УДК: 615.322:615.015.35:582.998 https://doi.org/10.24959/ubphj.21.295

Л. М. Малоштан, Л. О. Шакіна, Т. М. Гонтова, С. В. Романова, М. С. Яременко
Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України

Дослідження цитотоксичної активності сухого екстракту та антоціанового комплексу квіток жоржини сорту Gebu

Актуальність. Пошук перспективних рослин з високим вмістом антоціанів для створення безпечних рослинних лікарських засобів є актуальною проблемою сучасної науки.

Метою роботи було дослідження наявності і вираженості цитотоксичної активності сухого екстракту з квіток жоржини сорту Gebu, якісний аналіз і визначення кількісного вмісту суми антоціанів у квітках зазначеного сорту.

Матеріали та методи. Для дослідження отримано сухий екстракт з квітів сорту Gebu. Аналіз цитотоксичності 1 %; 0,5 %; 0,25 %; 0,125 %; 0,0625 % розчинів екстракту проведено методом мікроскопії на клітинах червоного кісткового мозку щурів (ЧКМ) за експозиції 15, 45, 90 хв. Для оцінювання кількісного та якісного вмісту суми антоціанів застосовано спектрофотометричне дослідження та метод високоефективної рідинної хроматографії.

Результати та їх обговорення. Отримані результати свідчать про те, що на життєздатність клітин ЧКМ впливають концентрація екстракту та експозиція: у концентраціях 0,063-0,125 % не виявлено токсичного впливу екстракту, тоді як 0,25-1 % розчини здатні проявляти цитостатичні властивості. Визначено вміст суми антоціанів у квітках жоржини сорту Gebu (1,8 % ± 0,02) та ідентифіковано 18 речовин, серед яких переважали речовини з груп ціанідину (54,7 %) та дельфінідину (28 %).

Висновки. Проведено перший етап тестування сухого екстракту з квіток жоржини сорту Gebu на потенційну токсичність – у найменших з вивчених концентрацій екстракт є потенційно нетоксичним. Уперше визначено вміст суми антоціанів у квітках жоржини сорту Gebu, ідентифіковано 18 речовин з груп дельфінідину, ціанідину, петунідину, пеонідину, мальвідину.

Ключові слова: *цитотоксична дія; спектрофотометрія; жоржина; квітки; сухий екстракт; антоціани*

L. Maloshtan, L. Shakina, T. Gontova, S. Romanova, M. Yaremenko
National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine

The study of the cytotoxic activity of the dry extract and the anthocyanin complex of Gebu Dahlia variety flowers

Topicality. For today, the search for promising plants with a high content of anthocyanins to create safe herbal medicines is an urgent problem of modern science.

Aim. To study the presence and severity of the cytotoxic activity of the dry extract of Gebu Dahlia variety flowers, the qualitative analysis and quantify the amount of anthocyanins in flowers of this variety.

Materials and methods. For the study, the dry extract of Gebu flowers was obtained. The cytotoxicity analysis of 1 %; 0.5 %; 0.25 %; 0.125 %; 0.0625 % solutions of the extract were performed by microscopy on red bone marrow (RBM) cells of rats at an exposure of 15, 45, 90 minutes. The spectrophotometric study and high-performance liquid chromatography were used to assess the quantitative and qualitative content of the amount of anthocyanins.

Results and discussion. The results obtained indicate that the viability of RBM cells is affected by the concentration of the extract and exposure: in the concentrations of 0.063-0.125 % no toxic effect of the extract was detected, while 0.25-1 % solutions were able to show cytostatic properties. The content of anthocyanin amount in the flowers was determined (1.8 % ± 0.02); 18 substances were identified, among them substances from the groups of cyanidin (54.7 %) and delphinidin (28 %) predominated.

Conclusions. The first stage of testing of the dry extract from Gebu Dahlia variety flowers for potential toxicity has been carried out: the extract is potentially non-toxic in the lowest of the concentrations studied. For the first time, the content of anthocyanins in flowers of Gebu Dahlia variety has been determined, 18 substances from the groups of delphinidin, cyanidin, petunidine, peonidine, malvidin have been identified.

Key words*: cytotoxic effect; spectrophotometry; dahlia; flowers; dry extract; anthocyanins*

Л. Н. Малоштан, Л. А. Шакина, Т. М. Гонтовая, С. В. Романова, М. С. Яременко
Национальный фармацевтический университет Министерства здравоохранения Украины

Исследование цитотоксической активности сухого экстракта и антоцианового комплекса цветков георгины сорта Gebu

Актуальность. Поиск перспективных растений с высоким содержанием антоцианов для создания безопасных растительных лекарственных средств является актуальной проблемой современной науки.

