

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ

О.О.БОГОМОЛЬЦЯ

ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

ХІМІЇ ЛІКІВ ТА ЛІКАРСЬКОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ

(назва кафедри)

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Визначення пестицидів у складі рослинної сировини
Живокосту лікарського (*Symphytum officinale*) методом газової
хроматографії»

Виконав: здобувач вищої освіти 6 курсу, групи 1082А
напряму підготовки (спеціальності)

226 «Фармація, промислова фармація»

(шифр і назва напряму підготовки, спеціальності)

Фармацевтичний факультет, заочна форма навчання

Освітньо-кваліфікаційний рівень «магістр»

«Фармація»

(назва освітньої програми)

Лагода Ангеліна Вікторівна

(прізвище та ініціали)

Керівник: **проф., д.фарм.н. Вельчинська О.В.**

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Рецензент: **к.б.н. Мелешко Р.А.**

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Київ – 2025-2026 р.р.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	3
ВСТУП.....	5
ОСНОВНА ЧАСТИНА.....	10
 РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ ОТРУТОХІМІКАТІВ.....	10
1.1. Особливості хімічної будови	10
1.2. Біологічна активність	16
 РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ ОТРУТОХІМІКАТІВ.....	18
2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості	18
 РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	26
 ВИСНОВКИ.....	35
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	36
SUMMARY	40
ДОДАТОК 1.....	41

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

г – грам

ГМДС – гексаметилдисилоксан

ГРХ – газо-рідинна хроматографія

ДФУ – Державна Фармакопея України

ДМСО – диметилсульфоксид

ДМФА – диметилформамід

ІЧ спектр – інфрачервоний спектр

мкл – мікролітр

мкм – мікромметр

мл – мілілітр

ММ – молекулярна маса

НРФ – нерухома рідка фаза

нм – наномметр

РХ – рідинна хроматографія

см⁻¹ – обернений сантиметр

Спектр ПМР – спектр протонно-магнітного резонансу

ТМС – тетраметилсілан

ТГФ – тетрагідрофуран

T. кип. – температура кипіння

T. пл. – температура плавлення

УФ спектр – ультрафіолетовий спектр поглинання

ЯМР ^1H – спектр ядерно-магнітного резонансу протонний

Alk – алкіл-радикал

Ar – арил-радикал

$^{\circ}\text{C}$ – градуси Цельсія

ВСТУП

Актуальність теми. Живокіст лікарський (*Symphytum officinale*) – трав'яниста рослина. Вона традиційно використовується в медицині завдяки своїм протизапальним та регенеруючим властивостям. Її внутрішнє застосування вкрай небезпечно через токсичність. Живокіст містить алантоїн – речовину, яка стимулює ріст клітин, сприяє відновленню пошкоджених тканин. Це робить його ефективним для зовнішнього застосування.

Препарати Живокосту лікарського (*Symphytum officinale*) використовуються для:

- загоєння ран та травм: прискорення загоєння ран, порізів, ударів, розтягнень сухожиль, закритих переломів кісток
- знеболювальна та протизапальна дія: при болях у суглобах, спині, попереку, радикуліті, остеохондрозі, артриті, при м'язових болях
- проблеми зі шкірою: при лікуванні екземи, псоріазу, дерматитів, тріщин на шкірі, трофічних виразок
- застосовується у вигляді полоскань при пародонтозі та запаленнях ротової порожнини

Symphytum officinale містить піролізидинові алкалоїди (ПА), які є гепатотоксичними, мутагенними та канцерогенними речовинами.

Категорично забороняється приймати препарати живокосту внутрішньо (чаї, настоянки). Це може призвести до серйозного та незворотного пошкодження печінки.

Вважається безпечним лише для короточасного застосування (до 10 днів) на неушкодженій шкірі при зовнішньому застосуванні. Не слід наносити мазі або настоянки на відкриті, пошкоджені рани. Токсичні речовини можуть проникати через шкіру.

Засоби з живокосту заборонені вагітним, жінкам, що годують груддю, дітям до 14 років, людям із захворюваннями печінки, доброякісними пухлинами, оскільки рослина стимулює ріст клітин.

Живокіст називають «алантоїновою» рослиною через значний вміст алантоїну (0,28–6%).

У його складі виявлено:

- алкалоїди (0,13–0,32%) – ехімідин, симфітин, лазіокарпін, асперумін, симландин, інтермедин, лікопсамін;
- амінокислоти: треонін, валін, метіонін;
- білки, зв'язані з вуглеводами;
- вуглеводи (18–29%) - фруктоза (0,7%), сахароза (1,2%), глюкоманани, водорозчинні полісахариди (гідролізуються до глюкози (0,43–2,62%), арабінози, ксилози, рамнози;
- уронові кислоти;
- пектинові речовини, крохмаль (4,25%);
- ліпофільні речовини - хлорофіли, каротиноїди, токоферолі;
- антоціанові пігменти - глікозиди ціанідину, дельфінідину, мальвідину;
- стерини, тригліцериди жирних кислот, монотерпеноїди;
- фенольні сполуки - літоспермова кислота, дубильні речовини (2,4%).

За даними ESCOP рослинна сировина живокосту, *Symphytum officinale* та *Symphytum uplandicum*, рекомендована для місцевого лікування багатьох захворювань – тендиніти, травми колін, застуджені плечі, переломи та подразнення шкіри. Препарати живокосту ефективні при захворюваннях опорно-рухового апарату, при остеоартриті, болю в спині, розтягненнях, вивихах, міалгії та ревматизмі. Коріння і листя містять алантоїн, який стимулює клітинну проліферацію та загоєння тканин [1-6].

ДФУ (Державна Фармакопея України) містить офіційні вимоги до лікарської рослини *Symphytum officinale* (Живокіст лікарський), її сировини (корінь), хімічного складу та контролю якості. У ДФУ описані методи заготовки сировини, її зберігання та контроль домішок. Певні вимоги регламентовано до аналізу рослини *Symphytum officinale* L European Union herbal monograph, 31 January 2024 EMA/HMPC/572846/2009 Corr1 Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC).

Встановлено стандарти якості для цієї лікарської рослинної сировини [27, 28].

Процедури аналізу відповідної фармакопейної монографії:

- Макро- та мікроскопічний аналіз для підтвердження автентичності сировини.
- Визначення вмісту алкалоїдів, ліпофільних речовин, фенольних сполук - ключовий показник якості.
- Визначення вмісту інших біологічно активних речовин - амінокислот треонін, валін, метіонін, вуглеводнів.
- Контроль якості (втрата в масі при висушуванні, вміст золи, домішок, важких металів, мікробіологічна чистота тощо).

Європейська фармакопея (Ph. Eur.) / Європейське агентство з лікарських засобів (EMA): Корінь живокосту (*Symphyti radix*) має офіційну монографію. Він класифікується як традиційний рослинний лікарський препарат для зовнішнього застосування.

Препарати на основі окопника включені до національних фармакопей (наприклад, Британську трав'яну фармакопею 1996 року).

Екологічна безпека лікарської рослинної сировини є фундаментальним критерієм. Зростаючий антропогенний тиск на природні екосистеми, спричинений наслідками техногенних і воєнних катастроф призводить до

негативних змін у фітобіоценозах. Це впливає на якість, безпеку та фармакологічну ефективність лікарських засобів рослинного походження.

Дослідження екологічних ризиків у регіонах із високим рівнем біологічного різноманіття та значними ресурсами лікарської рослинності є важливими. Унікальні флористичні особливості регіону Волинського Полісся роблять його ключовим центром заготівлі лікарської рослинної сировини. Враховуючи зростаючі загрози для фармацевтичного забезпечення та здоров'я населення вивчення екологічної безпеки ЛРС Волинського Полісся є не лише актуальним, а й стратегічно важливим завданням сучасної науки та робить безпеку фітотерапії глобальним пріоритетом охорони здоров'я [2-10].

Актуальність вибору для дослідження базується на аналізі фармакопейної рослини *Живокосту лікарського (Symphytum officinale)* на вміст отрутохімікатів методом ГХ, сировина якої зібрана на територіях, які підлягають постійному забрудненню в результаті вибухів бойових отруйних речовин.

Мета і завдання дослідження. Метою експериментального дослідження є аналіз рослинної сировини лікарської рослини *Живокосту лікарського (Symphytum officinale)* (територія походження Західна Україна, Волинське Полісся) на вміст отрутохімікатів методом Газової Хроматографії (ГХ), адаптація умов хроматографування випробовуваних об'єктів для розуміння ступеню забруднення територій.

Завдання експериментального дослідження:

- Адаптувати методики пробопідготовки та досліджень, умови хроматографічного досліджень випробовуваних об'єктів рослинного походження - *Живокосту лікарського (Symphytum officinale)*.

- За допомогою методу Газової Хроматографії дослідити чистоту випробовуваних об'єктів на присутність ксенобіотиків – пестицидів, хлор-та фосфорвмісних речовин.
- Провести аналіз вмісту ксенобіотиків у випробовуваних об'єктах відповідно до допустимого нормування для лікарської рослинної сировини та інтерпретувати результати.

Методи дослідження. Газова хроматографія на хроматографі Agilent 6890A з електронозахоплювальним детектором, колонка – HP-1 (100 % полідиметилсилоксан), 30 м × 0,32 мм × 0,25 мкм; колонка була підключена до переднього електронозахоплювального детектора (ECD); комп'ютерний аналіз за програмою OpenLab CDS.

Новизна та значення одержаних результатів. Новизна експериментального дослідження полягає у осучасненні фармацевтичного аналізу шляхом впровадження високоселективного хроматографічного методу ГХ для ідентифікації і кількісного визначення ксенобіотиків (пестициди) як очікуваних в результаті хімічного забруднення, антропогенного впливу та воєнних дій складових об'єктів рослинного походження Волинського Полісся.

Апробація результатів дослідження. Результат досліджень апробовано на міжнародній науково-практичній конференції

Публікації: За матеріалами дослідження подані до публікації 1 тези доповіді.

Структура роботи: загальну кількість сторінок – 41, кількість розділів – 3, кількість додатків – 1, кількість використаних джерел – 28.

