НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСТИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин біотехнології та екології

ПОГОДЖЕНО	**ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ**
Декан факультету захисту рослин біотехнології та екології	**Завідувач кафедри , екобіотехнології та біорізноманіття**
_____ Юлія КОЛОМІЄЦЬ.	_____ Олена КВАСКО
(підпис)	(підпис)
«___»_____2026 р.	«___»_____2026 р.

БАКАЛАВРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: «Дослідження антибактеріальних властивостей екстрактів *Hamamelis vernalis* для створення природних антисептиків**»**

Спеціальність «162 Біотехнологія і біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Біотехнологія і біоінженерія»

Гарант освітньої програми
Кандидат біологічних наук, доцент _____ (підпис) **Олена КВАСКО**

Керівник бакалаврської кваліфікаційної роботи
Кандидат біологічних наук, доцент

_____ (підпис) **Оксана ТАРАН**

Виконала _____ (підпис) **Дарія ГУРИН**

Київ – 2026

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСТИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
Факультет захисту рослин біотехнології та екології

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри
екобіотехнології та біорізноманіття
Кандидат біологічних наук, доцент _____Олена КВАСКО
"___"_____ 2026 р.

З А В Д А Н Н Я
ДО ВИКОНАННЯ БАКАЛАВРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ
ЗДОБУВАЧУ
Гурин Дарії Русланівні

Спеціальність 162 «Біотехнологія і біоінженерія»
Освітньо-професійна програма «**Біотехнології та біоінженерія**»
Тема бакалаврської кваліфікаційної роботи
«Дослідження антибактеріальних властивостей екстрактів *Hamamelis vernalis* для створення природних антисептиків»
затверджена наказом від «30» жовтня 2025 року № 2596 «С» Термін подання завершеної роботи на кафедру «22» травня 2026 р. Вихідні дані до бакалаврської кваліфікаційної роботи: екстракт Hamamelis vernalis; Allium-тест
Перелік питань, що підлягають дослідженню:

1. Чому проблема антибіотико-резистентності є актуальною сьогодні?
2. Якими антимікробними властивостями характеризується *Hamamelis*?
3. У чому полягає механізм дії танінів, флаваноїдів і проантоціанідинів?
4. Що таке індекс інгібування та як його розраховують?

Дата видачі завдання «11» вересень 2026р.

Керівник бакалаврської
кваліфікаційної роботи **Оксана ТАРАН**

_____
(підпис)

Завдання взяла до виконання **Дарія ГУРИН**

_____
(підпис)

РЕФЕРАТ

Обсяг роботи: 49 сторінок, 6 ілюстрацій, 6 таблиць. Список використаних джерел налічує 44 позиції.

Ключові слова : *HAMAMELIS VERNALIS*, ЕКСТРАКТИ РОСЛИННІ, АНТИБАКТЕРІАЛЬНА АКТИВНІСТЬ, ТАНІНИ, ФЛАВОНОЇДИ, ПОЛІФЕНОЛИ, АНТИСЕПТИЧНІ ЗАСОБИ, МІНІМАЛЬНА ІНГІБУЮЧА КОНЦЕНТРАЦІЯ, РЕЗИСТЕНТНІСТЬ МІКРООРГАНІЗМІВ, ФЕНОЛЬНІ СПОЛУКИ

Мета роботи : з'ясувати ефективність екстрактів *Hamamelis vernalis* у пригніченні бактеріального росту для подальшого використання у створенні природних антисептичних засобів.

Об'єкт дослідження: антибактеріальні та фітотоксичні властивості рослинних екстрактів *Hamamelis vernalis*.

Предмет дослідження: вплив екстрактів *Hamamelis vernalis* на ріст та життєздатність бактеріальних мікроорганізмів.

Методи дослідження: аналіз наукової літератури, мікробіологічні методи визначення антибактеріальної активності (метод дифузії в агар, визначення мінімальної інгібуючої концентрації), порівняльний аналіз, узагальнення та систематизація отриманих даних.

Результати та їх новизна. У роботі проаналізовано біохімічний склад екстрактів *Hamamelis vernalis*, досліджено спектр чутливості бактеріальних штамів до отриманих екстрактів та визначено концентрації, що забезпечують виражений антибактеріальний ефект. Проведено порівняння ефективності екстрактів із базовими лабораторними антисептичними засобами.

Рекомендації щодо використання. Отримані результати можуть бути використані у фармацевтичній та косметичній галузях для розроблення антисептичних гелів, тоніків і спреїв на натуральній основі, а також у медичній практиці як альтернатива синтетичним антисептичним засобам.

ABSTRACT

Scope of work: 49 pages, 6 illustrations, 6 tables. The list of references contains 51 entries.

Keywords: *HAMAMELIS VERNALIS* HAZEL, PLANT EXTRACTS, ANTIBACTERIAL ACTIVITY, TANNINS, FLAVONOIDS, POLYPHENOLS, ANTISEPTIC AGENTS, MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION, MICROBIAL RESISTANCE, PHENOLIC COMPOUNDS.

Objective: To determine the efficacy of *Hamamelis vernalis* extracts in suppressing bacterial growth for subsequent use in the development of natural antiseptic agents.

Object of study: Antibacterial and phytotoxic properties of *Hamamelis vernalis* plant extracts.

Subject of study: The effect of *Hamamelis vernalis* extracts on the growth and viability of bacterial microorganisms.

Research methods: Analysis of scientific literature; microbiological methods for determining antibacterial activity (agar diffusion method, determination of minimum inhibitory concentration); comparative analysis; generalization and systematization of the obtained data.

Results and their novelty. The study analyzed the biochemical composition of *Hamamelis vernalis* extracts, investigated the susceptibility spectrum of bacterial strains to the obtained extracts, and determined the concentrations that provide a pronounced antibacterial effect. The efficacy of the extracts was compared against standard laboratory antiseptic agents.

Recommendations for use. The obtained results may be applied in the pharmaceutical and cosmetic industries for the development of natural antiseptic gels, tonics, and sprays, as well as in medical practice as an alternative to synthetic antiseptic agents.

ЗМІСТ

ВСТУП 7
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ 9
1.1. Ботанічна та хімічна характеристики Hamamelis vernalisa 9
1.2. Активні компоненти екстаркітв Hamamelis vernalisи 14
1.3. Методи екстракції: 18
1.4. Стандарти антимікробних тестів: орієнтація на підходи CLSI/ISO, підбір контрольних штамів і позитивних контролів 23
1.5. Вимоги до антисептиків: регуляторні аспекти, безпечність для шкіри, консервування, pH 28
РОЗДІЛ 2 32
ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ 32
2.1 Об'єкт дослідження 32
2.2 Методи дослідження 32
2.2.1 Фізико-хімічні характеристики водної витяжки Hamamelis vernalis. 32
2.2.2 Дослідження фітотоксичної дії витяжки Hamamelis vernalis. 32
2.2.3 Дослідження антибактеріальної активності витяжки Hamamelis vernalis 33
РОЗДІЛ 3 37
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ 37
3.1. Дослідження фітотоксичності водного екстракту Hamamelis vernalis 37
3.2 Дослідження антибактеріальної активності витяжки Hamamelis vernalis 40
ВИСНОВОК 44
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 45
ДОДАТКИ ..... **Error! Bookmark not defined.**

ВСТУП

Актуальність теми. Актуальність дослідження антибактеріальних властивостей екстрактів *Hamamelis vernalis* зумовлюється зростанням потреби у безпечних та ефективних засобах для профілактики інфекційних процесів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці.

Поширення стійких до синтетичних антибіотиків штамів мікроорганізмів підсилює інтерес до природних сполук, які можуть проявляти антибактеріальну активність за рахунок унікальних метаболітів рослинного походження.

На тлі наростання резистентності до класичних антисептиків суспільство потребує нових альтернатив, здатних знижувати бактеріальне навантаження без токсичного впливу на тканини. *Hamamelis vernalis*, представник родини Hamamelidaceae, містить комплекс танінів, флавоноїдів та фенольних кислот, що традиційно пов'язують із здатністю рослинних екстрактів пригнічувати ріст патогенів і сприяти регенеративним процесам шкіри.

Значний науковий інтерес до *Hamamelis vernalis* посилюється також тим, що ця рослина вже використовується у народній і комплементарній медицині для зменшення запальних проявів, подразнення та мікротравм шкіри, однак системні дослідження її впливу на бактеріальні культури залишаються обмеженими. Подальше вивчення природних екстрактів може створити підґрунтя для розроблення антисептичних формул, які будуть сумісні зі шкірними покривами, матимуть мінімальний ризик алергічних реакцій та не сприятимуть формуванню резистентності у мікроорганізмів. Інтерес до цієї рослини також підтримується сучасними трендами «зеленої» косметології та екологічно орієнтованої фармації, де віддається перевага засобам, що походять із відновлюваних природних джерел.