Целью работы было исследование наличия и выраженности цитотоксической активности сухого экстракта из цветков георгины сорта Gebu, качественный анализ и определение количественного содержания суммы антоцианов в цветках данного сорта**.**

Материалы и методы. Для исследования был получен сухой экстракт из цветов сорта Gebu. Анализ цитотоксичности 1 %; 0,5 %; 0,25 %; 0,125 %; 0,0625 % растворов экстракта проведен методом микроскопии на клетках красного костного мозга крыс (ККМ) при экспозиции 15, 45, 90 мин. Для оценки количественного и качественного содержания суммы антоцианов использовали спектрофотометрический анализ и метод высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Результаты и их обсуждение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что на жизнеспособность клеток ККМ влияют концентрация экстракта и экспозиция: в концентрациях 0,063-0,125 % токсического действия экстракта не обнаружено, тогда как 0,25-1 % растворы способны проявлять цитостатические свойства. Определено содержание суммы антоцианов в цветках георгины сорта Gebu (1,8 % ± 0,02), идентифицировано 18 веществ, среди которых преобладали вещества из групп цианидина (54,7 %) и дельфинидина (28 %).

Выводы. Проведен первый этап тестирования сухого экстракта из цветков георгины сорта Gebu на потенциальную токсичность – в наименьших из изученных концентраций экстракт является потенциально нетоксичным. Впервые определено содержание суммы антоцианов в цветках георгины сорта Gebu, идентифицировано 18 веществ из групп дельфинидина, цианидина, петунидина, пеонидина, мальвидина.

Ключевые слова: *цитотоксическое действие; спектрофотометрия; георгина; цветки; сухой экстракт; антоцианы*

ВСТУП

Антоціани – біологічно активні речовини групи флавоноїдів, що забарвлюють плоди, листя і пелюстки рослин від рожевого до чорно-фіолетового кольору та є необхідними для захисту тканин рослин від надмірної дії ультрафіолетового випромінювання, регуляції антиоксидантної системи, фотосинтетичного апарату [1, 2]. Науковий інтерес до антоціанів стрімко зріс за останні десятиліття з огляду на їхні унікальні властивості та перспективність використання в сучасних біотехнологічних процесах, медицині та фармації. Так, антоціани мають високі антиоксидантні властивості, виявляють антимікробну дію, здатність пригнічувати запальний процес, гальмувати процес апоптозу клітин, пригнічувати розвиток пухлин тощо [2, 3, 4].

На сьогодні пошук перспективних рослин з високим вмістом антоціанів для створення лікарських рослинних засобів на їх основі є актуальною проблемою. Науковий інтерес становлять рослини роду жоржина родини Айстрові (*Asteraceae*) з огляду на літературні дані щодо хімічного складу антоціанів квіток жоржин і відомості про фармакологічні ефекти цих груп речовин. Окрім того, рослини роду жоржина поширені по всьому світу, легко культивуються, а різноманіття сортів дає можливість вибрати найбільш перспективні з погляду сировинної бази і хімічного складу [5].

Необхідною умовою впровадження на ринок нових перспективних лікарських засобів є виявлення їхньої токсичності, що дозволяє оцінити ступінь безпеки ЛЗ. Історично випробування на тваринах лягли в основу таких заходів, однак у всьому світі існує чітка тенденція, зумовлена науковими та етичними обмеженнями, дедалі частіше застосовувати для цього методи без тварин. Добре відомо, що оцінювання базової цитотоксичності *in vitro* є провідним підходом, застосованим у прогнозній токсикології. Базова цитотоксичність є показником здатності досліджуваної хімічної речовини пошкоджувати живі клітини, зокрема шляхом зміни функціональних і структурних характеристик, пов'язаних із загальними клітинними механізмами, необхідними для підтримки найважливіших життєвих функцій. Відповідно до зазначеного підходу, базову цитотоксичність на першому етапі тестування можна оцінити, використовуючи випробування щодо оцінки ключових подій у клітині, одне з яких – пошкодження плазматичної мембрани – є предметом нашого дослідження [6].

Отже, **метою** роботи було дослідження наявності і вираженості цитотоксичної активності сухого екстракту з квіток жоржини сорту Gebu, якісний аналіз і визначення кількісного вмісту суми антоціанів у квітках цього сорту.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для дослідження обрано один із найпоширеніших сортів в Україні – Gebu. Збір сировини проводили у фазі цвітіння на території Національного ботанічного саду імені М. М. Гришка у вересні 2018 року. Зібрану сировину висушували до повітряно-сухого стану за вимогами Державної фармакопеї України [7].

Отримання сухого екстракту. Висушену і просіяну крізь сито сировину тричі екстрагували 50 % етанолом, отримані витяжки фільтрували, об'єднували й упарювали у вакуум-випарювальному апараті. Отриманий екстракт сушили за кімнатної температури.