ОСНОВНА ЧАСТИНА

РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ ОТРУТОХІМІКАТІВ

1.1. Особливості хімічної будови

Близько 34 визнаних видів роду *Symphytum* (живокіст) займає важливе місце в родині *Boeraginaceae*. Види живокосту використовувалися з давніх часів як засоби для загоєння ран та регенерації шкіри.

Особлива увага приділяється методам молекулярної ідентифікації для таксономії видів, новим технологіям екстракції фітохімічних речовин живокосту. Описано методи метаболоміки для картування хімічної складності, сучасні платформам аналізів. Вони розкривають поліфармакологію, стратегіям формулювання та підходам до видалення токсичних піролізидинових алкалоїдів (ПА).

Метаболомні дослідження з використанням спектрохроматографічних методів виявили різноманітний хімічний склад рослин живокосту – полісахариди, алантоїн, похідні бензойної та коричної кислот, флавоноїди, жирні кислоти, ненасичені поліаміди на основі нецинової структури. Механізми, що лежать в основі їх протизапальних, знеболювальних, ранозагоювальних, протиподразнювальних та остеорегенеративних властивостей, були досліджені в фармакологічних установках.

Ключові сполуки: алантоїн, розмаринова кислота, глободнани А та В, рабдозіїн визначені як значні фактори, що сприяють протизапальній та ранозагоювальній дії препаратів, отриманих з *Symphytum*. Незважаючи на їх встановлене клінічне використання, побоювання щодо токсичності, індукованої фосфатидиламіном, спонукали до розробки стратегій відновлення

після впливу фосфатидиламіну. Це дозволяє виробляти екстракти живокосту з покращеними профілями безпеки, які можуть відповідати нормативним стандартам. Ці рослини походять з Понтійської провінції, були натуралізовані в різних регіонах, включаючи Південну Азію, Північну та Південну Америку, Африку та Австралію. *S. officinale* L. є основним представником роду.

Коріння (*Symphyti radix*), надземна частина (*Symphyti herba*) та листя (*Symphyti folium*) використовуються як рослинні продукти. Метаболомічні дослідження з використанням методів - ядерний магнітний резонанс (ЯМР) та мас-спектрометрія (МС) у поєднанні з рідинною хроматографією (РХ), виявили різноманітний хімічний склад, включаючи полісахариди (до 21 мас.%), похідні пурину (алантоїн, особливо в коренях), похідні бензойної та коричної кислот, флавоноїди, жирні кислоти. Присутні ненасичені піролізидинові алкалоїди (ПА) на основі нецинової структури (у коренях) (інтермедін, 7-ацетилінтермедін, лікопасамін, 7-ацетилікопасамін, симфітин та їх N-оксиди).

Види *Symphytum* відомі ранозагоювальними, в'язучими, протигеморагічними, регенеруючими шкіру. Традиційно використовувалися при таких станах, як виразки, рани, переломи кісток.

Безклітинні аналізи, клітинні аналізи, експерименти на тваринах та клінічні випробування задокументували етнофармакологічне використання живокосту. Дослідження виявили механізми, що лежать в основі його протизапальних, знеболювальних, ранозагоювальних, остеорегенеративних властивостей.

Механізми дії, специфічні для живокосту та похідних фітокомпонентів виникли в результаті досліджень, проведених протягом десятиліття. Це лягло в основу його використання в лікуванні захворювань опорно-рухового апарату - розтягнення, тупі травми, переломи, вивихи, гостра міалгія, запальні та дегенеративні ревматичні захворювання (ЕМА 2015). Показано, що

репрезентативні сполуки - алантоїн та фенольні сполуки, розмаринова кислота, глободнани А та В, рабдозіїн сприяють протизапальній та ранозагоювальній дії препаратів, отриманих з *Symphytum*.

Для зменшення токсичності, викликаної фосфатидиламіном, проведено необхідні дослідження. Стратегії включають розробку сортів живокосту без виявлених ПА та видалення/виснаження ПА з рослинної матриці/екстрактів за допомогою полімерних смол, функціоналізованих кислотними групами, молекулярно імпринтованих полімерів.

Ефективність та безпека *S. officinale* узагальнені науковими роботами, його токсикологічні питання були широко обговорені. Важливі клінічні дані зібрані у «Звіті про оцінку *Symphytum officinale* L., radix», підготовленому Європейським агентством з лікарських засобів (ЕМА 2015), у монографії «*Symphyti radix*. Корінь живокосту» Європейського наукового агенства з фітотерапії (ЕССОР, 2012). Обговорили середовище існування та культивування, фармакологічну активність та клінічну ефективність живокосту, а також, меншою мірою, хімічний склад.

Головною метою дослідження було забезпечити ретельний огляд проблем у межах роду *Symphytum*. Огляд охоплює оновлені дані таксономії, етнофармакологічного використання, хімічного складу та фармакологічної активності роду.

Акцент було зроблено на застосуванні методів молекулярної ідентифікації для видової таксономії, нових технологіях екстракції фітохімічних речовин живокосту, методах метаболоміки для картування хімічної складності, сучасних платформах біологічних аналізів для розкриття поліфармакології живокосту, стратегіях формулювання та підходах до видалення токсичних фосфатидиламінів (ПА) [11-15].

Таксономія та географічне поширення. Рід *Symphytum* охоплює багаторічні трави з грубим волосистим листям та дрібними дзвоникоподібними квітами. Кілька видів були інтродуковані/натуралізовані в Північній та Південній Америці, Південній Азії, Африці та Австралії. Рід належить до триби *Boraginaceae* родини *Boraginaceae*. В роді *Symphytum* налічується 34 визнаних види.

Згідно зі «Звітом про оцінку *Symphytum officinale* L., radix», підготовленим Європейським агентством з лікарських засобів (ЕМА) (2015), живокіст лікарський комерціалізується у вигляді висушених кореневищ та коренів *S. officinale*; рослинних препаратів: рідких екстрактів, отриманих шляхом екстракції, рідких екстрактів в мазевій основі, комбінацій рослинних речовин та рослинних препаратів.

На основі даних Агентство дійшло висновку, що традиційне медичне використання *S. Officinale* підтверджено протягом щонайменше 30 років, 15 років у Європейському Союзі. Це не призвело до жодних раціональних заперечень проти тривалого використання препаратів живокосту. Шлях введення має бути лише шкірним та обмеженим неущокованою шкірою.

Через наявність токсичних ПА добова доза повинна відповідати «Публічній заяві щодо використання рослинних лікарських засобів, що містять токсичні ненасичені піролізидинові алкалоїди (ПА), включаючи рекомендації щодо забруднення рослинних лікарських засобів ПА» (ЕМА 2021). Максимально допустима добова доза становить 0,007 мкг/кг/день, що призводить до добової дози 0,35 мкг/особу/день для короткочасного застосування (2 тижні).

Рід *Symphytum* є багатим джерелом різноманітних класів фітохімічних речовин. Від високомолекулярних сполук (полісахаридів, поліефірів) до малих молекул - пуринові похідні, фенольні кислоти, флавоноїди, піролізидинові алкалоїди, органічні кислоти та жирні кислоти.

Наведено 137 низькомолекулярних сполук, зареєстрованих у роді *Symphytum* (ідентифікованих). 31% з них були похідними бензойної та коричної кислот. Піролізидинові алкалоїди становили 23%; флавоноїди (18%) та жирні кислоти (13%) (рис. 1.1.1).

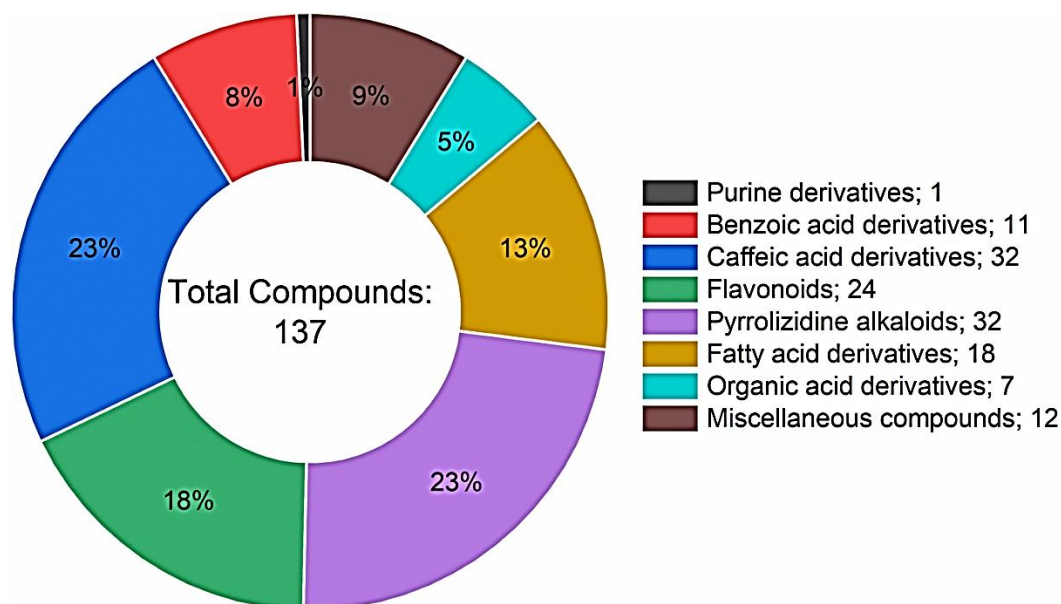


Рисунок 1.1.1. Розподіл різних фітохімічних класів метаболітів у роді *Symphytum*.

Полісахариди живокосту (ПЖ, слиз) вважаються одними з найцінніших біофункціональних інгредієнтів *S. officinale*, коренів. Фракції ПЖ (від 78,01% до 85,70% від загальної кількості полісахаридів) отримані з виходом від 7,39 до 24,51%.