Дослідження антибактеріальних властивостей *Hamamelis vernalis* здатне внести вагомий вклад у розширення спектра природних антисептичних засобів, оскільки аналіз фенольного профілю цієї рослини відкриває перспективи для створення композицій з комплексною дією — антибактеріальною, протизапальною та заспокійливою. Отримані результати можуть стати основою

для подальшої стандартизації технологій екстракції, оптимізації концентрацій активних речовин, а також визначення спектра чутливості різних бактерій до екстрактів *Hamamelis vernalis*. Це створює умови для формування нових підходів до профілактики та контролю інфекцій у медичних та побутових умовах.

Зростання запиту на природні засоби для догляду за шкірою та профілактики інфекцій робить дослідження властивостей *Hamamelis vernalis* перспективним з огляду на його можливе застосування у розробці антисептичних гелів, тоніків, спреїв та інших продуктів. Комплексний аналіз біологічної активності рослини дозволяє оцінити її потенціал у створенні альтернативних засобів, що поєднують ефективність та натуральність.

Об'єкт дослідження: антибактеріальні та фітотоксичні властивості рослинних екстрактів *Hamamelis vernalis*.

Предмет дослідження: вплив екстрактів *Hamamelis vernalis* на ріст та життєздатність бактеріальних мікроорганізмів.

Мета дослідження: з'ясувати ефективність екстрактів *Hamamelis vernalis* у пригніченні бактеріального росту для подальшого використання у створенні природних антисептичних засобів.

Завдання дослідження:

1. Проаналізувати біохімічний склад екстрактів *Hamamelis vernalis.*
2. Оцінити спектр чутливості бактеріальних штамів до отриманих екстрактів.
3. Визначити концентрації екстрактів, що забезпечують виражений антибактеріальний ефект.
4. Порівняти ефективність екстрактів *Hamamelis vernalis* із базовими лабораторними антисептичними засобами.

Структура роботи: робота складається з трьох розділів, шести підрозділів, висновків, додатків та списку використаних джерел. Загальний обсяг роботи – сторінки.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Ботанічна та хімічна характеристики *Hamamelis vernalis*: частини рослини з найбільшим вмістом поліфенолів (листя, кора, гілочки), сезонні варіації, відмінності від *H. virginiana*

Hamamelis vernalis належить до родини Hamamelidaceae і характеризується сукупністю морфологічних та біохімічних властивостей, що вирізняють її серед інших представників роду *Hamamelis*.

Рослина є багаторічним листопадним кущем, що зазвичай сягає 2–3 метрів заввишки, утворюючи густі зарості завдяки численним прикореневим пагонам. Її природний ареал охоплює центральні та південні регіони США, де вона зростає у вологих лісах, долинах річок і на пагорбах з добре дренованими ґрунтами [13].

Характерною рисою є раннє цвітіння, що починається наприкінці зими або на початку весни, коли більшість інших рослин перебувають у стані спокою. Цвіт складається з жовтих, інколи червонуватих стрічкоподібних пелюсток, які здатні згортатися у холодну погоду та розправлятися з підвищенням температури, що зумовлює адаптивні переваги в умовах сезонних коливань. Листя має еліптичну форму з хвилястим краєм та заглибленими жилками, а восени набуває жовтих або червонуватих відтінків. Структурні особливості кори та гілочок створюють сприятливі умови для накопичення біологічно активних сполук, які виконують захисні функції та беруть участь у процесах вторинного метаболізму.

Хімічний профіль *Hamamelis vernalis* характеризується високим вмістом поліфенолів, танінів, флавоноїдів та фенольних кислот, які формують антибактеріальні, протизапальні та антиоксидантні властивості рослини. Найбільш концентровані групи поліфенольних сполук локалізуються у корі та гілочках, що пояснюється їхнім захисним призначенням. Ці органи містять значні кількості гідролізних танінів, зокрема галоїл- та еллаготанінів, які відіграють роль у стійкості рослини до мікробних ушкоджень та стресових факторів довкілля [41]. Листя також містить поліфеноли, однак їх концентрація зазвичай нижча, оскільки фотосинтетичні процеси й динамічна зміна метаболітів

у листковій пластинці спричиняють сезонні коливання хімічного складу. Водночас листя зберігає значну кількість флавоноїдних компонентів, серед яких найбільш репрезентативними є кверцетин, кемпферол та їх глікозиди. Такі сполуки беруть участь у захисті клітин від оксидативного стресу, сприяють регуляції фізіологічних реакцій рослини та забезпечують участь у формуванні антибактеріального потенціалу екстрактів [16].



Рис 1. Квітуюча рослина *Hamamelis vernalis*

Розподіл поліфенольних речовин у різних частинах Hamamelis vernalis має виразну органоспецифічність, що зумовлює різну активність екстрактів залежно від того, з яких структур їх отримано. Кора та молоді гілочки зазвичай демонструють найвищий вміст еллагових дериватів та конденсованих танінів, що пов’язано з їхньою функцією механічного захисту та участю у реакціях опору інфекційним агентам.

Саме ці частини рослини традиційно використовуються у фітотерапевтичній практиці для виготовлення настоянок, які застосовуються при подразненнях шкіри, мікротравмах чи запальних процесах. Листя демонструє більш змішаний профіль і містить як флавоноїди, так і таніни, що робить листкові екстракти цікавими для комплексних антисептичних продуктів з

м’якою дією. У міру старіння листя концентрація поліфенолів змінюється, і характер цих змін залежить від інтенсивності ультрафіолетового випромінювання, вологості та температурних режимів [4].

Сезонні варіації вмісту поліфенолів у Hamamelis vernalis є результатом впливу температурних змін, довжини світлового дня та особливостей фізіологічного циклу рослини. На початку весни, коли з’являється молоде листя, концентрація поліфенольних сполук зазвичай підвищена через активізацію захисних механізмів проти шкідників та абіотичних стресорів. У літній період цей рівень може дещо знижуватися, оскільки рослина досягає стабільного фізіологічного стану та спрямовує ресурси на фотосинтез і розвиток пагонів. Восени спостерігається повторне підвищення рівня поліфенолів, що пов’язано з підготовкою до зимового періоду та зміною метаболічних шляхів, зокрема підвищеною синтетичною активністю фенілпропаноїдного шляху.

Кора та гілочки менш чутливі до короткострокових сезонних змін, однак навіть у цих структурах концентрація танінів може зростати восени та взимку, коли рослина потребує додаткового захисту від патогенних мікроорганізмів.

Особливу увагу привертають відмінності між Hamamelis vernalis та Hamamelis virginiana, оскільки обидва види використовуються у фітотерапевтичній і косметичній галузях, проте їхній хімічний склад не є тотожним [12]. H. virginiana традиційно застосовується у фармацевтичних засобах як джерело дистилятів із вмістом летких сполук та дубильних речовин. Її листя та кора містять таніни у значних концентраціях, але профіль окремих компонентів певною мірою відрізняється від H. Vernalis [9].

Наприклад, у H. virginiana вищий вміст гідролізних танінів естерного типу, тоді як у H. vernalis виразніша присутність флавоноїдів та еллагових похідних. Це позначається на спектрі антиоксидантної та антибактеріальної дії, створюючи потенціал для отримання різних за властивостями екстрактів. Окрім того, H. vernalis цвіте значно раніше за H. virginiana, що впливає на сезонні особливості накопичення метаболітів: ранньовесняна активність може стимулювати інший ритм синтезу поліфенолів, порівняно з видом, який цвіте восени. Таким чином,

сезонний цикл розвитку визначає структуру накопичення вторинних метаболітів і може впливати на антимікробні властивості екстрактів.

Відмінності між видами охоплюють не лише склад, а й локалізацію метаболітів у окремих органах. У H. virginianазазвичай вищий вміст танінів у листі влітку, тоді як у H. vernalis більшу концентрацію поліфенолів часто виявляють саме у корі та молодих пагонах протягом усього року. Це зумовлює різні технологічні підходи до заготівлі сировини [18]. У разі H. virginiana найчастіше використовують листя, тоді як для H. vernalis перспективнішим джерелом активних сполук є стеблові частини. Характер флавоноїдного профілю також різниться: у H. virginianадомінують кверцетинові похідні, тоді як у H. vernalis нерідко спостерігається більш виражений спектр фенольних кислот, включаючи галову та еллагову. Така диференціація пояснює різну біологічну дію, яка проявляється під час тестування екстрактів у мікробіологічних дослідженнях [32].

Одним із напрямів вивчення Hamamelis vernalis є аналіз динаміки накопичення поліфенолів у природних умовах та під впливом екологічних чинників. У регіонах із контрастними сезонними коливаннями температури спостерігається зміна активності ферментів фенілпропаноїдного шляху, що безпосередньо корелює з рівнями поліфенольних сполук.

У періоди зниження температур накопичення танінів посилюється, що виконує функцію додаткового бар’єра проти морозного та мікробного стресу. У теплий сезон акцент зміщується на продукцію флавоноїдів, які беруть участь у захисті рослини від ультрафіолетового випромінювання. У середовищах із підвищеною вологістю поліфенольний профіль може зміщуватися у напрямі підвищеної концентрації еллагових похідних, які мають здатність утворювати стійкі комплекси з білками мікроорганізмів і пригнічувати розвиток грибкових колоній [16].