Фармакологічні дослідження. Дослідження цитотоксичності проведено з використанням нативних клітин червоного кісткового мозку (ЧКМ) щурів, переважно представлених клітинами гемопоетичного диферону. Тварин одержано з віварію НФаУ, де їх утримували на стандартному раціоні відповідно до санітарно-гігієнічних вимог. Кістковий мозок виділяли за загальноприйнятим методом [8]. У роботі використовували первинні клітини, що характеризуються певною гетерогенністю порівняно з клітинними лініями. Такий підхід без виділення певних морфотипів клітин кісткового мозку є виправданим з огляду на те, що до загальної цитотоксичності чутливі всі клітини організму незалежно від їх тканинного походження і спеціалізації. Життєздатність клітин кісткового мозку відразу після виділення складала 94-95 %, отримані клітини ресуспендували у фізіологічному розчині до кінцевої концентрації 2,0-2,1 × 10^6 життєздатних клітин на мілілітр. Сухий екстракт із квіток жоржини розчиняли у фізіологічному розчині та змішували з рівним об'ємом клітинної суспензії кісткового мозку щура. Досліджували такі концентрації екстракту: 1 %; 0,5 %; 0,25 %; 0,125 %; 0,0625 %.

Кількісне оцінювання цитотоксичного ефекту зразків проводили шляхом підрахунку життєздатних/нежиттєздатних клітин у камері Горяєва після короткочасного впливу (15, 45 та 90 хвилин інкубації), достатнього для оцінки пошкодження плазматичної мембрани клітин ЧКМ широким спектром фармакологічних препаратів [9, 10]. Результати виражали у відсотках нежиттєздатних клітин від загальної їх кількості. Для визначення життєздатності клітин використовували метод забарвлення 0,1 % розчином трипанового синього. Трипановий синій – кислий аніліновий барвник, що не здатний проникати в клітину через неушкоджену клітинну мембрану та селективно забарвлює мертві клітини з пошкодженою плазмалемою. Як контроль використовували нативні клітини ЧКМ щура в суспензії з фізіологічним розчином. Дію кожної речовини досліджували триразово.

Дослідження складу антоціанів. Попереднє виявлення фенольних речовин проводили у водно-спиртових витяжках з використанням розчинів хлориду заліза(III) і хлориду алюмінію(III) [1, 11].

Спектрофотометричне визначення вмісту антоціанів проводили за допомогою методики, описаної в Державній фармакопеї України 2.0 [7], за формулою:

$$\frac{A \times 5000}{718 \times m},$$

де: А – оптична густина досліджуваного розчину; m – маса наважки сировини.

Вимірювання здійснювали за довжини хвилі 528 ± 2 нм в перерахунку на ціанідин-3-О-глюкозиду хлорид. Аналіз повторювали на 5 серіях сировини. Для досліду використовували спектрофотометр Specord 2000.

Якісний аналіз антоцінів проводили методом ВЕРХ, використовуючи рідинний хроматограф Shimadzu LC20 Prominence (Японія) в модульній системі, спорядженій чотириканальним насосом LC-20AD, термостатом колонок СТО-20А, автоматичним пробовідбірником SIL-20A, діод-матричним детектором SPDM20A і Chem Station LC20, і рідинний хроматограф Agilent Technologies (модель 1200), споряджений вакуумним дегазатором G1379A, автоматичним інжектором G1313A, чотириканальним насосом градієнта низького тиску G13111A, термостатом колонок G1316A, діод-матричним детектором G1316A.

Для градієнтного хроматографування використовували рухливі фази: А – ацетонітрил для ВЕРХ, Б – суміш кислоти оцтової льодяної, ацетонітрилу, трифтороцтової кислоти, води високоочищеної MilliQ (10 : 2 : 0,2 : 87,8). Режим елюювання наведено в табл. 1.

Спектри поглинання, спектральні вимірювання проведено в діапазоні довжини хвиль 200-600 нм з кроком 2 нм, об'єм введеної проби 10 мкл. Розрахунки для визначення кількісного вмісту ідентифікованих антоціанів проводили методом нормалізації, використовуючи формулу:

Таблиця 1

РЕЖИМ ЕЛЮЮВАННЯ ДЛЯ ГРАДІЄНТНОГО ХРОМАТОГРАФУВАННЯ

Час (хв)	Рухома фаза А (%)	Рухома фаза Б (%)
0	0	100
5	0	100
20	20	80
25	40	60
30	0	100
35	0	100

$$X, \% = \frac{\mathrm{Ai}}{\sum \mathrm{An}} \times 100,$$

де: *Ai* – площа піку аноціану, розрахована з хроматограм випробуваного розчину; *An* – сума площ піків пігментів, розрахована з хроматограм випробуваного розчину.

Вміст кожної речовини розраховували від загальної кількості антоціанів [12].

Математичне оброблення отриманих даних проводили методами варіаційної статистики за допомогою програми Statistica 11.0 з визначенням середніх арифметичних значень; помилок середніх арифметичних; достовірності відмінностей між групами порівняння. Відмінності вважали достовірними за $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За відсутності будь-якої попередньої інформації про потенційну токсичність сухого екстракту з квіток жоржини сорту Gebu нами було застосовано загальну схему тестування на цитотоксичність, запропоновану Mathieu Vinken and Bas J. Blaauboer [6], з урахуванням необхідних факторів, пов'язаних з вибором клітинної системи, умов впливу та тесту на цитотоксичність. На першому етапі тестування визначали наявність пошкоджень плазмалеми клітин кісткового мозку щурів.