Коріння живокосту може містити до 21% мас. полісахаридів. Моносахаридні основи фракцій ПЖ включають глюкозу, галактозу, галактуронову кислоту та арабінозу, 2,60/1,28/1,14/1,00. КП з розподілом молекулярної маси від 2,8 до 3420 кДа. Розподіл розмірів значною мірою залежить від умов сушіння або процедур екстракції.

СП, кілька водорозчинних високомолекулярних (>1000 кДа) фенольних поліефірних фракцій екстрагували з *S. officinale*, *S. asperum*, *S. caucasicum* та

S. grandiflorum. Показано, що мономерні остова фенольних полієфірів містять 3-(3,4-дигідроксифеніл)гліцеринову кислоту або 2-метоксикарбоніл-3-(3,4-дигідроксифеніл)оксиран. Структури охарактеризовані за допомогою ультрафіолетової (УФ), інфрачервоної спектроскопії з перетворенням Фур'є (FTIR), 1D- та 2D- ядерного магнітного резонансу (ЯМР).

Ці полієфіри демонструють розподіл молекулярної маси, подібний до розподілу СР, з якими вони пов'язані через водневі зв'язки у складній (супра)макромолекулярній мережі.

Похідні пурину. Алантоїн (PD1) утворюється в результаті катаболізму сечової кислоти, яка є продуктом розпаду нуклеїнових кислот.

Основна терапевтична активність алантоїну (PD1) включає стимуляцію клітинної проліферації, регенерацію тканин та реконструкцію грануляційної тканини. Показано, що кількість алантоїну (PD1) у коренях *S. officinale* коливається від 0,3 до 3,3 мас.%. Рівень алантоїну (PD1) у насінні (до 1,66 мас.%) та листі (~0,08 мас.%) нижчий, що підтверджує, що коріння є основним джерелом накопичення алантоїну (PD1). Алантоїн (PD1) був ідентифікований у *S. anatolicum* (вся рослина).

1.2.Біологічна активність

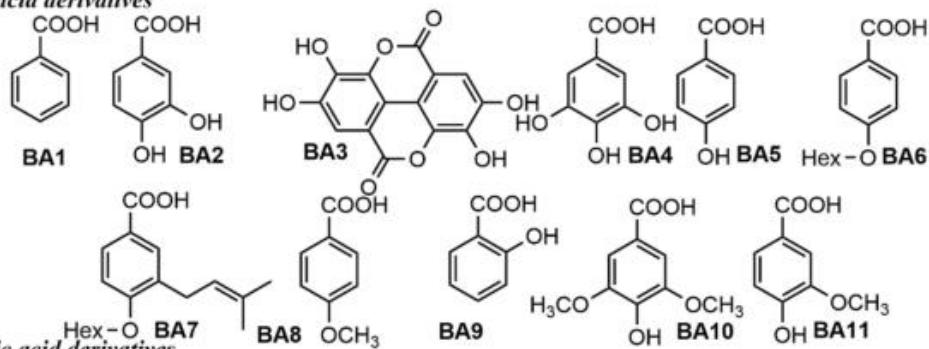
Фенольні сполуки роду *Symphytum* можна згрупувати у три категорії: похідні бензойної кислоти, похідні коричної кислоти та флавоноїди. Остання категорія присутня лише в надземній частині. Більшість цих метаболітів були ідентифіковані за допомогою стандартної ін'єкції або попередньої анотації - дереплікації. Зменшення інтересу до очищення сполук живокосту базується на отриманні великої кількості отриманих результатів.

У дослідженнях 2020-х років розмаринова кислота (CA24) з глобоїднаном А (CA16), глобоїднаном В (CA17) та рабдозіном (CA21) виділені з хорошими виходами з коренів живокосту за допомогою рідинно-рідинної хроматографії (PPX). Три останні олігомерні лігнани кавової кислоти вперше зареєстровані в коренях живокосту. Також виділили глобоїднан А (CA16) з вихідного матеріалу, на додаток до алантоїну (PD1), дигідроксибензойної/протокатехової кислоти (BA2), п-гідроксибензойної кислоти (BA5), кавової кислоти та розмаринова кислоти. Виділили 11 фітохімічних речовин: живокіст А (CA7) ідентифікований як нова арилнафталенова лігнанова сполука.

Серед похідних бензойної кислоти - п-гідроксибензойна кислота (BA5) та її гексозид (BA6) часто зустрічаються в *S. officinale*.

Похідні коричної кислоти представлені більш ніж 30 конгенерами. Кавова кислота (CA2), хлорогенова кислота (CA5), даншенсу (CA9) та розмаринова кислота (CA24) є найчастіше описаними. Розмаринова кислота (CA24) є відомим фітохімічним маркером у *S. Officinale*. Її рівень у коренях може коливатися від 0,18 до 0,70 мас.% (рис. 1.2.1).

Benzoic acid derivatives



Cinnamic acid derivatives

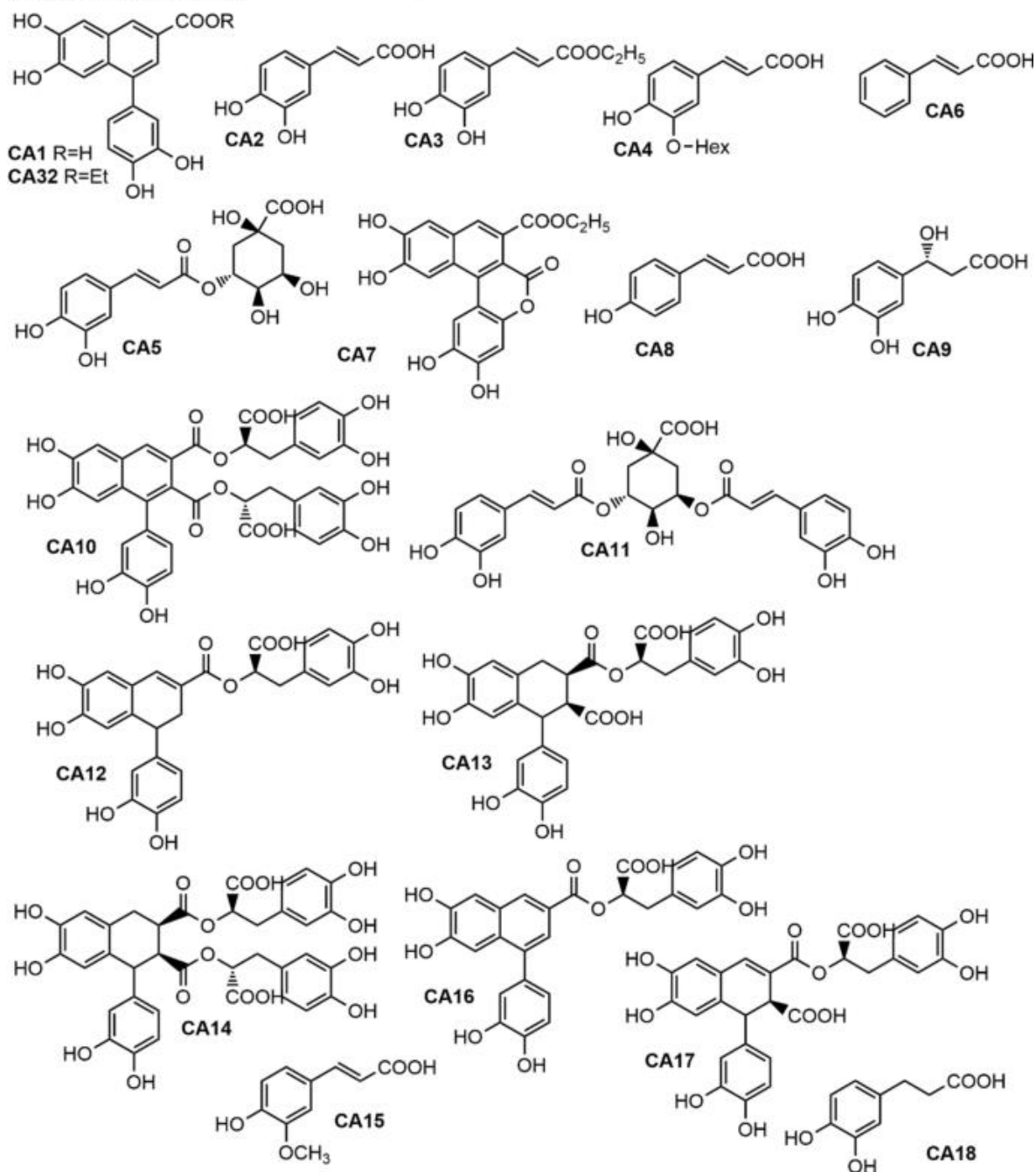


Рисунок 1.2.1. Структура фенольных сполук *Symphytum* genus.

РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ ОТРУТОХІМІКАТІВ

2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості

Раніше рослинна сировина *Symphytum officinale* (Волинське Полісся) була досліджена на вміст хлорорганічних пестицидів (табл. 2.1.1).

Таблиця 2.1.1. Результати дослідження наявності пестицидів в рослинних зразках.

№ з/п	Вміст пестицидів мг/кг	Живокіст лікарський	*Норма,
		(<i>Symphytum officinale</i>)	мг/кг
1	DDT	---	1,0
2	Hexachlorcyclohexane	---	0,3
3	Lindan	---	0,6
4	Diazinone	---	0,5
5	Malathione	---	1,0
6	Chlordane	0.01	0,05
7	Primiphos methyl	0.205	4,0

*Норма згідно з Європейською Фармакопеею 2019. 10 видання. ТОМ. 1. ст. 308-310

З допомогою поєднання методів газової хроматографії та мас-спектрометрії виявлено залишки пестицидів у зразках рослинної сировини. У зразку Живокіст лікарський (*Symphytum officinale*) концентрація приміфосметилу становила 0,205 мг/кг, що є найвищим значенням серед усіх аналізованих зразків. Такі значення можуть вказувати на те, що пестициди можна використовувати на стадіях вирощування або обробки рослинного матеріалу.

Хлорорганічні пестициди - хлордан, виявлено в значно менших кількостях. Їх концентрації коливалися від 0,01 до 0,05 мг/кг, що свідчить про наявність залишкових кількостей або забруднення навколишнього середовища.