Вивчення біохімічних характеристик Hamamelis vernalis також охоплює аналіз внутрішніх механізмів регуляції синтезу поліфенолів. На рівні клітинного метаболізму продукція танінів пов’язана з активністю шікіматного шляху, тоді як синтез флавоноїдів залежить від інтенсивності функціонування ферментів,

пов’язаних із фенілаланінаміакліазою. Під час стресових умов, таких як пошкодження корою або вплив патогенів, активність цих шляхів може підвищуватися, пояснюючи більш високий вміст поліфенолів у пошкоджених ділянках стебел та гілок. Це свідчить про те, що природні умови середовища та біотичні взаємодії формують унікальний хімічний профіль рослини, який може відрізнятися навіть між популяціями в межах одного географічного регіону. Наявність розвиненого комплексу поліфенольних речовин робить Hamamelis vernalis перспективним джерелом природних антибактеріальних компонентів, оскільки поліфеноли здатні взаємодіяти з клітинними стінками бактерій, змінювати проникність мембран та інгібувати ферментативні процеси.

Танінові комплекси мають властивість осаджувати білки, що створює умови для блокування росту патогенів, зокрема грампозитивних форм. Флавоноїди можуть виступати як модулятори оксидативного стану бактеріальних клітин, спричиняючи дисбаланс їхнього метаболізму та погіршення здатності до поділу. Синергія між танінами та фенольними кислотами формує ефекти, що відрізняються залежно від частини рослини та сезону збирання сировини [13].

Відмінності між Hamamelis vernalis та Hamamelis virginiana проявляються не лише у концентраціях основних груп поліфенолів, а й у співвідношенні між окремими метаболітами, що зумовлює різні фармакологічні перспективи. У H. virginiana вищий вміст проантоціанідинів, тоді як у H. vernalis часто спостерігається перевага еллагових похідних. Такий розподіл впливає на біодоступність активних речовин та їхню взаємодію з клітинами шкіри [8]. Крім того, сезонний ритм накопичення метаболітів у цих видів відрізняється, оскільки час цвітіння та вегетативної активності впливає на синтез вторинних сполук. Рання активність H. vernalis створює передумови для утворення захисних поліфенолів у період, коли діють значні температурні коливання, тоді як H. virginiana розвиває свій захисний потенціал у пізніший період, коли умови є стабільнішими [1].

1.2. Активні компоненти екстаркітв Hamamelis vernalis: таніни, проантоціанідини, флавоноїди; їхні відомі антибактеріальні механізми

Активні компоненти екстрактів *Hamamelis vernalis* охоплюють широку групу фенольних сполук, серед яких таніни, проантоціанідини та флавоноїди формують основний спектр біологічної активності, що привертає увагу дослідників у контексті створення природних антисептичних засобів. Сукупність цих метаболітів забезпечує багаторівневий вплив на мікроорганізми, оскільки кожна група сполук діє за різними механізмами, від порушення клітинної мембрани до блокування ферментативних процесів і дестабілізації внутрішньоклітинної структури бактерій. Така багатокомпонентність формує потенціал для синергічних ефектів, які можуть підвищувати антимікробну активність екстрактів у порівнянні з дією окремих ізольованих метаболітів.

*Hamamelis vernalis*природно накопичує значні кількості гідролізних танінів, еллаготанінів, проантоціанідинів та флавоноїдних глікозидів, що створює широкий спектр мішеней у бактеріальних клітинах і забезпечує комплексний характер впливу [15].

Табл. 1. Активні компоненти екстаркітв *Hamamelis vernalis*: таніни, проантоціанідини, флавоноїди; їхні відомі антибактеріальні механізми

Компонент	**Хімічні особливості**	**Основні антибактеріальні механізми**	**Типові мікробні мішені**
Таніни	Гідролізні та конденсовані поліфеноли, здатні зв’язувати білки Порушення цілісності мембран	Осадження білків клітинної стінки	*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, грампозитивні бактерії, біоплівкоутворюючі штами
		Порушення цілісності мембран	
		Інгібування ферментів (дегідрогенази, протеази)	
		Зниження адгезії та руйнування біоплівок	
Проантоціаніди ни	Полімери катехінів та епікатехінів,	Руйнування ліпополісахаридно го шару	Грамнегативні бактерії (E. coli, P.

	конденсовані таніни	Підвищення проникності мембрани	aeruginosa), штами з біоплівками
		Інгібування синтезу ДНК/РНК	
		Порушення кворум-сенсингу та матриксу біоплівок	
Флавоноїди	Кверцетин, кемпферол та їх глікозиди; антиоксидантні та фермент-модулюючі властивості	Інгібування топоізомераз і рибосом	Грампозитивні та грамнегативні бактерії, антибіотикорезистентні штами
		Зміна редокс-стану та генерація ROS у клітині	
		Порушення синтезу білків	
		Зниження активності ефлюксних насосів	

Таніни, які домінують у корі та гілочках *Hamamelis vernalis*, становлять одну з найбільш досліджених груп поліфенольних сполук рослини. Їхня структура базується на полімеризованих формах фенольних кислот, здатних утворювати стабільні комплекси з білками та металами. Механізм антибактеріальної активності танінів пов’язаний насамперед із їхньою здатністю зв’язуватися з білковими структурами поверхні клітин бактерій, що спричиняє осадження протеїнів та порушення цілісності клітинної стінки. Таніни можуть впливати на пептидогліканový шар грампозитивних бактерій, зменшуючи його стабільність і роблячи клітину більш вразливою до осмотичного тиску [19]. Додатково таніни інгібують ферменти, необхідні бактерії для підтримання метаболізму та поділу, зокрема дегідрогенази, протеази та амілази. Цей ефект проявляється у зниженні життєздатності клітин і затримці росту колоній. Багато танінів *Hamamelis vernalis* демонструють здатність руйнувати бактеріальні біоплівки, що є одним із найстійкіших механізмів захисту патогенів від антисептиків та антибіотиків [4].

Гідролізні таніни, характерні для *Hamamelis vernalis*, включають галотанінові та еллаготанінові структури, які здатні розкладатися до галової та

еллагової кислот. Ці кислоти мають виражені антимікробні властивості завдяки здатності порушувати електронно-транспортні реакції у бактеріальній клітині, що призводить до зниження синтезу енергії та накопичення реактивних форм кисню.

Високий рівень еллаготанінів у екстрактах *Hamamelis vernalis*пояснює їхні потенційні переваги порівняно зі схожими препаратами з *Hamamelis virginiana*. Еллагові похідні можуть також інгібувати кворум sensing — систему міжклітинної комунікації бактерій, яка контролює формування біоплівок і синтез факторів вірулентності. Таким чином таніни блокують можливість координації дій бактерій, що зменшує їхню патогенність навіть за умов збереження структурної цілісності клітин [5].

Проантоціанідини становлять іншу вагому групу поліфенольних компонентів *Hamamelis vernalis* і належать до конденсованих танінів. Ці сполуки складаються з полімерів катехінів та епікатехінів і демонструють потужну здатність до взаємодії з бактеріальними мембранами.

Вони порушують проникність зовнішнього та внутрішнього ліпідного шару, спричиняючи витік внутрішньоклітинних компонентів та зниження тургорного тиску. Такий механізм часто спостерігається у грамнегативних бактерій, де проантоціанідини руйнують ліпополісахаридний шар, що є важливим елементом захисту бактерій від антибіотиків і антисептиків. Здатність проантоціанідинів викликати фізичну дестабілізацію клітинної мембрани є одним із найефективніших способів інгібування швидкоподільних бактеріальних штамів [42].

Проантоціанідини також можуть інгібувати ферменти, відповідальні за синтез нуклеїнових кислот, що спричиняє порушення реплікації та транскрипції у бактерій. Деякі з них впливають на редокс-рівновагу, спричиняючи підвищення рівня окисного стресу, що є токсичним для бактеріальної клітини. У патогенів, здатних до утворення біоплівок, проантоціанідини зменшують щільність матриксу, сприяючи підвищенню доступності інших антимікробних компонентів екстракту [35]. Важливо, що проантоціанідини не лише пошкоджують мембрани, а й змінюють гідрофобність поверхні бактерій, що ускладнює їхню адгезію до

тканинних структур людини або до штучних матеріалів. Це робить такі речовини перспективними у створенні антисептиків для догляду за шкірою, а також засобів профілактики інфекцій, пов'язаних з імплантатами [21].

Флавоноїди, характерні для *Hamamelis vernalis*, включають кверцетин, кемпферол, їхні глікозиди та інші споріднені похідні. Механізми антибактеріальної активності флавоноїдів значно різноманітніші, оскільки вони здатні впливати на широкий спектр клітинних процесів.