Результати оцінювання цитотоксичності сухого екстракту з квіток жоржини сорту Gebu в тесті на визначення порушення цілісності плазматичної мембрани клітин ЧКМ щурів в умовах *in vitro* наведено на рис. 1.

Водний розчин сухого екстракту з квіток жоржини в концентрації 1 % викликав збільшення кількості загиблих клітин на 75,00-78,67 % ($p < 0,05$) у всіх досліджуваних експозиціях. Концентрація 0,5 % призводила до збільшення кількості загиблих клітин ЧКМ щурів на 37,70-75,70 % ($p < 0,05$) пропорційно часу впливу екстракту. Концентрація 0,25 % не виявляла цитотоксичного ефекту під час дії на клітини

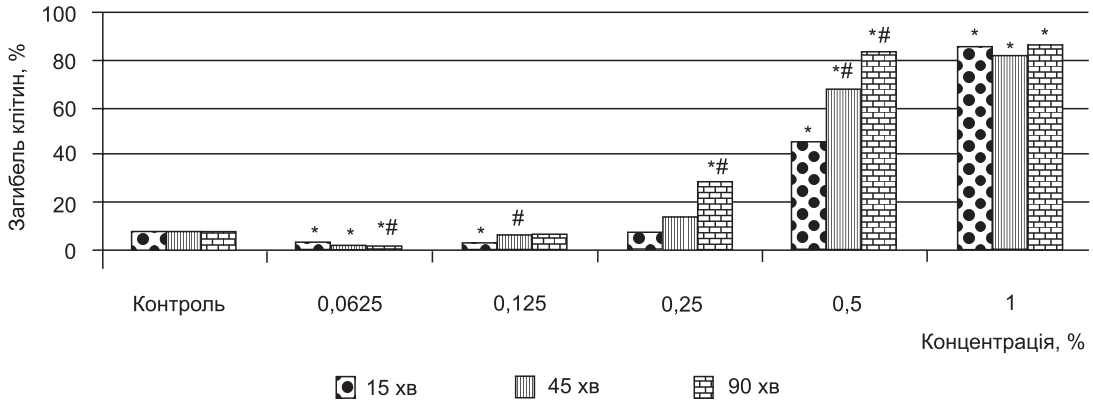

Рис. 1. *Цитотоксичність сухого екстракту з квіток жоржини сорту Gebu, n = 3*

Примітка: 1. * – відмінності, достовірні щодо контролю, p < 0,05; 2. # – відмінності, достовірні між варіантами досліду 15 і 45, 15 і 90 хвилин (залежно від часу інкубації), p < 0,05.

протягом 15 і 45 хвилин, проте мала токсичні властивості за експозиції 90 хвилин. Варто зазначити, що розчин сухого екстракту з квіток жоржини в найменшій з вивчених концентрацій (0,063 %) виявляв цитопротекторну дію, збільшуючи кількість життєздатних клітин на 4,34-6,67 % (p < 0,05) у всіх вивчених експозиціях. Контакт 0,125 % розчину сухого екстракту з квіток жоржини з клітинами ЧКМ протягом 15 хвилин виявляв цитопротекторну дію (викликав зниження кількості загиблих клітин на 4,33 %, p < 0,05) і не чинив достовірно значущого ефекту за тривалості експозиції 45 і 90 хвилин.

Отже, отримані результати свідчать про те, що на життєздатність клітин ЧКМ впливають концентрація досліджуваного екстракту та час його контакту з клітинами (експозиція). У найменших з вивчених концентрацій (0,063-0,125 %) екстракт з квіток жоржини не чинить токсичного впливу, тоді як у концентраціях 0,25-1 % здатен проявляти цитостатичні властивості.

Зважаючи на отримані результати вивчення цитотоксичної активності сухого екстракту з квіток жоржини сорту Gebu, а також літературні дані щодо хімічного складу сировини з квіток жоржини, провели аналіз якісного складу та кількісного вмісту антоціанів у квітках жоржини сорту Gebu.

У результаті проведених якісних реакцій у водно-спиртових витяжках з вищеописаними реактивами в досліджуваних зразках було підтверджено наявність речовин фенольної природи.

Спектрофотометричне дослідження кількісного вмісту суми антоціанів у квітках жоржини сорту Gebu виявило, що їх кількість не перевищувала 1,8 %. УФ-спектр поглинання антоціанів подано на рис. 2.