Хроматограми представлено на рисунку 2.1.1, результати в таблиці 2.1.2. Візуально підтверджують наявність зазначених речовин і показують характерні піки, що відповідають виявленим пестицидам.

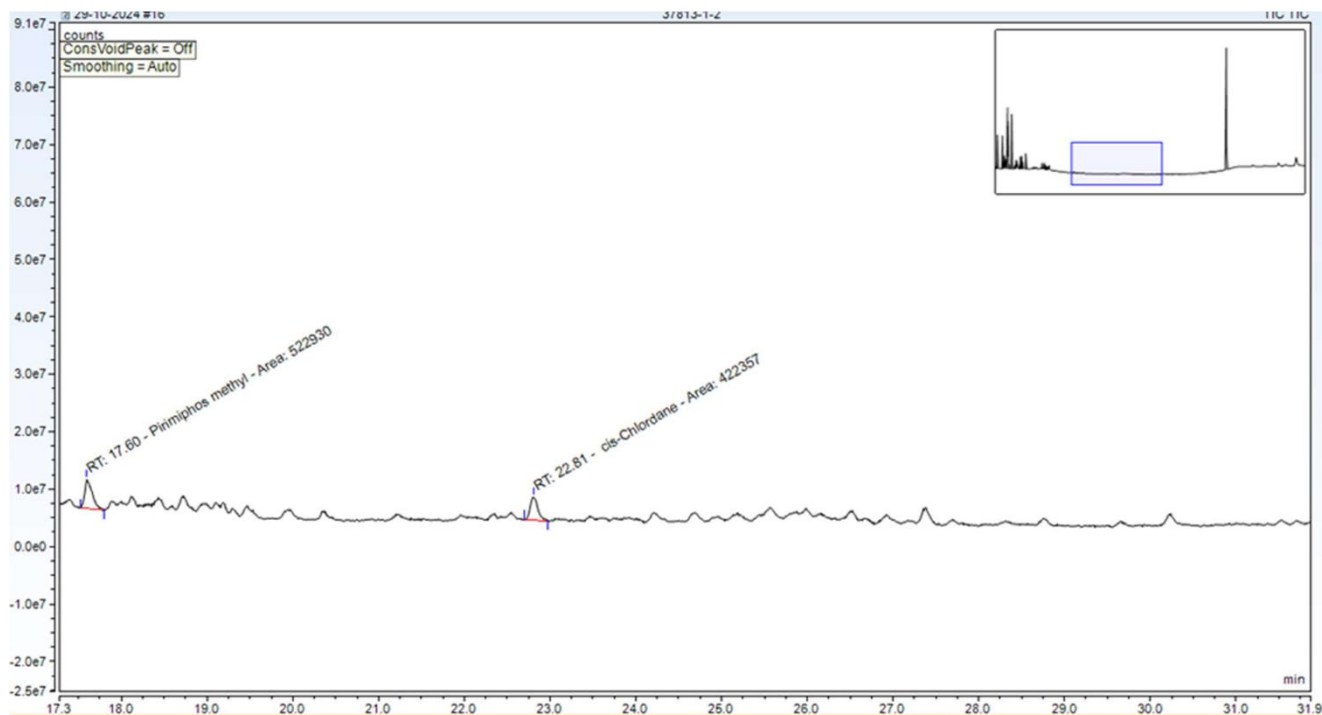


Рисунок 2.1.1. Хроматограма зразку Живокіст лікарський (*Symphytum officinale*).

Для дослідження вмісту інсектицидів у зразках використовували метод газової хроматографії після пробопідготовки, що включала екстракцію, очищення та концентрування проби.

Методика підготовки сировини: 10 г подрібненого зразка екстрагували 100 мл ацетону. До екстракту додавали 1 мл розчину карбофенотіону в толуолі (1,8 мкг/мл). Після гомогенізації суміш фільтрували. Залишок промивали ацетоном (2×25 мл). Осад розчиняли у 8 мл толуолу, розчин фільтрували через мембранний фільтр (0,45 мкм) і доводили об'єм до 10,0 мл (розчин А). Розчин А очищували методом ексклюзивної хроматографії з використанням толуолу як рухомої фази (швидкість потоку — 1 мл/хв). Фракції з елюатами, що містять інсектициди, збирали у межах 8,5–10,9 мл (розчин В).

Для аналізу використовували газовий хроматограф Agilent 6890А, де нерухомою фазою слугував полі(диметилсилоксан). Колонка підключена до переднього електронозахоплювального детектора (ECD).

Газ-носіє — азот, подача 3,9998 мл/хв (початково), з постпрограмним потоком 2,314 мл/хв. Контроль режиму потоку у режимі постійного потоку (constant flow).

У таблицях представлено детальну інформацію щодо хроматографічних характеристик кожного виявленого пестициду, зокрема час утримання піка (R_t), що є ідентифікаційним параметром, а також площу піка, яка прямо пропорційна концентрації речовини у зразку (рис. 2.1.2, 2.1.3; табл. 2.1.2, 2.1.3)

.

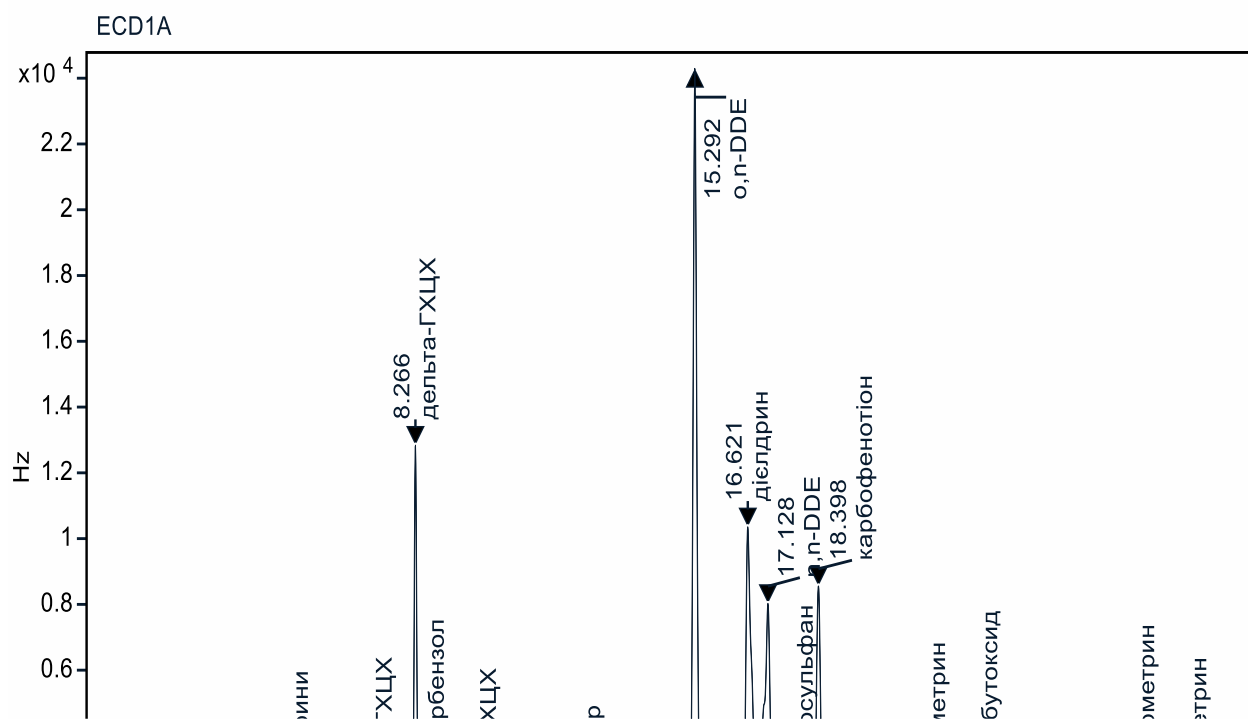


Рисунок 2.1.2. Хроматограма стандарту.

Таблиця 2.1.2. Хроматографічні характеристики виявлених пестицидів в *Symphytum officinale*

	алдрин		o,n-DDE		дієлдрин		карбофенотіон	
	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area
	12,479	97,309	15,282	95,349	16,609	106,522	19,205	117,599
	12,480	93,967	15,280	91,262	16,620	75,567	19,208	119,908
	12,481	100,810	15,280	92,488	16,617	107,928	19,204	119,342
Середнє	12,480	97,362	15,281	93,033	16,615	96,672	19,206	118,950

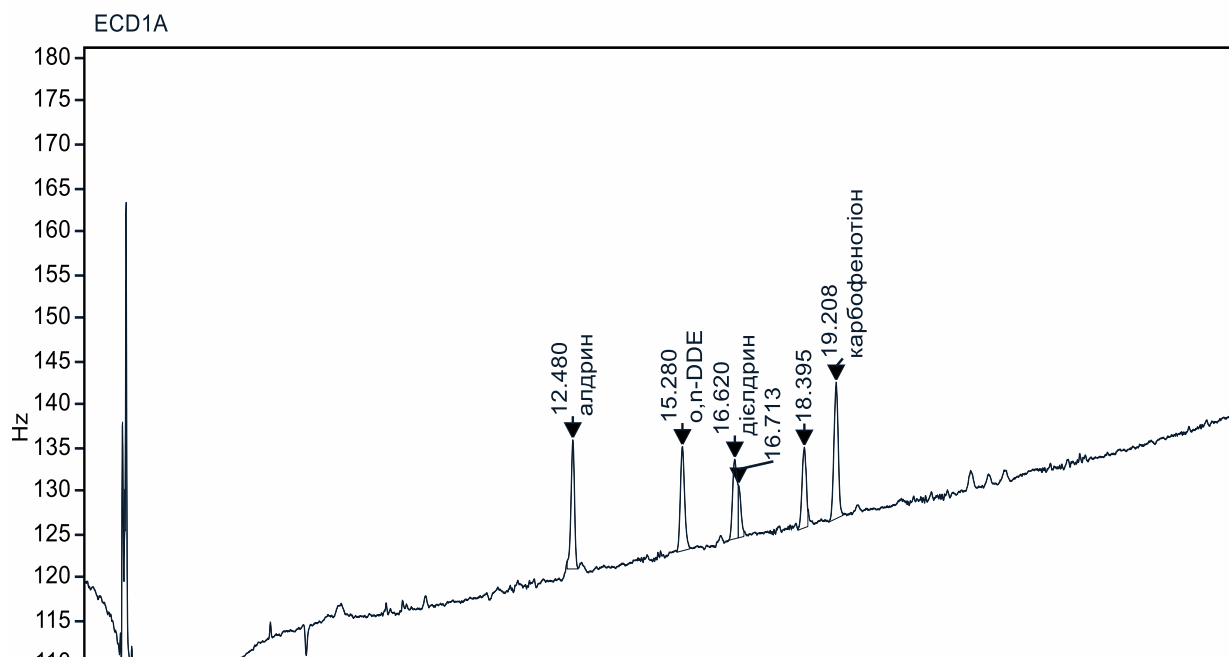


Рисунок 2.1.3. Хроматограма стандарту зразку *Symphytum officinale*.

