum arenarium*) from two different locations // GUFBD. – 2020. – №10(3). – C. 588–600.
33. Tıǧlı Kaytanlıoǧlu EHT, Özderin S., Fakir H., Gümüșay E. Determination of volatile components of *Helichrysum arenarium* subsp. *aucheri* naturally distributed in two different regions // EJOSAT. – 2021. – C. 151–157.
34. Bozyel M.E., Canli K., Benek A., Yetgin A., Altuner E.M. Biochemical composition and in vitro antimicrobial activity of endemic *Helichrysum arenarium* ssp. *aucheri* ethanol extract // Fresenius Environ Bull. – 2021. – №869.
35. Inhibitory effect of *Helichrysum arenarium* essential oil on the growth of food contaminated microorganisms // Journal of Essential Oil Bearing Plants. – 17(5). – 2014. – C. 910–921.

36. Noori M., Poodineh M., Hakimzadeh V. Composition of *Helichrysum arenarium* essential oil and antimicrobial activity against some food-borne pathogens // *Biotechnology An Indian Journal*. – 2015. – С. 119–124.
37. Lemberkovics E., Czinner E., Balázs A., Karsai B.E., Vitány G. New data on composition of essential oil from inflorescence of everlasting (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench.) // *Acta Pharm. Hung.* – 2017. – №91.
38. Zheljazkov V., Semerdjieva I., Yankova Tsvetkova E., Astatkie T., Stanev S. Chemical Profile and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Helichrysum arenarium* (L.) and *Helichrysum italicum* (Roth.) G Don // *Plants*. – 2022. – №11. – С. 950.
39. Mao Z., Gan C., Zhu J., Ma N., Wu L., Wang L., Wang X. Anti-atherosclerotic activities of flavonoids from the flowers of *Helichrysum arenarium* L. Moench through the pathway of anti-inflammation // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2017. – №27. – С. 2809–2815.
40. Forycka A., Adamczak A., Opala B., Gryszczyńska A., Buchwald W. Yield and level of phenolic compounds in the inflorescence of yellow everlasting *Helichrysum arenarium* (L.) Moench collected from natural sites // *Herba Polonica*. – 2016. – №62(4). – С. 10–22.
41. Практикум з фармакогнозії: Навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів / В. М. Ковальов, Н. В. Попова, В. С. Кисличенко та ін.; За заг. ред. В. М. Ковальова. – Х.: Видавництво НФаУ; Золоті сторінки, 2003. – 512 с.
42. Горяча Л. М. Визначення кількісного вмісту хлорофілів у траві амброзії полинолистій / Л. М. Горяча, І. О. Журавель // Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії: матеріали II міжнар. наук. — практ. інтернет — конф., м. Харків, 12-13 листоп. 2015 р. — Х. : Вид-во НФаУ, 2015. — С. 92. — (Серія «Наука»).
43. Колісник Ю. С. Пігменти трави грициків звичайних (*Capsella bursa-pastoris*) / Ю. С. Колісник, В. С. Кисличенко, В. Ю. Кузнецова // *Фармацевтичний журнал*. — 2013. — № 1. — С. 75-77.

44. Кисличенко В. С. Визначення впливу кратності екстракції на вихід біологічно активних речовин з трави грициків звичайних / В. С. Кисличенко, В. Ю. Кузнецова, Ю. С. Колісник // Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії : матеріали I Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 7-8 листоп. 2014 р. - Х : Видавництво НФаУ, 2014. - С. 86 - 87.

45. Мазулін О.В. Стандартизація лікарської сировини рослин роду деревій за вмістом вітаміну К / О.В. Мазулін, Н.О. Калошина // Фармац. журнал. – 1997. – №5. – С. 69–72.

46. Т.В. Хортецька, О.В. Мазулін, Г.П. Смойловська, Г.В. Мазулін Вивчення вмісту вітаміну К у листі перспективних видів роду *Plantago* L. флори України у вегетаційний період // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики (2012), №3 (10). – С. 26-28.