Проведений ВЕРХ-аналіз виявив наявність у досліджуваній сировині 18 антоціанів, що представлені

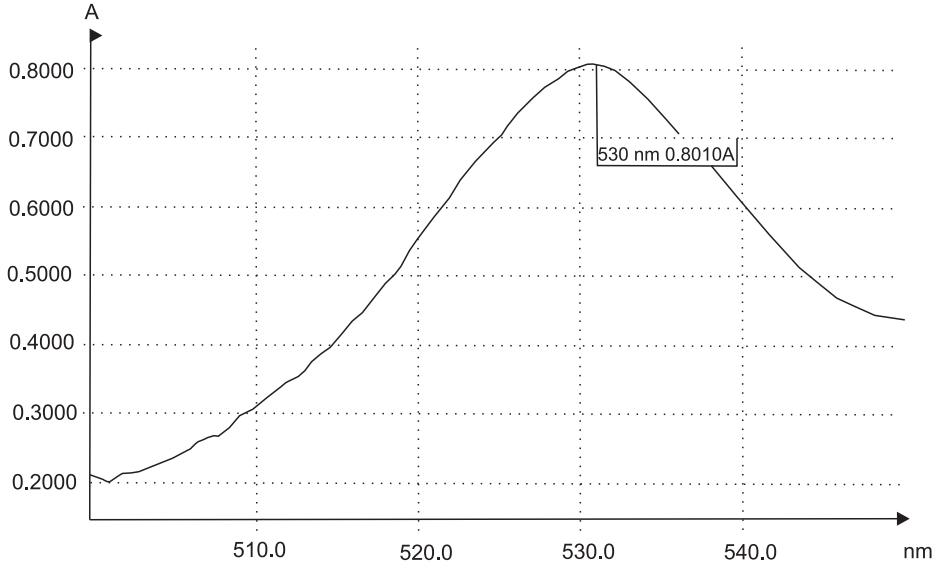

Рис. 2. *УФ-спектр поглинання антоціанів квіток жоржини сорту Gebu*

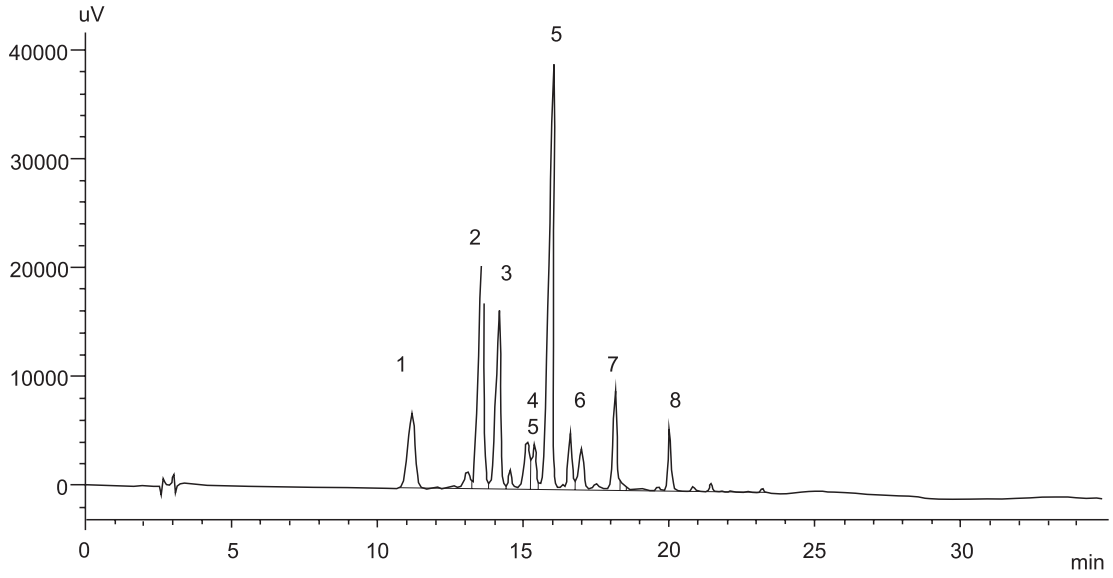

Рис. 3. *ВЕРХ-хроматограма квіток жоржини сорту Gebu: 1 – дельфінідин-3-О-галактозид; 2 – ціанідин-3-О-галактозид; 3 – дельфінідин-3-О-арабінозид; 4 – петунідин-3-О-глюкозид; 5 – ціанідин-3-О-арабінозид; 6 – пеонідин-3-О-галактозид; 7 – дельфінідин-3-О-ксилозид; 8 – мальвідин-3-О-глюкозид*

похідними груп дельфінідину, ціанідину, петунідину, пеонідину, мальвідину. Хроматографічний профіль антоціанів квіток сорту Gebu подано на рис. 3.