Таблиця 2.1.3. Розрахункова таблиця концентрації пестицидів у зразках

Чебрець	S	So	mo	5 V	25	1.8	ms	P	10 мг/кг
аладин	62.916	5127.39	5.42	5	25	1.8	6.757	98.4	0.011395
o-pDDE	144.601	184183.06	15.12	5	25	1.8	6.757	99.5	0.002517
діелдрин	34.048	112695.934	15.14	5	25	1.8	6.757	97.05	0.00095
піретрин	37.849	3948.743	5.09	5	25	1.8	6.757	96.7	0.01005422
межа вмісту мг/кг	аладр+діел	0.05							
	o-pDDE	1							
	діелдрин	3							
Парило	S	So	mo	5 V	25	1.8	ms	P	10 мг/кг
аладин	61.509	5127.39	5.42	5	25	1.8	6.086	98.4	0.015137956
o-pDDE	377.062	184183.06	15.12	5	25	1.8	6.086	99.5	0.007287
діелдрин	398.477	112695.934	15.14	5	25	1.8	6.086	97.05	0.01229

межа вмісту мг/кг	аладр+діел	0.05							
	o-nDDE	1							
Живокіст	S	So	mo	5 V	25	1.8	ms	P	10 мг/кг
аладин	97.362	5127.39	5.42	5	25	1.8	6.134	98.4	0.023774218
o-nDDE	93.033	184183.06	15.12	5	25	1.8	6.134	99.5	0.001784
диелдрин	96.672	112695.934	15.14	5	25	1.8	6.134	97.05	0.00296
межа вмісту мг/кг	алад+діел	0.05							
	o-nDDE	1							
Хвоц	S	So	mo	5 V	25	1.8	ms	P	10 мг/кг
аладин	61.509	5127.39	5.42	5	25	1.8	6.238	98.4	0.014769093
o-nDDE	66.632	184183.06	15.12	5	25	1.8	6.238	99.5	0.001256
диелдрин	49.474	112695.934	15.14	5	25	1.8	6.238	97.05	0.00149
межа вмісту мг/кг	алад+діел	0.05							
	o-nDDE	1							

За результатами газохроматографічного аналізу встановлено, що в усіх досліджених зразках лікарської рослинної сировини вміст пестицидів не перевищує гранично допустимих концентрацій, визначених Державною Фармакопеею України та Європейською Фармакопеею.

Концентрація пестицидів розраховували за формулою:

$$X = \frac{S}{S_0} \times \frac{m_0}{5} \times \frac{0,1}{25} \times \frac{1,8}{m_c} \times \frac{P}{100} \times 1000$$

де: X — вміст діючої речовини у препараті (мг/кг).

S — площа плями препарату на хроматограмі.

S_0 — площа плями стандарту на хроматограмі.

m_0 — маса стандарту (мг).

m_s — маса препарату, що досліджується (г).

P — вміст діючої речовини у стандарті (%).

За допомогою методу індуктивно пов'язаної плазмової оптичної емісійної спектроскопії (ICP-OES) визначили чистоту випробовуваних об'єктів рослинного походження на присутність важких металів. Виявили перевищення вмісту Барію (від 3,6 до 12,9 мг/кг), Купруму (від 12,3 до 21,3 мг/кг), Олова (від 2,2 мг/кг), Стронцію (від 1,5 до 21,77 мг/кг), Цинку (від 12,9 до 56,7 мг/кг).

Проаналізовано результати відповідно до нормативних допустимих концентрацій національних та європейських стандартів якості для лікарської сировини. Встановлено, що об'єкти містять заборонені для використання ксенобіотики – ДДТ, ГХЦГ, Ліндан, Хлордан, Алдрин, о,п-ДДЕ, п,п-ДДТ, Діелдрин, Карбофенотіон.

Антиоксидантну активність екстракту живокосту визначали за допомогою приладу «01-АА» згідно з методикою вимірювання вмісту антиоксидантів у біологічно активних добавках – зразках екстрактів лікарських рослин амперометричним методом. Амперометричний метод вимірювання масової концентрації антиоксидантів базується на вимірюванні електричного струму. Він виникає внаслідок окислення молекул антиоксиданту на поверхні робочого електрода при певному потенціалі.

Метод базується на здатності молекул реакційноздатного радикала 2,2-дифеніл-1-пікрилгідрозилу (DPPH) зв'язуватися з антиоксидантами. Кожен зразок екстракту змішували з 2,85 мл свіжоприготованого 0,1 мМ розчину 2,2-дифеніл-1-пікрилгідрозилу (DPPH). Зразок інкубували при кімнатній температурі в темряві. Зниження оптичної густини при 515 нм (UV-3600, Shimadzu, Японія) вимірювали спектрофотометрично.

Розчини відомих концентрацій аскорбінової кислоти, тролокс (водорозчинний аналог вітаміну Е) та кверцетину використовували як стандарти для визначення антиоксидантної активності. Підготовка зразків - приготування насиченого розчину, фільтрування та вимірювання маси. Дослідження антиоксидантної активності (АК) проводилося спектрофотометричним методом Він заснований на інгібуванні стабільного хромогенного радикала 2,2-дифеніл-1-пікрилгідрозилу (ДФГГ).

У видимій області спектра ДФГГ в органічних розчинниках має широкий максимум поглинання на довжинах хвиль $515 \div 520$ нм. Він зникає при взаємодії радикала з речовинами — донорами атомів водню або вільними радикалами іншої структури (рис. 2.1.4).

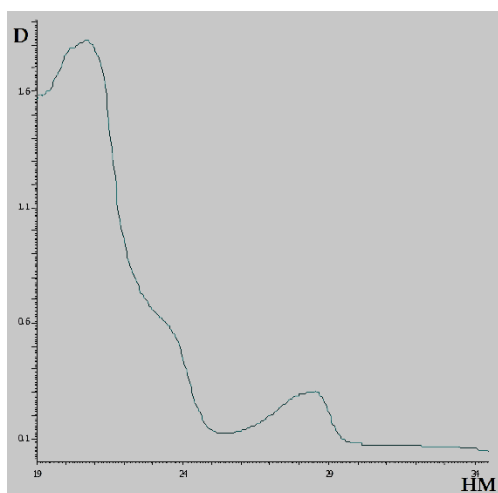


Рисунок 2.1.4. УФ-спектр фракцій біологічно активних речовин екстрактів зразків корневих культур *Symphytum officinale*, отриманих за різних технологічних режимів.

РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

ДФУ (Державна Фармакопея України) містить офіційні вимоги до лікарської рослини *Symphytum officinale* (Живокіст лікарський), її сировини (корінь), хімічного складу та контролю якості.

ДФУ описані методи заготовки сировини, її зберігання та контроль домішок у складі препаратів цієї рослини. Певні вимоги регламентовано до аналізу рослини *Symphytum officinale* L European Union herbal monograph, 31 January 2024 EMA/HMPC/572846/2009 Corr1 Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC) [27, 28].

Матеріали та методи.

Для проведення інструментальних досліджень використовували газовий хроматограф: Agilent 6890A з електронозахоплювальним детектором.

Умови хроматографування:

- колонка – HP-1 (100 % полі диметилсилоксан), 30 м × 0,32 мм × 0,25 мкм; колонка була підключена до переднього електронозахоплювального детектора (ECD);
- газ-носій — Нітроген, подача в режимі постійного потоку 3,9998 мл/хв (початково), з постпрограмним потоком 2,314 мл/хв.

Контроль режиму потоку здійснювався у режимі постійного потоку (constant flow).

Температурна програма хроматографічного аналізу:

- початкова температура: 80 °C (утримання 1 хв),
- нагрівання зі швидкістю 30 °C/хв до 150 °C (утримання 3 хв),
- далі — 4 °C/хв до 280 °C (без утримання),
- кінцева температура: 280 °C,
- температура інжектора — 250 °C.

- інжекція здійснювалась у режимі спліту (split) зі співвідношенням 20:1. Об'єм ін'єкції складав 1 мкл.
- Температура детектора ECD — 290 °C. Детектор працював із потоком макрогазу азоту 30 мл/хв, анодним потоком — 6 мл/хв. Задній детектор FID був вимкнений.
- час хроматографування – 39 хв

Ідентифікацію сполук проводили за часом утримування з порівнянням до стандартів.

Калібрувальний графік будували на основі серії стандартних розчинів.

Обчислення концентрацій виконували за площею піків у хроматограмах.

Пробопідготовка

10,00 г подрібненого та гомогенізованого зразка екстрагували 100 мл ацетону за кімнатної температури протягом 20 хв при інтенсивному перемішуванні. До екстракту додавали 1,00 мл розчину внутрішнього стандарту — карбофенотіону в толуолі (концентрація 1,80 мкг/мл). Суміш гомогенізували, фільтрували під вакуумом, а залишок на фільтрі двічі промивали ацетоном (по 25 мл). Об'єднаний фільтрат концентрували на ротаційному випарнику за температури бані не вище 40 °C до об'єму $\approx 1\text{--}2$ мл, додаючи кілька порцій толуолу (по 2–3 мл) для повного азеотропного видалення ацетону.