Одним із найпоширеніших механізмів є блокування ферментів, що беруть участь у синтезі клітинної стінки та енергетичному метаболізмі бактерій. Флавоноїди інгібують топоізомерази, які необхідні для розкручування ДНК під час реплікації, що зупиняє поділ клітини. Деякі представники цієї групи можуть зв'язуватися з рибосомами, порушуючи синтез бактеріальних білків і спричиняючи накопичення дефектних поліпептидних ланцюгів.

Антиоксидантна активність флавоноїдів також відіграє роль у їхній антибактеріальній дії, але механізм є складнішим, ніж просте знешкодження вільних радикалів. У високих концентраціях флавоноїди здатні модифікувати внутрішньоклітинний окисно-відновний баланс, що призводить до утворення реактивних форм кисню в бактеріальній клітині [39].

Це спричиняє пошкодження ліпідів мембран, білків та ДНК, що унеможливлює подальший розвиток бактерії. У грампозитивних штамів флавоноїди можуть взаємодіяти з молекулами тейхоєвих кислот, що знижує цілісність клітинної стінки та підвищує проникність для інших антимікробних речовин. У грамнегативних бактерій вони здатні зменшувати активність ефлюксних насосів, які в нормі виводять токсичні речовини з клітини, тобто флавоноїди послаблюють механізми резистентності.

Синергічна дія танінів, проантоціанідинів і флавоноїдів формує комплексні ефекти, що мають значення для антимікробного потенціалу *Hamamelis vernalis*. Таніни закріплюються на поверхні бактеріальної клітини та спричиняють структурні зміни, проантоціанідини порушують мембранну цілісність, а флавоноїди інгібують внутрішньоклітинні ферментативні процеси. Такий багаторівневий підхід знижує ймовірність того, що бактерія зможе розвинути

резистентність, оскільки кожен компонент діє на різні молекулярні мішені [29]. Експерименти з екстрактами *Hamamelis vernalis* показують, що сумарна дія поліфенольних речовин може бути сильною навіть тоді, коли концентрація окремих метаболітів є помірною, підтверджуючи концепцію синергічного антимікробного ефекту. Додатковими механізмами, притаманними активним компонентам *Hamamelis vernalis*, є здатність знижувати активність бактеріальних токсинів та блокувати їхнє виділення. Таніни та проантоціанідини можуть взаємодіяти з екзотоксинами, змінюючи їхню структуру і зменшуючи здатність пошкоджувати тканини. Флавоноїди впливають на транскрипційні фактори, які контролюють експресію вірулентності, що послаблює інфекційний потенціал бактерій. Вони також можуть втручатися у формування метаболічних шляхів, що відповідають за анаеробний та аеробний метаболізм, послаблюючи бактерії і зменшуючи їхню здатність до швидкого росту [11].

1.3. Методи екстракції: водно-спиртові розчини, гліцерин, надкритичні і безпечні для шкіри носії

Методи екстракції біологічно активних речовин із *Hamamelis vernalis* формують основу для створення високоефективних природних антисептиків, оскільки від вибору технології залежить спектр вилучених метаболітів, їхня стабільність, концентрація та безпечність для шкіри.

Дослідження різних підходів до екстракції охоплює аналіз впливу розчинників, температурних режимів, тривалості контакту та технологічних параметрів, які здатні змінювати хімічний профіль одержаних екстрактів.

Водночас сучасні вимоги до топічних засобів диктують необхідність врахування дерматологічної сумісності, відсутності подразнення та забезпечення збереження поліфенольних сполук, що є основними носіями антибактеріальної активності. Серед найпоширеніших підходів виокремлюють використання водно-спиртових розчинів різної концентрації, гліцеринових систем, надкритичної екстракції та методів, що базуються на застосуванні інноваційних, безпечних для шкіри носіїв, здатних підвищувати біодоступність активних компонентів [16].

Водно-спиртова екстракція є однією з традиційних технологій, яка застосовується для вилучення танінів, флавоноїдів, проантоціанідинів та інших поліфенолів з рослинної сировини *Hamamelis vernalis*. Спирт у поєднанні з водою забезпечує оптимальний баланс полярності, що дозволяє екстрагувати як гідрофільні, так і частково ліпофільні сполуки [18]. Розчинність фенольних компонентів залежить від концентрації спирту: при вищій частці етанолу підвищується вилучення флавоноїдів, тоді як при нижчій концентрації інтенсивніше переходять у розчин таніни та галові кислоти. Водно-спиртові розчини дають можливість ефективно стабілізувати екстраговані речовини, оскільки спирт діє як консервант, запобігаючи окисненню поліфенолів та розвитку мікроорганізмів у готовому продукті. Одним із напрямів удосконалення цієї методики є варіювання температурних умов: низькотемпературна екстракція краще зберігає структурну цілісність термолабільних компонентів, тоді як помірне підігрівання може прискорювати процес дифузії та підвищувати вихід фенольних сполук. Проте високі температури здатні спричиняти деградацію окремих метаболітів, що потребує ретельного контролю тривалості та інтенсивності нагрівання [4].

Водно-спиртові екстрати широко використовуються у фармацевтичній та косметичній промисловості, однак для створення засобів, що наносяться на чутливу або подразнену шкіру, концентрація спирту повинна бути зниженою [12]. Надмірна кількість етанолу може спричиняти сухість, подразнення або руйнування ліпідного бар’єра, що ставить питання щодо альтернативних підходів. Оптимізація співвідношення вода–спирт спрямована на досягнення балансу між ефективністю вилучення активних компонентів і комфортом застосування.

Під час екстракції можуть використовуватись ультразвукові або мікрохвильові методи, що сприяють руйнуванню клітинних стінок рослинної сировини та полегшують вивільнення поліфенольних сполук. Застосування таких фізичних методів дозволяє скоротити тривалість екстракції, зменшити потребу у високій концентрації спирту і підвищити загальну ефективність процесу [9].

Гліцеринова екстракція є альтернативним підходом, що значною мірою відповідає вимогам дерматологічної безпечності та водночас забезпечує вилучення широкого спектра гідрофільних та частково ліпофільних сполук. Гліцерин є природним зволожувачем, нетоксичним розчинником та стабілізатором, що дозволяє створювати екстракти, придатні для чутливої, пошкодженої або сухої шкіри. Він має здатність формувати водневі зв'язки з фенольними групами танінів та флавоноїдів, забезпечуючи їхню стабільність у розчині та запобігаючи швидкому окисненню.

Оскільки гліцерин має високу в'язкість, процес екстракції потребує тривалішого контакту з рослинною сировиною або застосування технік, що прискорюють дифузію, таких як нагрівання на водяній бані або ультразвукова обробка. Температурні режими у гліцериновій екстракції зазвичай не перевищують помірних значень, оскільки сильне нагрівання може призвести до зміни консистенції розчинника та небажаних хімічних перетворень [31].

Гліцеринові екстрати мають низку переваг у контексті створення антисептичних засобів із *Hamamelis vernalis*. Вони здатні утримувати вологу на поверхні шкіри, запобігаючи пересиханню, що може бути корисним у разі використання продуктів після травматичних впливів або при запальних процесах. Крім того, гліцерин сприяє посиленню проникності активних компонентів через роговий шар, оскільки змінює його гідратаційний стан. Це підвищує біодоступність поліфенолів і збільшує їхню антибактеріальну активність у топічних препаратах [32].

У гліцеринових системах особливо добре зберігаються таніни, що характеризуються стійкістю до гідролізу за умов помірної вологості. Проантоціанідини та флавоноїди також стабільні у таких розчинах, що робить гліцерин одну з найперспективніших основ для створення м'яких, шкіроорієнтованих антисептичних формул.

Надкритична екстракція є технологічно складнішою, однак відкриває можливості для отримання висококонцентрованих екстрактів із точним контролем спектра вилучених компонентів. Найчастіше застосовується надкритичний вуглекислий газ, який за умов високого тиску та температури

переходить у стан, що поєднує дифузійні властивості газу з розчинювальною здатністю рідини [19]. Проте сам по собі надкритичний CO_2 погано розчиняє поліфенольні сполуки через їхню високу полярність, тому до системи часто додаються модифікатори, такі як етанол або вода у малих кількостях, які здатні змінювати полярність середовища та покращувати вилучення фенольних речовин. Цей процес дає можливість точно контролювати склад екстракту, регулюючи тиск, температуру та частку модифікатора. Надкритична екстракція забезпечує високу чистоту продукту та мінімальну кількість домішок, оскільки після зниження тиску CO_2 переходить у газоподібний стан і легко відділяється від екстракту [28].