У результаті ВЕРХ-аналізу визначено, що домінувальною групою речовин є похідні ціанідину – 54,7 %, у 2 рази менше накопичувалися похідні дельфінідину – 28 %. З літературних джерел відомо, що речовини цих груп антоціанів мають найбільшу антиоксидантну, протизапальну й антимутагенну активності [8]. Також дослідження засвідчили, що антоціани групи ціанідину проявляють цитотоксичну активність [6, 8]. Зокрема, було досліджено цитотоксичну активність ціанідин-3-О-галактозиду, що є домінувальною речовиною в квітках жоржини (20,60 %). Також у значних кількостях накопичувався ціанідин-3-О-арабінозид (30,19 %). Серед антоціанів групи дельфінідину домінував дельфінідин-3-О-арабінозид (13,38 %). Дельфінідин-3-О-галактозид містився в кількості 8,40 %, дельфінідин-3-О-ксилозид – в 1,4 раза менше (6,17 %). З огляду на літературні дані щодо фармакологічної дії антоціанів груп дельфінідину й ціанідину дослідження цитотоксичної активності є актуальним завданням.

Загальна кількість похідних петунідину склала 7,37 %, пеонідину й мальвідину – 4,09 і 3,75 % відповідно. Із них найбільший вміст петунідин-3-О-глюкозиду – 4,13 %, пеонідин-3-О-галактозиду – 3,48 %, а вміст мальвідин-3-О-глюкозиду й петунідин-3-О-арабінозиду був однаковим – 3,05 і 3,01 % відповідно. Вміст інших речовин коливався від 0,09 до 2,64 % (табл. 2).

Таблиця 2

РЕЗУЛЬТАТИ ВИВЧЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ АНТОЦІАНІВ КВІТОК ЖОРЖИН СОРТУ GEBU

№ з/п	Назва речовини	Час утримання, хв	Вміст, %
1.	Дельфінідин-3-*О*-галактозид	11,10	8,40
2.	Дельфінідин-3-*О*-глюкозид	12,59	0,11
3.	Дельфінідин-3-*О*-арабінозид	14,04	13,38
4.	Дельфінідин-3-*О*-ксилозид	18,09	6,17
5.	Ціанідин-3-*О*-галактозид	13,43	20,60
6.	Ціанідин-3-*О*-глюкозид	14,48	1,05
7.	Ціанідин-3-*О*-арабінозид	15,82	30,19
8.	Ціанідин-3-*О*-рутинозид	15,23	2,64
9.	Ціанідин-3-*О*-ксилозид	19,61	0,22
10.	Петунідин-3-*О*-глюкозид	15,12	4,13
11.	Петунідин-3-*О*-арабінозид	16,96	3,01
12.	Петунідин-3-*О*-рутинозид	16,32	0,23
13.	Пеонідин-3-*О*-галактозид	16,54	3,48
14.	Пеонідин-3-*О*-глюкозид	17,48	0,52
15.	Пеонідин-3-*О*-арабінозид	18,98	0,09
16.	Мальвідин-3-*О*-галактозид	18,17	0,46
17.	Мальвідин-3-*О*-глюкозид	20,00	3,05
18.	Мальвідин-3-*О*-арабінозид	21,43	0,24
Сума ідентифікованих антоціанів від загальної кількості			97,97

ВИСНОВКИ

Проведено перший етап тестування сухого екстракту з квіток жоржини сорту Gebu на потенційну токсичність. Отримані результати свідчать про те, що на життєздатність клітин ЧКМ впливають концентрація досліджуваного екстракту та час його контакту з клітинами (експозиція). Водний розчин сухого екстракту з квіток жоржини був не токсичним та виявляв цитопротекторну дію в концентрації 0,063 % у всіх вивчених експозиціях ($p < 0,05$). Так само, контакт 0,125 % розчину сухого екстракту з клітинами ЧКМ протягом 15 хвилин викликав зниження кількості загиблих клітин і не чинив достовірно значущого токсичного ефекту за тривалості експозиції 45 і 90 хв.