Сухий залишок розчиняли в 8 мл толуолу, розчин фільтрували через мембранний ПТФЕ-фільтр 0,45 мкм і доводили толуолом точно до 10,0 мл (розчин А).

Розчин А додатково очищали методом гель-проникної хроматографії (GPC) на колонці з нержавіючої сталі $300 \times 7,8$ мм, заповненій сополімером стирол-дивінілбензолу (частинки 5 мкм).

Елюент — толуол, швидкість потоку 1,0 мл/хв. Збирали фракцію 8,5–10,9 мл, що містила цільові хлорорганічні сполуки та внутрішній стандарт (*розчин В*). При необхідності розчин В упарювали під струменем азоту й доводили толуолом до потрібного об'єму перед ГХ-аналізом.

При проведенні комп'ютерного аналізу використовували програму OpenLab CDS.

Для проведення досліджень методом ВЕРХ використовували реактиви:

- ацетон (чистоти для ВЕРХ),
- толуол (чистоти для ВЕРХ).

Результати та їх обговорення.

Використовували стандартні зразки пестицидів (концентрація, наважка):

№	Назва	Стандарт №	Концентрація, % (Р)	Наважка (m_0)
1	Метамідофос	S20-383	98,1	5,16
2	Дихлорфос (ДДВФ)	S20-094	100,0	0,300
3	Ацефат	S20-402	99,6	4,59
4	Метакрифос	S20-380	96,1	0,48
5	Азинфос-етил	S20-401	99,1	5,6
6	Монокротофос-етил	S20-370	100	3,56
7	Базудин (діазинон)	S20-091	100	0,300
8	Хлорпірифос-метил	S20-394	99	20,2
9	Пассо (Алахлор)	S20-100	99,6	0,3
10	Фенхлорфос	S20-391	99,7	5,24
11	Фенітротіон	S20-346	95,5	5,1
12	Дихлорфлюанід	S20-393	99,8	4,8
13	Карбофос (малатіон)	S20-098	100,0	0,30
14	Паратіон	S20-349	99,6	1,23
15	Квіналфос	S20-345	99,8	4,84
16	Бромфос-метил	S20-398	99,6	0,89
17	Стомп	S20-395	99	0,3
18	Пиримифос-етил	S20-346	96,3	2,35
19	Хлорпірифос-етил	S20-395	99	6,2
20	Метидатіон	S20-378	96,3	5,6
21	Бромфос-етил	S20-399	97,3	0,12
22	Етон	S20-392	96,9	3,78
23	Фосмет	S20-347	99,8	1,3

24	Бромпропілат (Неорон)	S21-232	100,0	0,3
25	Азинфос-метил	S20-400	98,7	1,59
26	Фозалон	S21-235	100	0,3
27	λ-цигалотрин	S21-227	100	0,3
28	Мірекс	S20-368	98,6	5,88
29	Бульбок (бета-цифлутрин)	S23-220	100	0,3
30	Флюцитринат	S20-382	97,3	4,9
31	Процимідон	S20-352	99,7	19,6
32	Хлорфенвінфос	20-396	97,2	20,2
33	Флувалінат	23-226	100	0,2
34	Хлордан	20-397	100	0,3
35	Мекарбам	20-381	98,5	1,9
36	Вінклозолін	S20-351	99,6	5,01
37	Карбофенотіон	S19-254	98,7	5,19
38	Фенпропатрин	S23-379	99,20	5,04
39	Хлортал-диметил	S20-272	99,61	5,18
40	Текназен	S23-276	99,80	1,36
41	S421	S23-247	98,80	5,25
42	Квінтоцен	S23-250	94,84	6,16
43	Фентіон	S23-250	96,19	5,46
44	Профенфос	S23-248	99,00	5,82
45	Фенсульфотіон	S23-350	97,10	1,37
46	Тетрадифон	S20-369	99,20	3,75
47	Параксон етил	S23-251	98,30	3,25
48	Фонофос	S23-274	98,00	9,12

Отримані хроматограми представлено на рисунках 3.1-3.3.

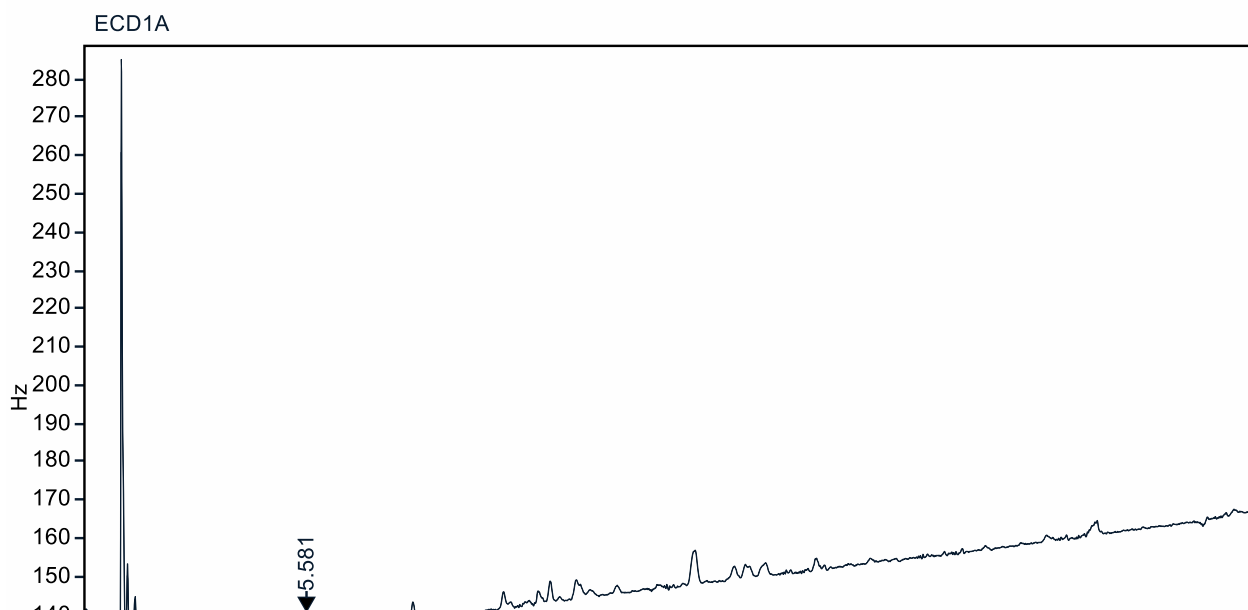


Рисунок 3.1. Хроматограма бланку.

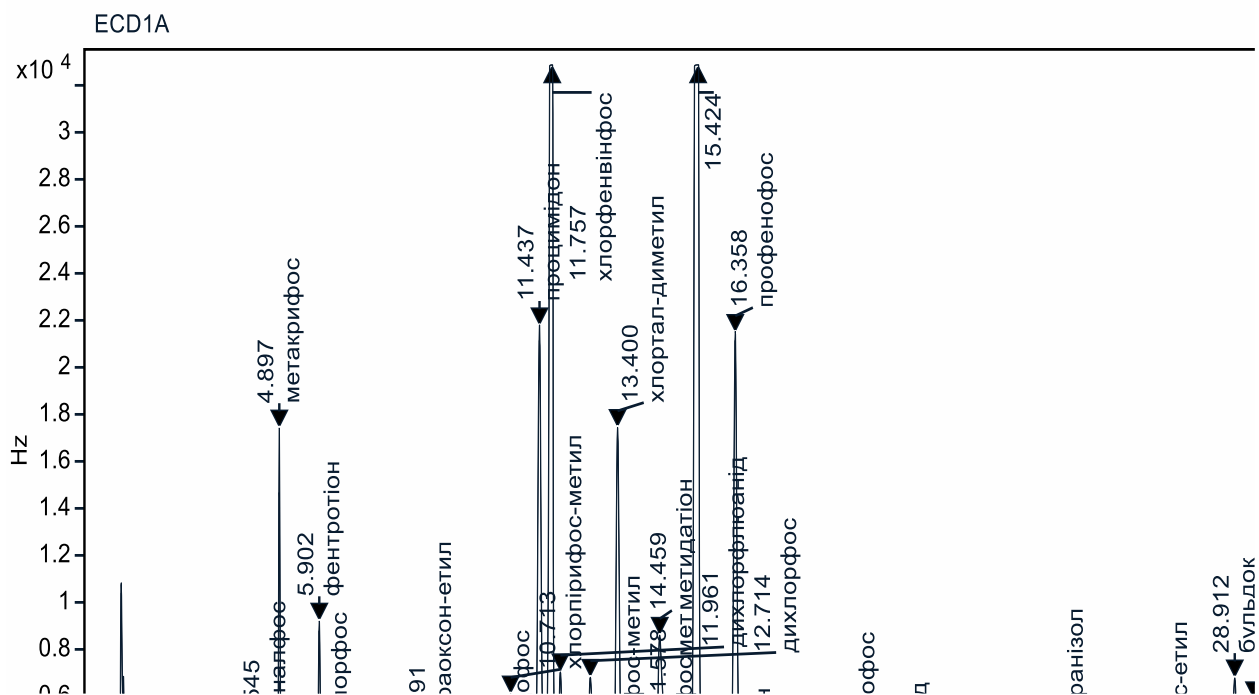


Рисунок 3.2. Хроматограма стандарту.