Однією з переваг надкритичної технології є здатність отримувати екстракти з мінімальним ризиком термічного руйнування чутливих метаболітів, адже температура процесу може бути відносно низькою завдяки значному впливу тиску на фізичний стан розчинника. Крім того, надкритичні системи дозволяють змінювати селективність процесу та отримувати фракції, багаті на окремі групи поліфенолів або жиророзчинних компонентів, які можуть доповнювати антибактеріальну активність. Такі екстракти характеризуються високим рівнем стабільності, чистоти та концентрованості, що робить їх цінними для наукових досліджень та практичних застосувань у фармації. Проте технологія потребує складного обладнання та значних енергетичних ресурсів, що обмежує її застосування у масовому виробництві косметичних засобів, однак залишає перспективи для розроблення високоякісних антисептичних формул преміального сегмента.

Сучасні тенденції розроблення природних антисептиків із *Hamamelis vernalis* передбачають активне використання безпечних для шкіри носіїв, які здатні не лише стабілізувати поліфенольні сполуки, а й підвищити їхню біодоступність [17].

До таких носіїв належать ліпосомальні системи, гідрогелі, циклічні олігосахариди, мікроемульсії та інші інноваційні матриці, що дозволяють інкапсулювати активні компоненти в структуроване середовище. Ліпосоми складаються з фосфоліпідного двошару, аналогічного мембранам клітин людини,

що забезпечує їхню високу сумісність зі шкірою. Інкапсуляція танінів, флавоноїдів та проантоціанідинів у ліпосоми може підвищувати їхню стабільність, захищати від окиснення та забезпечувати контрольоване вивільнення. Такий підхід особливо ефективний у разі топічного застосування, оскільки ліпосомальні структури здатні проникати у роговий шар і доставляти активні речовини у глибші шари епідермісу [4].

Гідрогелі, зокрема на основі алое вера, гіалуронової кислоти або карбомерів, створюють комфортну текстуру для нанесення на шкіру та допомагають розподілити екстракт рівномірно. Вони зберігають вологу, забезпечують триваліший контакт активних компонентів із поверхнею шкіри та можуть бути оптимізовані для регулювання pH, що впливає на стабільність танінів [9].

Використання мікроемульсій дозволяє збільшувати розчинність ліпофільних фрагментів поліфенолів, а також створювати довготривалу дію за рахунок контрольованої дифузії. Циклічні олігосахариди, такі як β-циклодекстрин, мають здатність утворювати інклюзійні комплекси зі сполуками середньої полярності, стабілізуючи флавоноїди та полегшуючи їхню інтеграцію до водних формул.

Безпечні для шкіри носії створюють умови для мінімізації подразнення та одночасного підвищення ефективності активних компонентів *Hamamelis vernalis*. Поліфенольні сполуки мають високу реакційну здатність та можуть зазнавати деградації при контакті з киснем, світлом або підвищеною температурою, тому інкапсуляція у стабілізоване середовище є перспективним напрямом підвищення зберігання та активності екстрактів. Використання таких технологій дозволяє створити складні багатокомпонентні формули, у яких поліфеноли діють триваліше та досягають мішеней у шкірних структурах із більшою ефективністю. Дерматологічні переваги безпечних носіїв проявляються також у поліпшенні відчуття на шкірі, більш рівномірному нанесенні засобу та знижені ризики алергічних реакцій у порівнянні з традиційними спиртовими основами [25].

1.4. Стандарти антимікробних тестів: орієнтація на підходи CLSI/ISO, підбір контрольних штамів і позитивних контролів

Стандартизація антимікробних тестів є основою достовірного оцінювання антибактеріальних властивостей екстрактів *Hamamelis vernalis*, оскільки забезпечує порівнюваність результатів, відтворюваність методик та можливість інтерпретації отриманих даних у межах міжнародних наукових підходів.

Орієнтація на протоколи, запропоновані CLSI та ISO, дає змогу створити систему дослідження, у якій методи визначення антимікробної активності є уніфікованими, чітко регламентованими та придатними для аналізу природних екстрактів різної природи [43].

Використання цих стандартів дозволяє інтегрувати результати в глобальний контекст мікробіологічних досліджень і порівнювати ефективність рослинних сполук із відомими антимікробними засобами, які застосовуються в медичній практиці. Водночас методи, регламентовані міжнародними стандартами, враховують специфіку роботи з бактеріальними культурами, необхідність контролю за їхнім станом, умовами росту та дотриманням параметрів, що впливають на мінімальні інгібуючі та бактерицидні концентрації. Усі ці вимоги створюють основу для формування експериментальних підходів, що дають змогу адекватно оцінити потенціал поліфенольних екстрактів *Hamamelis vernalis* як природних антисептиків.

Методи, рекомендовані CLSI, включають широкий спектр підходів до визначення антимікробної активності, серед яких мікродилюційні, макродилюційні, дифузійні та методи визначення мінімальної інгібуючої концентрації. У процесі дослідження рослинних екстрактів особливу увагу приділяють мікродилюційним методам, оскільки вони дозволяють оцінити активність складних сумішей на основі спектрофотометричних або візуальних змін у культурі бактерій після контакту з екстрактом [15]. Підхід базується на інкубації стандартизованої кількості бактеріальних клітин у рідкому середовищі за наявності серійних розведень досліджуваного екстракту. Результатом такого аналізу є визначення найнижчої концентрації, яка пригнічує видимий ріст

бактерій, що позначається як мінімальна інгібуюча концентрація. Цей показник дозволяє оцінити силу антимікробного впливу та порівнювати ефективність екстрактів між собою або з положитними контролями [25].

Табл. 2 .Орієнтація антимікробних досліджень на стандарти CLSI та ISO

Стандарт	**Основна сфера застосування**	**Ключові параметри методології**	**Приклади тестів**
CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)	Мікробіологічна оцінка антимікробної активності у медичних та лабораторних умовах	Стандартизована концентрація інокулюму	Disk diffusion (M02), MIC (M07), MBC, тестування біоплівок
		Визначений діаметр дисків/дифузійних зон	
		Контроль температури та часу інкубації	
		Чіткі критерії інтерпретації результатів (S/I/R)	
ISO (International Organization for Standardization)	Антимікробні тести для фармацевтичних, косметичних і дезінфекційних засобів	Стандартизовані умови експозиції	ISO 20776 (антибіотики), ISO 11930 (ефективність консервантів), ISO 22196 (антибактеріальна активність поверхонь)
		Чіткі вимоги до поживних середовищ	
		Контроль відтворюваності	
		Оцінка ефективності у модельних умовах використання	

Дифузійні методи, до яких належить тест із паперовими дисками та метод лунок в агарі, широко застосовуються для первинного скринінгу антимікробної активності. Вони ґрунтуються на здатності екстракту дифундувати в поживне середовище та створювати зону інгібування навколо носія.

Протоколи CLSI описують точні умови виконання цих тестів: товщину агару, концентрацію середовища, стандартизацію інокулюму та тривалість інкубації. Дотримання цих параметрів дає змогу отримати зони інгібування, які відображають дифузійну здатність та антимікробну активність досліджуваного екстракту. Для рослинних препаратів ці тести особливо корисні на початковому

етапі дослідження, коли необхідно встановити, чи має екстракт широкий спектр антимікробного впливу та чи доцільно продовжувати детальний аналіз за допомогою методів точного кількісного визначення.

Використання підходів ISO спрямоване на розширення можливостей оцінювання антимікробної активності шляхом регламентування умов, що охоплюють широкий спектр мікробіологічних випробувань. Стандарти ISO містять детальні інструкції щодо роботи з різними типами бактеріальних культур, серед яких клінічні ізоляти, референтні штами та штами з відомими профілями резистентності [18]. Це особливо важливо у разі вивчення рослинних екстрактів, оскільки їхній механізм дії може відрізнятися залежно від структурних особливостей клітинної стінки бактерій. ISO передбачає також використання спеціальних середовищ для відтворення реалістичних умов росту та впливу екстракту, що уможливлює моделювання процесів, які відбуваються в клінічних або побутових умовах. Забезпечення стандартизованої підготовки інокуляту, точного підбору концентрацій та регламентованих умов інкубації підвищує достовірність отриманих результатів і дозволяє правильно інтерпретувати дані про антимікробний потенціал екстрактів Hamamelis vernalis [4].

Підбір контрольних штамів є невіддільним елементом антимікробних тестів, оскільки саме вони визначають коректність методики та достовірність результатів. Контрольні культури, рекомендовані CLSI та ISO, включають стандартні штами, які характеризуються стабільністю фенотипових властивостей, передбачуваною чутливістю до антимікробних агентів та можливістю широкого використання у різних лабораторіях. До таких штамів можна віднести Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 та інші, які є референтними моделями для оцінювання антимікробної активності. Використання цих бактерій дає змогу не лише оцінити ефективність екстракту, а й порівняти отримані результати з даними інших досліджень, що використовують аналогічні стандарти [16].

Контрольні штами виконують функцію внутрішнього маркера якості експерименту, оскільки їхні показники росту, стійкості та чутливості повинні точно відповідати встановленим межам. Якщо під час тесту спостерігається відхилення цих параметрів, це свідчить про можливі порушення у методиці або контамінацію середовища. Таким чином, контрольні штами створюють основу для гарантування якості експерименту, що дає змогу отримати достовірні дані про антимікробну активність екстрактів Hamamelis vernalis. До того ж вони дозволяють визначити, чи є екстракт потенційно придатним для подолання резистентних штамів, якщо в подальших дослідженнях планується використовувати клінічні ізоляти з відомим профілем стійкості.