Уперше визначено та проаналізовано вміст суми антоціанів у квітках жоржини сорту Gebu (1,8 % ± 0,02). Методом ВЕРХ було виявлено та ідентифіковано 18 речовин, серед яких речовини з груп дельфінідину, ціанідину, петунідину, пеонідину, мальвідину. Переважальними були речовини з групи ціанідину (54,7 %), у два рази менше накопичувалися похідні дельфінідину (28 %). Загальна кількість похідних петунідину склала 7,37 %, пеонідину й мальвідину – 4,09 та 3,75 % відповідно.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Барчук О. З., Вронська Л. В. Визначення вмісту біологічно активних речовин в екстрактах листя чорниці звичайної. *Фармацевтичний часопис*. 2012. № 1. С. 60–63. DOI: https://doi.org/10.11603/2312-0967.2012.1.2570.
2. Motohashi N. Anthocyanins: Structure, Biosynthesis and Health Benefits. Nova Science Publishers, 2013. 325 p.
3. Шестерин В. И., Севодин В. П. Изучение состава антоцианов винограда. *Химия растительного сырья*. 2013. № 3. С. 177–180. DOI: https://doi.org/10.14258/jcprm.1303177.
4. Antioxidant activities of chokeberry extracts and the cytotoxic action of their anthocyanin fraction on HeLa human cervical tumor cells / D. Rugină et al. *Journal of medicinal food*. 2012. Vol. 15, Iss. 8. P. 700–706. DOI: https://doi.org/10.1089/jmf.2011.0246.
5. The Allium micronucleus (MNC) assay may be used to distinguish clastogens from aneugens / N. M. Reddy et al. *Biol. Zent. bl*. 1995. Vol. 114. P. 358–368.
6. Vinken M., Blaauboer B. J. In vitro testing of basal cytotoxicity: establishment of an adverse outcome pathway from chemical insult to cell death. *Toxicol In Vitro.* 2017. Vol. 39. P. 104–110. DOI: https://doi.org/10.1016/j.tiv.2016.12.004.
7. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 3. 732 с.
8. Meirelles L. Da S., Nardi N. B. Murine marrow-derived mesenchymal stem cell: isolation, in vitro expansion, and characterization. *British Journal of Haematology.* 2003. Vol. 123, Iss. 4. P. 702–711. DOI: https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2003.04669.x.
9. Коррекция производными глюкозамина дестабилизирующего влияния доксорубицина на клетки костного мозга крыс в опытах «in vitro» / И. А. Зупанец и др. *Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация.* 2014. № 3. С. 128–132. URL: http://www.vestnik.vsu.ru/pdf/chembio/2014/03/2014-03-24.pdf.
10. Валідація методики визначення впливу дестабілізуючих чинників на моделі кісткового мозку щурів / В. Є. Доброва и др. *Клінічна фармація*. 2011. Т. 15, № 2. С. 18–21.
11. Study of the component composition of phenolic compounds obtained from Dahlia varieties Ken's Flame herb / T. N. Gontova et al. *Der Pharma Chemica*. 2016. Vol. 8. Iss. 18. P. 455–459.
12. Anthocyanins Inhibit Nuclear Factor-kB Activation in Monocytes and Reduce Plasma Concentrations of Pro-Inflammatory Mediators in Healthy Adults / A. Karlsen et al. *The Journal of Nutrition*. 2007. Vol. 137, Iss. 8. P. 1951–1954. DOI: https://doi.org/10.1093/jn/137.8.1951.
13. Effect of cyaniding-3-glucoside and an anthocyanin mixture from bilberry on adenoma development in the ApcMin mouse model of intestinal carcinogenesis-Relationship with tissue anthocyanin levels / D. Cooke et al. *International journal of cancer*. 2006. Vol. 119, Iss. 9. P. 2213–2220. DOI: https://doi.org/10.1002/ijc.22090.
14. Cyanidin-3-O-galactoside in ripe pistachio (Pistachia vera L. variety Bronte) hulls: Identification and evaluation of its antioxidant and cytoprotective activities / E. Bellocco et al. *Journal of functional foods*. 2016. Vol. 27. P. 376–385. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.09.016.

REFERENCES

1. Barchuk, O. Z., Vronska, L. V. (2012). *Farmatsevtychnyi chasopys, 1,* 60–63. doi: https://doi.org/10.11603/2312-0967.2012.1.2570.
2. Motohashi, N. (Ed.). (2013). *Anthocyanins: Structure, Biosynthesis and Health Benefits.* Nova Science Publishers, 325.
3. Shesterin, V. I., Sevodin, V. P. (2013). *Khimiia rastitelnogo syria, 3,* 177–180. doi: https://doi.org/10.14258/jcprm.1303177.
4. Rugină, D., Sconța Z., Leopold L., Pintea A., Bunea A., Socaciu, C. (2012). Antioxidant activities of chokeberry extracts and the cytotoxic action of their anthocyanin fraction on HeLa human cervical tumor cells. *Journal of medicinal food, 15 (8),* 700–706. doi: https://doi.org/10.1089/jmf.2011.0246.
5. Reddy, N. M., Panda, K. K., Subhadra, A. V., Panda, B. B. (1995). The Allium micronucleus (MNC) assay may be used to distinguish clastogens from aneugens. *Biol. Zent. bl., 114,* 358–368.
6. Vinken, M., Blaauboer, B. J. (2017). In vitro testing of basal cytotoxicity: establishment of an adverse outcome pathway from chemical insult to cell death. *Toxicol In Vitro, 39,* 104–110. doi: 10.1016 / j.tiv.2016.12.004.
7. DP "Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv". (2014). *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy. (Vols. 1-3; Vol. 3).* (2nd ed.). Kharkiv: DP "Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv", 732.
8. Meirelles, L. da S., Nardi, N. B. (2003). Murine marrow-derived mesenchymal stem cell: isolation, in vitro expansion, and characterization. *Br. J. Haematol., 123 (4),* 702–711. doi: https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2003.04669.x.
9. Zupanets, I. A., Vetrova, E. V., Sakharova, T. S., Dobrova, V. E. (2014). *Vestnik VSU, Serie: Chemistry, Biology, Pharmacy, 3,* 128–132. Available at: http://www.vestnik.vsu.ru/pdf/chembio/2014/03/2014-03-24.pdf.
10. Dobrova, V. Ye., Zupanets, I. A., Maloshtan, L. M., Stepanova, K. O. (2011). *Klinichna farmatsiia, 15 (2),* 18-21.
11. Gontova, T., Ilyinska, N., Golembiovska, O., Mashtaler, V. (2016). Study of the component composition of phenolic compounds obtained from Dahlia varieties Ken's Flame herb. *Der Pharma Chemica, 8 (18),* 455–459.
12. Karlsen, A., Retterstol, L., Laake, P., Paur, I., Kjolsrud-Bohn, S., Sandvik, L., Blomoff, R. (2007). Anthocyanins Inhibit Nuclear Factor-kB Activation in Monocytes and Reduce Plasma Concentrations of Pro-Inflammatory Mediators in Healthy Adults. *The Journal of Nutrition, 137,* 1951–1954. doi: https://doi.org/10.1093/jn/137.8.1951.
13. Cooke, D., Schwarz, M., Boocock, D., Winterhalter, P., Steward, W. P., Gescher, A. J., Marczylo, T. H. (2006). Effect of cyanidin-3-glucoside and an anthocyanin mixture from bilberry on adenoma development in the ApcMin mouse model of intestinal carcinogenesis - Relationship with tissue anthocyanin levels. *International journal of cancer, 119 (9),* 2213–2220. doi: https://doi.org/10.1002/ijc.22090.
14. Bellocco, E., Barreca, D., Giuseppin, L., Calderaro, A., El Lekhlifi, Z., Chebaibi, S., Smeriglio, A., Trombetta, D. (2016). Cyanidin-3-O-galactoside in ripe pistachio (Pistachia vera L. variety Bronte) hulls: Identification and evaluation of its antioxidant and cytoprotective activities. *Journal of functional foods, 27,* 376–385. doi: https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.09.016.