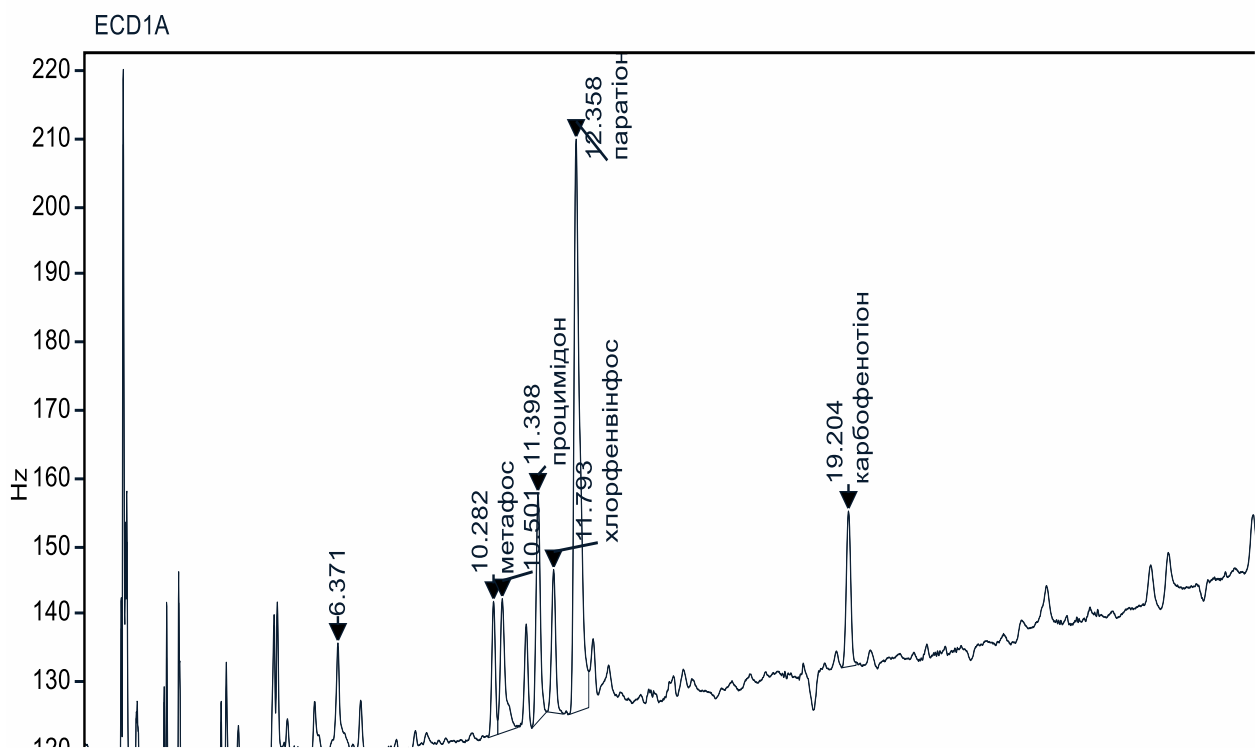


Рисунок 3.3. Хроматограма випробовуваного зразку.

Отримані результати представлено на рисунках 3.4, 3.5.

ацефат																	
4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
Живокіст																	
с-етил	метафос		хлорпірифос-метил		вінкозолін		алахлор		процимідон		фосмет		хлорфеноінфос				
Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	
-	10,281	121,883	-	-	-	-	-	-	-	11,401	269,304	-	-	11,794	168,682	-	-
-	10,282	123,908	-	-	-	-	-	-	-	11,398	247,910	-	-	11,793	150,955	-	-
-	10,285	122,183	-	-	-	-	-	-	-	11,408	263,312	-	-	11,795	158,501	-	-
-	10,283	122,658	-	-	-	-	-	-	-	11,402	260,175	-	-	11,794	159,379	-	-
Живокіст																	
бюланід	дихлорфос		хлортал-диметил		стомп		мекарбам		метидатіон		кельтан		профенофос				
Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Живокіст																	
іон	фенсульфатіон		карбофенотіон		тетрадіфон		метоксихлор		бромпропілат		фенпропатрин		азинфос-метил				
Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	
-	-	-	19,209	182,122	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	19,204	179,271	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	19,208	179,160	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	19,207	180,184	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Живокіст																	
валон	мірекс		азинфос-етил		лямбда-цигалотрин		бульдок		флуцитринат		флувалінат-1		флувалінат-2				
Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Рисунок 3.4. Результати: виявлено пестициди: Метафос Rt = 10.283 хв, Процимідон Rt = 11.402 хв, Хлорфенвінфос Rt = 11.794 хв.

Живокіст																
s421		фенхлорфос		ацефат		квіналфос		метакрифос		метамідофос		піриміфос-метил		фентроп		
RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Живокіст																
квінтозен		текнацен		монокротофос		фосфамід		фентіон		параоксон-етил		пентахлоранізол		діазінон		
RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Живокіст																
прометіфос-етил		метафос		хлорпіріфос-метил		вінкозолін		алахлор		процимідон		фосмет		хлорфенвін		
RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	
-	-	10,281	121,883	-	-	-	-	-	-	11,401	269,304	-	-	11,794	168	
-	-	10,282	123,908	-	-	-	-	-	-	11,398	247,910	-	-	11,793	150	
-	-	10,285	122,183	-	-	-	-	-	-	11,408	263,312	-	-	11,795	158	
-	-	10,283	122,658	-	-	-	-	-	-	11,402	260,175	-	-	11,794	159	
Живокіст																
дихлорфлюанід		дихлорфос		хлортал-диметил		стомп		мекарбам		метидатіон		кельтан		профенофос		
RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Живокіст																

Рисунок 3.5. Результати: виявлено пестициди: Хлорфенвінфос Rt = 11.794 хв, Карбофенотіон Rt = 19.207 хв.

Формула розрахунку:

$$X = \frac{S}{S_0} \times \frac{m_0}{25} \times \frac{1}{20} \times \frac{1,8}{m_s} \times \frac{P}{100} \times 1000$$

де:

S – площа піка пестицида в зразку;

S_0 – площа піку пестициду в стандарті;

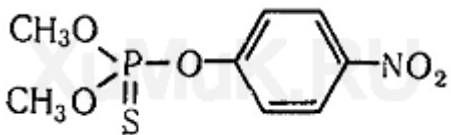
m_0 – наважка стандарту;

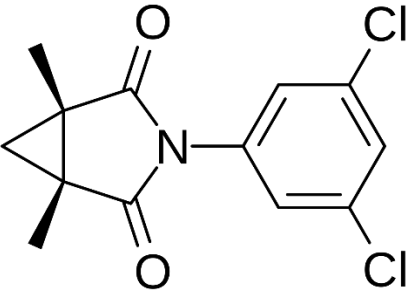
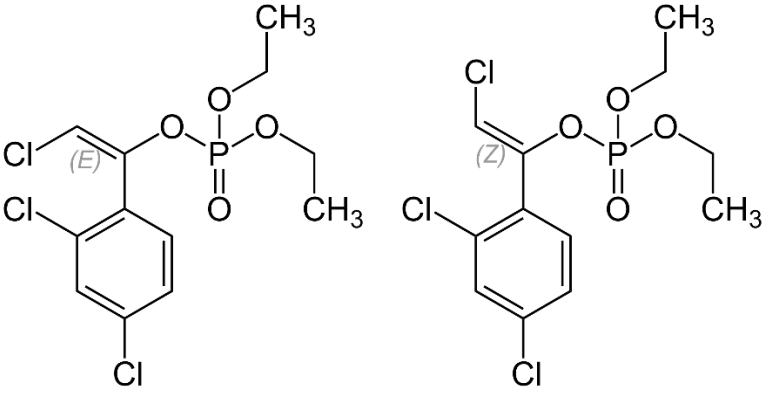
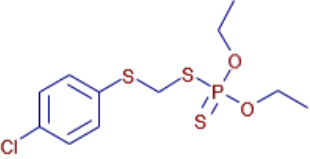
m_s – наважка зразку

Живокіст

Пестицид	S	S ₀	m ₀	m _s	Розрахункова концентрація, мг/кг
метафос	122,658	593,321	3,25	5,3	0,45499991
процімідон	260,175	149884,724	19,6	5,3	0,02304019
хлорфенвінфос	159,379	249200,447	20,2	5,3	0,00877527

В результаті проведених досліджень встановлено, що в наданій на дослідження сировині лікарської рослини *Symphytum officinale* (Живокіст лікарський) методом ГХ виявлено 4 пестициди: Метафос Rt = 10.283 хв, Процимідон Rt = 11.402 хв, Хлорфенвінфос Rt = 11.794 хв, Карбофенотіон Rt = 19.207 хв. Розраховано їх кількісний вміст.

Пестицид	Рослинна сировина Живокіст лікарський (зразки із Волинського Полісся) МДЗ (ЄС), мг/кг
Метафос 	ГХ: Rt = 10.283 хв Розрахункова концентрація (мг/кг): 0,45499991 МДЗ (ЄС), мг/кг: 0.01
Процимідон	ГР: Rt = 11.402 хв

	<i>Розрахункова</i> <i>концентрація (мг/кг):</i> 0,02304019 МДЗ (ЄС), мг/кг: 0.01-0.05
Хлорфенвінфос 	<i>ГХ:</i> Rt = 11.794 хв <i>Розрахункова</i> <i>концентрація (мг/кг):</i> 0,00877527 МДЗ (ЄС), мг/кг: 0.01-0.05
Карбофенотіон (Carbophenothion) – це високотоксичний інсектицид, який належить до І класу небезпеки 	<i>ГХ:</i> Rt = 19.207 хв МДЗ (ЄС), мг/кг: 0.01