Позитивні контролі відіграють у дослідженнях не менш важливу роль, оскільки вони визначають еталон антимікробної активності, з якою порівнюється ефективність рослинних екстрактів. Позитивними контролями можуть бути відомі антисептики, такі як хлоргексидин, етанол у певній концентрації, бензалконію хлорид або традиційні антибіотики, залежно від мети дослідження [9].

Усі ці речовини мають добре задокументовану активність та стандартизовані параметри інгібування росту бактерій, тому їхнє використання дає змогу оцінити силу впливу природних екстрактів. Бажано, щоб позитивний контроль мав механізм дії, який порівняною мірою відповідає передбачуваному механізму впливу екстракту Hamamelis vernalis, наприклад вплив на мембрану або інгібування ферментів, однак навіть у разі іншої природи дії позитивний контроль забезпечує можливість порівняння рівнів інгібування [26].

Введення негативних контролів, таких як чистий розчинник або середовище без активних компонентів, теж становить основу правильної оцінки антимікробного ефекту. Це дає можливість встановити, чи не впливає на бактерії сам розчинник, як-от гліцерин або вода з низьким вмістом спирту, що дозволяє відокремити дію екстракту від фонових факторів.

У випадку рослинних екстрактів контроль розчинника є особливо важливим, оскільки багато носіїв можуть мати мінімальний антимікробний вплив, що здатне викривлювати результати у разі неправильного використання

негативних контролів. Одним із аспектів стандартизації антимікробних тестів є визначення оптимальної концентрації бактеріальних клітин, яка має бути ідентичною в кожному тесті [44]. Стандарти CLSI рекомендують використовувати інокулюм, еквівалентний щільності 0,5 за шкалою Мак-Фарланда, що відповідає приблизно $1,5 \times 10^8$ КУО/мл. Така стандартизація необхідна, щоб уникнути варіацій у результатах, пов'язаних із надто великою або надто малою кількістю бактерій. Висока щільність бактерій може знижувати ефективність екстракту через швидке споживання поживних речовин, тоді як низька щільність здатна створювати хибне враження сильнішої антимікробної активності. Тому суворий контроль кількості клітин забезпечує точність порівняння різних серій експериментів [14].

У межах тестів, які проводяться згідно зі стандартами ISO, часто оцінюють не лише мінімальну інгібуючу концентрацію, а й мінімальну бактерицидну концентрацію. Остання визначає найнижчу концентрацію екстракту, здатну знищити певний відсоток бактеріальних клітин, і вважається більш точним показником повної антимікробної дії. Для природних екстрактів, до яких належать препарати Hamamelis vernalis, це має особливе значення, оскільки вони можуть виявляти як бактеріостатичний, так і бактерицидний ефект залежно від концентрації, часу експозиції та типу бактерій. Розрізнення цих двох типів впливу дозволяє визначити оптимальні параметри використання екстракту у медичних і побутових умовах [29].

Табл. 3. Рекомендовані контрольні штами та позитивні контролі для антимікробних тестів

Категорія	**Приклад контрольного штаму**	**Призначення у тестуванні**	**Позитивний контроль**
Грампозитивні бактерії	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 / 29213	Перевірка ефективності проти кокових патогенів	Антибіотик: ванкоміцин або цефазолін
Грамнегативні бактерії	*Escherichia coli* ATCC 25922	Валідація активності проти ентеробактерій	Антибіотик: гентаміцин або ципрофлоксацин
Проблемні патогени	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853	Оцінка дії на резистентні та біоплівкоутворюючі штами	Антибіотик: піперацилін/тазобактам

Грибкові мікроорганізми (за потреби)	*Candida albicans* ATCC 10231	Тестування протигрибкової активності	Флуконазол
Контроль чистоти середовища	Sterility control (без інокулюму)	Підтвердження відсутності контамінації	—

Стандарти CLSI та ISO регламентують також умови інкубації, які включають температуру, тривалість та атмосферу. У більшості випадків бактерії інкубують за температури 35–37 °C протягом 18–24 годин, але деякі види потребують особливих умов, таких як підвищена вологість або мікроаерофільна атмосфера. Усі ці параметри повинні суворо відповідати протоколу, оскільки будь-які відхилення можуть впливати на активність бактерій і, відповідно, на результат тесту. У разі вивчення рослинних екстрактів необхідно враховувати, що деякі компоненти можуть піддаватися деградації в умовах тривалої інкубації або взаємодіяти з поживним середовищем, змінюючи його властивості. Це вимагає попередніх тестів на стабільність екстракту, щоб переконатися у правильності умов інкубації та визначити оптимальний інтервал експозиції.

Елементом стандартизованого підходу є оцінка можливого впливу кольору або прозорості екстракту на методики, що базуються на спектрофотометрії. Поліфенольні сполуки *Hamamelis vernalis* часто мають інтенсивне забарвлення, яке може впливати на оптичні вимірювання в рідких культурах [18].

У зв’язку з цим необхідно передбачити використання корекційних розчинів або додаткових контрольних лунок, щоб відокремити оптичну щільність екстракту від показників росту бактерій. Цей підхід дає змогу уникнути хибнопозитивних результатів та забезпечити точність визначення мінімальної інгібуючої концентрації [4].

1.5. Вимоги до антисептиків: регуляторні аспекти, безпечність для шкіри, консервування, pH

Регуляторні аспекти визначають нормативну базу, за якою антисептичні продукти класифікуються, оцінюються та допускаються до обігу. У більшості країн світу, зокрема в Європейському Союзі та США, антисептики можуть підпадати під регулювання як фармацевтичні, так і косметичні засоби залежно

від заявленої мети використання. Якщо продукт позиціонується як засіб для профілактики інфекційних уражень або обробки пошкодженої шкіри, він розглядається як препарат медичного призначення і має відповідати вимогам фармакопей, токсикологічним стандартам і нормам, що регулюють засоби з антимікробною активністю. Регуляторні органи вимагають проведення мікробіологічних тестів, стабільнісних досліджень, аналізу активних компонентів та доказів того, що засіб демонструє відтворювану антимікробну дію під час використання в умовах, максимально наближених до реальних.

У випадку антисептиків на основі природних екстрактів, зокрема поліфенольних комплексів *Hamamelis vernalis*, регуляторні вимоги охоплюють як оцінювання антимікробних властивостей, так і повний аналіз компонентного складу. Рослинні засоби повинні відповідати нормам щодо вмісту залишкових розчинників, мікробіологічної чистоти, відсутності токсичних домішок, пестицидів, важких металів та небажаних метаболітів.

Також проводяться дослідження впливу продукту на шкіру, включно з оцінкою подразнюючого, сенсибілізуючого та фототоксичного потенціалу. Для засобів, що застосовуються на ушкодженій шкірі або слизових оболонках, вимоги є ще суворішими, оскільки такі ділянки є більш вразливими до токсичних впливів. Регуляторна документація містить вимоги до контролю виробничого процесу, перевірки якості кожної серії, а також дотримання принципів належної виробничої практики [25].

Безпечність для шкіри є центральним критерієм для будь-якого антисептика, особливо якщо він містить природні екстракти, концентровані поліфенольні речовини або розчинники, що можуть взаємодіяти з ліпідним бар’єром [17].

Шкіра має складну структуру, в якій роговий шар виконує роль бар’єра, що запобігає втраті води та проникненню патогенних мікроорганізмів. Антисептик не повинен порушувати цей бар’єр, не повинен надмірно знежирювати поверхню, спричиняти еритему або посилювати чутливість. Рослинні поліфеноли, характерні для *Hamamelis vernalis*, мають здатність зв’язувати білки, тому їхня концентрація повинна контролюватися, щоб не викликати надмірну

стягнутість або подразнення. Дерматологічні дослідження проводяться із залученням добровольців або за допомогою ex vivo моделей для оцінки взаємодії засобу з роговим шаром, визначення рівня гідратації шкіри після застосування та оцінювання цілісності ліпідних структур.

Проблема сенсибілізації також має значення під час роботи з природними екстрактами. Деякі фенольні сполуки можуть спричиняти індивідуальну реакцію у людей з підвищеною чутливістю, тому тестування на алергенність є обов'язковим елементом підготовки антисептика до комерційного застосування. Вивчення безпечності включає визначення максимально допустимої концентрації активних компонентів, оцінку сумісності антисептика з іншими засобами догляду та аналіз впливу на мікробіом шкіри, який виконує функції природного захисту організму. Антисептик повинен знижувати кількість патогенних мікроорганізмів, не порушуючи стабільність нормальної бактеріальної флори або принаймні мінімізуючи такі порушення [25].