Відомості про авторів:
Малоштан Л. М., докторка біол. наук, професорка кафедри біологічної хімії, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: lnm004@gmail.com. ORCID: http://orcid.org/0000-0003-1904-9579
Шакіна Л. О., кандидатка біол. наук, асистентка кафедри фізіології та патологічної фізіології, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: LyubovZ2003@gmail.com. ORCID: http://orcid.org/0000-0001-6166-6680
Гонтова Т. М., докторка фарм. наук, професорка, завідувачка кафедри ботаніки, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: tetianaviola@ukr.net. ORCID: http://orcid.org/0000-0003-3941-9127
Романова С. В., кандидатка фарм. наук, асистентка кафедри ботаніки, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: svetvikrom@ukr.net. ORCID: http://orcid.org/0000-0002-9686-430X
Яременко М. С., аспірант кафедри ботаніки, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: caecys@gmail.com. ORCID: http://orcid.org/0000-0001-7736-0336
Information about authors:
Maloshtan L., Doctor of Biology (Dr. habil.), professor of the Biological Chemistry Department, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: lnm004@gmail.com. ORCID: http://orcid.org/0000-0003-1904-9579
Shakina L., Candidate of Biology (Ph.D.), teaching assistant of the Physiology and Pathological Physiology Department, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: LyubovZ2003@gmail.com. ORCID: http://orcid.org/0000-0001-6166-6680
Gontova T., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor, head of the Botany Department, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: tetianaviola@ukr.net. ORCID: http://orcid.org/0000-0003-3941-9127
Romanova S., Candidate of Pharmacy (Ph.D.), teaching assistant of the Botany Department, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: svetvikrom@ukr.net. ORCID: http://orcid.org/0000-0002-9686-430X
Yarememko M., postgraduate student of the Botany Department, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: caecys@gmail.com. ORCID: http://orcid.org/0000-0001-7736-0336
Сведения об авторах:
Малоштан Л. Н., доктор биол. наук, профессор кафедры биологической химии, Национальный фармацевтический университет Министерства здравоохранения Украины. E-mail: lnm004@gmail.com. ORCID: http://orcid.org/0000-0003-1904-9579
Шакина Л. А., кандидат биол. наук, ассистент кафедры физиологии и патологической физиологии, Национальный фармацевтический университет Министерства здравоохранения Украины. E-mail: LyubovZ2003@gmail.com. ORCID: http://orcid.org/0000-0001-6166-6680
Гонтовая Т. Н., доктор фарм. наук, профессор, заведующая кафедрой ботаники, Национальный фармацевтический университет Министерства здравоохранения Украины. E-mail: tetianaviola@ukr.net. ORCID: http://orcid.org/0000-0003-3941-9127
Романова С. В., кандидат фарм. наук, ассистент кафедры ботаники, Национальный фармацевтический университет Министерства здравоохранения Украины. E-mail: svetvikrom@ukr.net. ORCID: http://orcid.org/0000-0002-9686-430X
Яременко М. С., аспирант кафедры ботаники, Национальный фармацевтический университет Министерства здравоохранения Украины. E-mail: caecys@gmail.com. ORCID: http://orcid.org/0000-0001-7736-0336

Надійшла до редакції 04.11.2020 р.