ВИСНОВКИ

1. Адаптовано методики пробопідготовки, умови хроматографічного досліджень випробовуваних об'єктів рослинного походження - Живокост лікарський.
2. В результаті проведених досліджень методом газової хроматографії встановлено, що в наданій на дослідження сировині Живокісту лікарського виявлено 4 пестициди: Метафос $R_t = 10.283$ хв, Процимідон $R_t = 11.402$ хв, Хлорфенвінфос $R_t = 11.794$ хв, Карбофенотіон $R_t = 19.207$ хв.
3. Розраховано, що допустима концентрація пестицидів Метафос, Процимідон, Хлорфенвінфос, Карбофенотіон перевищена у випробовуваних зразках у 2-8 рази у порівнянні із МДЗ (за законодавством ЄС), мг/кг: 0.01.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Francis-Baker, Tiffany (2021). *Concise Foraging Guide*. The Wildlife Trusts. London: Bloomsbury. p. 88. ISBN 978-1-4729-8474-6.
2. Čabarkapa, I.; Čolović, R.; Đuragić, O.; Popović, S.; Kokić, B.; Milanov, D.; Pezo, L. Anti-biofilm activities of essential oils rich in carvacrol and thymol against *Salmonella Enteritidis*. *Biofouling*, 2019, 35, 361–375.
3. Liu, F.; Jin, P.; Gong, H.; Sun, Z.; Du, L.; Wang, D. Antibacterial and antibiofilm activities of thyme oil against foodborne multiple antibiotics-resistant *Enterococcus faecalis*. *Poult. Sci. J*, 2020, 99, 5127–5136.
4. Hong Wu, H.; Moser, C.; Wang, H.Z.; Høiby, N.; Song, Z.J. Strategies for combating bacterial biofilm infections. *Int. J. Oral. Sci.* 2014, 7, 1–7.
5. Verderosa, A.D.; Totsika, M.; Fairfull-Smith, K.E. Bacterial biofilm eradication agents: A current review. *Front. Chem.* 2019, 7, 824.
6. Avila C, Breakspear I, Hawrelak J, Salmond S, Evans S (2020) A systematic review and quality assessment of case reports of adverse events for borage (*Borago officinalis*), coltsfoot (*Tussilago farfara*) and comfrey (*Symphytum officinale*). *Fitoterapia* 142:104519.
7. Bagheri Z, Azizi A, Oshvandi K, Mohammadi Y, Larki-Harchegani A (2021) The effect of comfrey on enoxaparin-induced bruise in patients with acute coronary syndrome: a randomised clinical trial. *J Pharmacopuncture* 24:196–205.
8. Barbakadze V, Merlani M, Gogilashvili L, Amiranashvili L, Petrou A, Geronikaki A, Ćirić A, Glamočlija J, Soković M (2023) Antimicrobial activity of catechol-containing biopolymer poly [3-(3, 4-dihydroxyphenyl) glyceric acid] from different medicinal plants of Boraginaceae family. *Antibiotics* 12:285.
9. Cao Z, Guo Y, Liu Z, Zhang H, Zhou H, Shang H (2022) Ultrasonic enzyme-assisted extraction of comfrey (*Symphytum officinale* L.) polysaccharides and

- their digestion and fermentation behaviors *in vitro*. *Process Biochem* 112:98–111.
- 10.D’Urso G, Masullo M, Seigner J, Holper-Schichl YM, de Martin R, Plaza A, Piacente S (2020) LC–ESI–FT–MSn metabolite profiling of *Symphytum officinale* L. roots leads to isolation of comfrey A, an unusual aryl-naphthalene lignan. *Int J Mol Sci* 21:4671.
 - 11.Dähnhardt D, Dähnhardt-Pfeiffer S, Groeber-Becker F, Fölster-Holst R, Schmidt M (2020) Epidermal regeneration induced by comfrey extract: a study by light and electron microscopy. *Skin Pharmacol Physiol* 33:189–197.
 - 12.Dey D, Jingar P, Agrawal S, Shrivastava V, Bhattacharya A, Manhas J, Garg B, Ansari M, Mridha A, Sreenivas V (2020) *Symphytum officinale* augments osteogenesis in human bone marrow-derived mesenchymal stem cells in vitro as they differentiate into osteoblasts. *J Ethnopharmacol* 248:112329.
 - 13.Dinica RM, Sandu C, Dediu Botezatu AV, Cazanevscaia Busuioc A, Balanescu F, Ionica Mihaila MD, Dumitru CN, Furdui B, Iancu AV (2021) Allantoin from valuable Romanian animal and plant sources with promising anti-inflammatory activity as a nutricosmetic ingredient. *Sustainability* 13:10170.
 - 14.Dresler S, Ziemlewska A, Nizioł-Łukaszewska Z, Zagórska-Dziok M, Bujak T, Skic K, Feldo M, Hanaka A, Wójciak M, Sowa I (2023) A design-of-experiment approach for obtaining *Symphytum officinale* L. extracts for cosmetic purposes. *Ind Crops Prod* 199:116768.
 - 15.EMA (2021) Public statement on the use of herbal medicinal products containing toxic, unsaturated pyrrolizidine alkaloids (PAs), including recommendations regarding contamination of herbal medicinal products with PAs. <https://www.ema.europa.eu>. Accessed 4 Nov 2023.
 - 16.Hasan N, Mun’im A, Hayun H (2022) Application of Ionic liquids based microwave-assisted extraction to bioactive compounds comfrey (*Symphytum officinale* L.) leaves. *J Aisyah: Jurnal Ilmu Kesehatan* 7:39–46.

- 17.Kaplan A (2021) GC-MS profiling, antioxidant, antimicrobial activities, DNA cleavage effect of *Symphytum aintabicum* Hub.-Mor. & Wickens (Boraginaceae) and its anticancer activity on MCF-7 cell line. Turk J Bot 45:750–764.
- 18.Kılınç H, D’Urso G, Paolillo A, Alankus O, Piacente S, Masullo M (2023) LC-MS and NMR based plant metabolomics: a comprehensive phytochemical investigation of *Symphytum anatolicum*. Metabolites 13:1051.
- 19.Kimel K, Krauze-Baranowska M (2021) The efficacy and safety of *Symphytum officinale* L. root—a review of literature data. Postępy Fitoterapii 1:23–31.
- 20.Kimel K, Zienkiewicz M, Sparzak-Stefanowska B, Krauze-Baranowska M (2020) TLC-densitometric analysis of allantoin in *Symphytum officinale* L. roots. Acta Pharm 70:101–110.
- 21.Kimel K, Godlewska S, Gleńsk M, Gobis K, Ośko J, Grembecka M, Krauze-Baranowska M (2023) LC-MS/MS Evaluation of pyrrolizidine alkaloids profile in relation to safety of comfrey roots and leaves from polish sources. Molecules 28:6171.
- 22.Kopp T, Salzer L, Abdel-Tawab M, Mizaikoff B (2020) Efficient extraction of pyrrolizidine alkaloids from plants by pressurised liquid extraction—a preliminary study. Planta Med 86:85–90.
- 23.Kostiuk I, Kostiuk V, Kimak H, Ohtsuyuk Y, Tarnavska L (2021) Experimental study the anti-inflammatory and osteo-regenerative qualities of the paste based on *Symphytum officinale* tincture and calcium hydroxide. Pharmacia 68:585–590.
- 24.Kuchta K, Schmidt M (2020) Safety of medicinal comfrey cream preparations (*Symphytum officinale* L.): the pyrrolizidine alkaloid lycopsamine is poorly absorbed through human skin. Regul Toxicol Pharmacol 118:104784.

25. Le V, Dolganyuk V, Sukhikh A, Babich O, Ivanova S, Prosekov A, Dyshlyuk L (2021) Phytochemical analysis of *Symphytum officinale* root culture extract. *Applied Sci* 11:4478.
26. Lou K-H, Tsai M-S, Wu J-Y (2023) Investigating the microwave-assisted extraction conditions and antioxidative and anti-inflammatory capacities of *Symphytum officinale* L. leaves. *Processes* 11:2750.
27. Державна Фармакопея України. 2-ге вид., у 3-х т. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Х.: Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів. 2014. Т. 2.
28. European Pharmacopoeia. Council of Europe, Strasbourg, 11-th ed., 2022. V.1: 1343-1785.

SUMMARY

Lahoda Anhelina

DETERMINATION OF PESTICIDES IN THE COMPOSITION OF PLANTS RAW MATERIALS OF COMFREY (*Symphytum officinale*) BY GAS CHROMATOGRAPHY

The department of medicinal chemistry and toxicology

Scientific supervisor: professor, doctor of pharm. sciences Welchinska O.V.

Keywords: pesticides, composition of plant, raw materials, comfrey, *Symphytum officinale*, GC, drugs.

Introduction. Comfrey (*Symphytum officinale*) is a herbaceous plant. It is traditionally used in medicine due to its anti-inflammatory and regenerative properties. Its internal use is extremely dangerous due to toxicity. Comfrey contains allantoin, a substance that stimulates cell growth and helps restore damaged tissues. Comfrey preparations (*Symphytum officinale*) are used for: - wound and injury healing: accelerating the healing of wounds, cuts, bruises, tendon sprains, closed bone fractures, - analgesic and anti-inflammatory effect: for pain in the joints, back, lower back, radiculitis, osteochondrosis, arthritis, for muscle pain.

Materials and methods. Objects of research are raw materials of Comfrey (*Symphytum officinale*), standards of pesticides. Research subject: development of conditions for GC study of chemical-toxicological analysis of the raw materials of Comfrey (*Symphytum officinale*). Methods: Agilent 6890A with electron capture detector. Column – HP-1 (100% polydimethylsiloxane), 30 m × 0.32 mm × 0.25 µm; the column was connected to a front electron capture detector (ECD). Carrier gas – nitrogen, supplied at a constant flow rate of 3.9998 mL/min (initial), with a post-program flow rate of 2.314 mL/min. OpenLab CDS program.

Results. The methods of sample preparation and conditions of chromatographic studies of the tested objects of plant origin - Comfrey medicinal have been adapted. As a result of the research conducted using the gas chromatography method, it was established that 4 pesticides were detected in the Comfrey raw material provided for research by the GC method: Metaphos $R_t = 10.283$ min, Procymidon $R_t = 11.402$ min, Chlorfenvinphos $R_t = 11.794$ min, Carbophenothion $R_t = 19.207$ min.

Conclusions. It was calculated that the permissible concentration of pesticides Metaphos, Procymidon, Chlorfenvinphos, Carbophenothion was exceeded in the tested samples by 2-8 times compared to the MRL (according to EU legislation), mg/kg: 0.01.

ДОДАТОК 1

Публікації, участь у роботі конференцій, симпозіумів.



Ректор Національного медичного університету
імені О. О. Богомольця, д. м. н., професор

В. о. завідувача кафедри фармакогнозії та ботаніки,
д. фарм. н., професор



Юрій КУЧИН

Уляна КАРПІЮК