У контексті безпечності окрему увагу приділяють розчинникам і допоміжним компонентам. Етанол, пропіленгліколь, гліцерин, гідрофільні полімери та поверхнево-активні речовини впливають на проникність шкіри та можуть модифікувати дію активних метаболітів.

Гліцерин використовують для створення м'яких антисептичних форм, оскільки він зволожує шкіру, знижує подразнення та полегшує проникнення поліфенольних сполук. Етанол забезпечує швидку антимікробну дію, але підвищує сухість, що вимагає додаткового включення зволожувальних агентів. Використання надкритичних екстрактів може підвищувати ризик концентрації надто активних компонентів, тому такі формули потребують ретельного контролю дерматологічної сумісності.

Консервування є обов'язковим елементом технології, оскільки антисептичні засоби містять воду, поліфенольні компоненти та інші органічні сполуки, здатні сприяти росту мікроорганізмів. Навіть якщо сам екстракт має антимікробні властивості, це не гарантує стабільності продукту протягом тривалого зберігання. Консерванти мають забезпечувати стабільність засобу протягом усього терміну придатності, не вступаючи у небажані реакції з

поліфенольними компонентами та не знижуючи антисептичну активність. У випадку природних екстрактів необхідно враховувати, що деякі консерванти можуть реагувати з танінами, утворюючи комплекси, які змінюють текстуру або колір препарату. Тому вибір консервантів здійснюється з огляду на хімічну сумісність, стабільність у широкому діапазоні температур, відсутність подразнюючого ефекту та виконання вимог мікробіологічної безпеки.

У косметичних антисептичних засобах часто застосовують сорбат калію, бензиалкоголь, органічні кислоти або їхні солі. У фармацевтичних формах можуть використовувати парабени або хлорбутанол, але тенденції розвитку ринку спрямовані на зменшення використання синтетичних консервантів, які мають потенціал сенсибілізації [19].

Антисептики на основі *Hamamelis vernalis* особливо потребують ретельно підібраної системи консервування, оскільки поліфеноли чутливі до окиснення, а екстракти здатні змінювати pH, впливаючи на активність консервантів. Важливим аспектом є рівномірний розподіл консервантів у формулі, що забезпечує їхню дію в усіх частинах препарату, та відсутність взаємодії з компонентами, що утворюють гелеві структури або ліпосомальні інкапсуляти [34].

Показник pH є критичним параметром для формування антисептичного засобу, оскільки він впливає на стабільність активних речовин, їхню біодоступність, сумісність зі шкірою та ефективність антимікробної дії. Нормальний pH шкіри коливається в межах 4,5–5,5, що підтримує природну кислотну мантію, яка виконує бар'єрну функцію і пригнічує розвиток патогенних бактерій. Антисептик повинен або зберігати цей діапазон, або, у разі відхилення, мати механізми, які запобігають подразненню та не порушують фізіологічний стан шкіри. Деякі поліфенольні сполуки демонструють більшу стабільність у слабокислих умовах, тому формула антисептика має бути адаптована до їхніх хімічних характеристик. У надто кислих або надто лужних середовищах можливий гідроліз танінів, окиснення флавоноїдів або зміна структури проантоціанідинидів, що впливає на антимікробні властивості [39].

РОЗДІЛ 2
ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об'єкт дослідження

Робота виконана на базі кафедри екобіотехнології та біорізноманіття ФЗРБтаЕ НУБіП України. Об'єктом дослідження були антибактеріальні та фітотоксичні властивості рослинних екстрактів Hamamelis vernalis.

2.2 Методи дослідження

2.2.1 Фізико-хімічні характеристики водної витяжки Hamamelis vernalis.

Витяжки були отримані з відділу дендрології Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка. Водні витяжки з сухої рослинної сировини квітів були приготовані у співвідношенні (сировина : розчинник) − 1:10. Рівень pH стокового розчину становив 5,8. У дослідженнях фітотоксичності використовували розведення вихідного розчину 1: 50 та 1:100, у дослідженні антибактеріальних властивостей – стоковий розчин (1:10).

Розчин мав легке жовте забарвлення, осад відсутній.

2.2.2 Дослідження фітотоксичної дії витяжки Hamamelis vernalis.

У дослідженні використовували цибулю (Allium cepa, L., родина Amaryllidaceae) сорту Штутгартер Різен. Цибулини розділяли на групи по 5 штук у кожній. Контрольну групу вирощування на дистильованій воді, дослідні групи: вирощування на серії розведень екстракту Hamamelis vernalis. Робочий розчин готували:1) шляхом десятикратного розведення вихідного екстракту дистильованою водою до отримання кінцевої концентрації 1%; 2) шляхом

змішування з дистильованою водою у співвідношенні 1:1 було отримано робочу концентрацію 5%.

Зовнішні луски цибулин та коричневу нижню пластинку видаляли, залишаючи кільце первинного кореня неушкодженим. Очищені цибулини поміщали у свіжу водопровідну воду під час процедури очищення, щоб захистити від висихання. Після цього цибулини поміщали в досліджувані розчини та контроль – дистильовану воду [1]. Експозицію проводили протягом 48 (або 72) годин при температурі 24± 2°С у термостаті.

Фітотоксичну дію оцінювали за інтенсивністю росту коренів. Вимірювання довжини кореневих пучків проводили кожні 24 години з використанням програмного забезпечення ImageJ.JS (рис.2) .

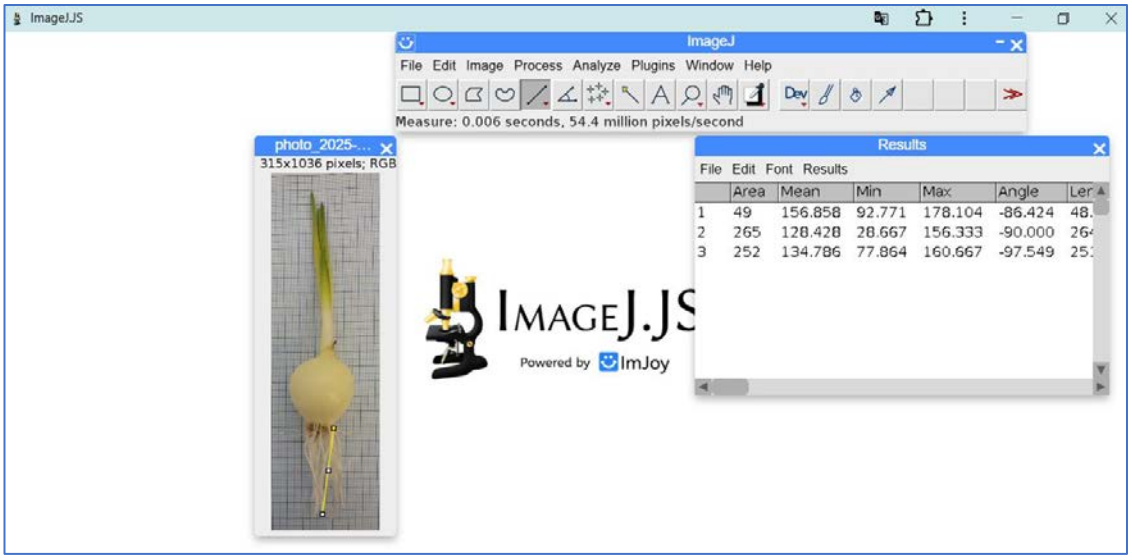


Рис.2.2 Вимірювання довжини коренів *Allium cep*а, L. з допомогою програми ImageJ.JS

Для встановленя інгібуючої дії екстракту розраховували індекс гальмування росту (Ig) за формулою:

$$Ig = ((Lc – Le) / Lc) \times 100\%$$, де:

Lc (Control length) — середня довжина коренів у контрольній групі, мм;

Le (Experiment length) — середня довжина коренів у дослідній групі, мм [1].

2.2.3 Дослідження антибактеріальної активності витяжки *Hamamelis vernalis*

Для оцінки антибактеріального потенціалу екстрактів використовували еталонні штами бактерій *Escherichia coli*. Суспензію бактерій рівномірно наносили на поверхню стерильного агару Мюллера-Хінтона у чашках Петрі за допомогою стерильного шпателя або ватного тампона для отримання «суцільного газону». Робочу суспензію мікроорганізмів готували згідно зі стандартом мутності МакФарланда (0,5 одиниць), що відповідає концентрації 1,5 $\times 10^8$ КУО/мл [2].

Приготування середовища. Використовували готову суміш, склад агару Мюллера-Хінтона (ООО "Фармактив" Україна) на 1 літр очищеної води:

Пептон ферментативний - 17 г/л

Агар мікробіологічний - 15 г/л

Крохмаль - 1,5 г/л

Дріжджовий екстракт - 0,5 г/л

Середовище МН готували з розрахунку 34 г середовища в одному літрі дистильованої води. Добре перемішували і розчиняли шляхом нагрівання при частому помішуванні. Кип'ятили 2-3 хв до повного розчинення компонентів та автоклавували при температурі 121 °С протягом 15 хв. Після автоклавування вимірювали рівень pH, який становив 7,3 при 25 °С.

Середовище охолоджували до 50-45 °С та розливали в стерильні чашки Петрі по 20 мл, підсушували, дотримуючись правил асептики. Глибина шару агару становила 4 мм. Чашки Петрі з агаром зберігали при температурі від 4 до 8°С у холодильнику.

Приготування культури бактерій *Escherichia coli.* У дослідженнях використовували добову робочу культуру другого перепасування. Еталонні штами зберігали на скошеному агарі в холодильнику.

Для першого перепасування зі зразка зберігання бактерії висівали на щільне поживне середовище агар Мюллера-Хінтона для отримання ізольованих колоній. Інкубували 24 години при 37°С. У другому перепасуванні типову ізольовану колонію пересівали на нову чашку або скошений агар, що гарантувало

чистоту та однорідність популяції. Використовували культуру віком 18–24 години.

Стандартизацію бактеріального інокуляту проводили з використанням спектрофотометра СФ-46 при довжині хвилі λ= 600 нм у кюветі з робочою довжиною 10 мм. Стерильною бактеріологічною петлею обережно знімали кілька однотипних колоній з поверхні агару, вносили у пробірку з 3–5 мл стерильного 0,9% розчину NaCl. Суспензію ретельно перемішували та інтенсивно розтирали петлею об стінку пробірки під шаром рідини, щоб уникнути утворення пластівців. Суспензію мікроорганізмів у фізіологічному розчині доводили до показників оптичної густини OD = 0,08 – 0,13, що еквівалентно стандарту мутності 0,5 за МакФарландом ($1,5 \times 10^8$ КУО/мл).

Робочу стандартизовану культуру висівали на чашки Петрі методом «газону». В центр чашки нанесли 100 мкл суспензії, стерильним скляним шпателем розподіляли рідину круговими рухами по всій поверхні до повного всмоктування вологи. Після нанесення суспензії залишали чашки з привідкритою кришкою у ламінарбоксі на 15 хвилин, щоб поверхня агару стала сухою.

Стерильні диски без просочення діаметром 6 мм (ТОВ "Укрмедіаснаб") поміщали у порожню стерильну чашку Петрі. Далі мікропіпеткою наносили на кожний диск фіксований об'єм екстракту (10 мкл). Диски залишали підсохнути 15 хвилин у ламінарі. Фільтрувальні диски, просочені 10 мкл дистильованої води, використовували як негативний контроль.

За допомогою стерильного пінцета розкладали диски на агар на відстані не менше 20 мм один від одного та від краю чашки, злегка притискували кожен диск для щільного прилягання до агару. Після розміщення дисків чашки перевертали догори дном і поміщали в термостат при температурі 35°С на 16–18 годин.

Вимірювання зони пригнічення росту. Цифрову обробку результатів проводили за допомогою програмного забезпечення ImageJ.JS (рис.2).

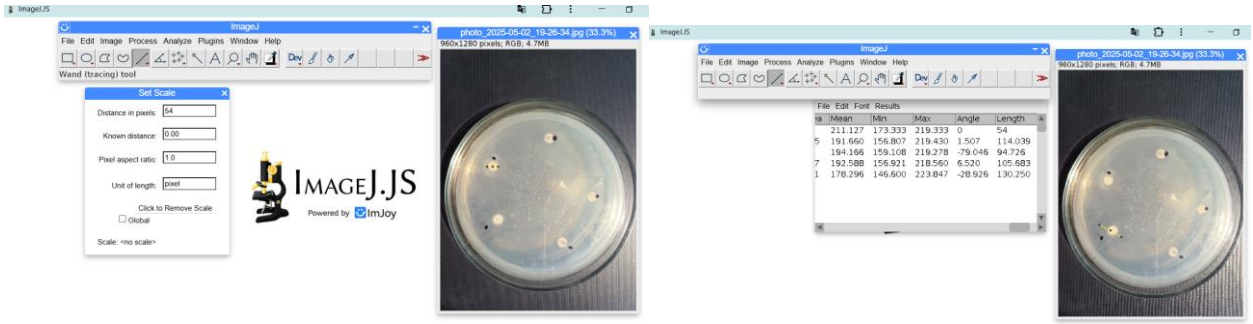


Рис.3 Вимірювання зони пригнічення з допомогою програми ImageJ.JS

Знімки чашок Петрі отримували у форматі JPEG при стандартизованому освітленні. Калібрування геометричних параметрів здійснювали за діаметром паперових дисків (6,0 мм). Вимірювання діаметрів зон інгібування росту проводили у двох взаємно перпендикулярних напрямках з подальшим розрахунком середнього арифметичного значення.

Методи статистичної обробки результатів. Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою пакету програм Microsoft Excel. Усі експерименти виконували у трьох біологічних повторностях. Для показників фітотоксичності (Allium тест) розраховували середнє арифметичне значення (M) та стандартну похибку середнього (m).

Для показників антибактеріальної активності (метод дисків) результати вимірювань діаметрів зон інгібування росту, отримані в програмі ImageJ.JS, піддавали варіаційному статистичному аналізу. Визначали середнє квадратичне відхилення (SD) для оцінки варіабельності чутливості ізолятів до екстрактів.

РОЗДІЛ 3
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Дослідження фітотоксичності водного екстракту *Hamamelis vernalis*

Токсичність рослинних екстрактів залежить від кількох факторів, що включають метод екстракції, хімічний склад, дозування та взаємодію з іншими речовинами. Навіть якщо деякі екстракти вважаються корисними, якщо їх вживати у великих кількостях, вони можуть бути токсичними, тому вкрай важливим є оцінка цитотоксичного потенціалу рослинних екстрактів, щоб переконатися в їх нешкідливості. З іншого боку, виявлення цитотоксичних ефектів може розширити сферу застосування майбутніх препаратів, визначивши їхній інгібуючий потенціал. Матеріали рослинного походження, такі як цілі рослини, насіння, органи та тканини, виявилися придатними для моніторингу цитотоксичності при впливі різних хімічних агентів [1,2]. Тест Allium cepa – це експериментальна модель in vivo, яка використовується для оцінки пошкодження ДНК шляхом виявлення хромосомних аберацій та порушень, що виникають у мітотичному циклі внаслідок дії різних мутагенних агентів. Потенційна цитотоксичність терапевтичних препаратів (наприклад, доксорубіцину, ерлотибіну, металопрепаратів, невірапіну тощо) [2], харчових добавок та добавок до кормів для тварин була протестована за допомогою аналізу Allium cepa [3]. Крім того, модель Allium cepa була описана як «попереджувальний» біоіндикатор для виявлення генотоксичності лікарських рослин» [4]. Тому метою наших досліджень було встановлення потенціалу водного екстракту Hamamelis vernalis щодо цитотоксичної дії, цей підхід дозволяє комплексно проаналізувати вплив біологічно активних речовин екстракту на інтенсивність мітотичного поділу та виявити можливі відхилення у розвитку кореневої меристеми, що є критичним для стандартизації нової рослинної сировини.

На початковому етапі досліджень було проведено візуальну оцінку та порівняльний морфологічний аналіз розвитку рослин з цибулин *Allium cepa* L.,

вирощених у контрольному середовищі та у присутності водного екстракту *Hamamelis vernalis.* Дія досліджуваного екстракту призвела до чітко виражених морфологічних змін, які зачіпали як кореневу систему, так і надземну частину рослини (Рис. 1).

Рис.4. Розвиток кореневої системи *Allium cepa* L під впливом екстаркту *Hamamelis vernalis*



Візуальний аналіз, представлений на Рис. 1, демонструє очевидну різницю у розвитку проростків *Allium cepa* L. залежно від умов культивування. Контрольна група проростків, що вирощувалася на дистильованій воді, демонструвала ознаки типового морфогенезу. Коренева система представлена численними білими, видовженими корінцями з неушкодженими апікальними зонами. Поверхня коренів гладка, без видимих деформацій чи некротичних ділянок, надземна частина характеризувалася інтенсивним ростом, яскраво-зеленим забарвленням та збереженням вертикальної орієнтації. Така морфологічна картина свідчить про фізіологічний оптимум та відсутність

зовнішнього інгібуючого впливу. Водночас, проростки, які перебували під дією водного екстракту *Hamamelis vernalis*, продемонстрували значні морфологічні відхилення. Найбільш помітною зміною стало сильне скорочення довжини коренів та їх деформація, що однозначно вказує на пригнічення мітотичної активності в кореневій меристемі та загальну фітотоксичність екстракту в даній концентрації (табл 4).

Таблиця 4. Узагальнені морфологічні зміни, що розвивалися в проростків *Allium cepa* L. під впливом екстракту *H. vernalis*

Ознака	**Контроль**	**Дослід (*H. vernalis*)**
Колір коренів	Білий, напівпрозорий	Темно-коричневий, некротизований
Довжина коренів	Значна (видовжені)	Різко вкорочені (інгібування)
Стан кінчиків коренів	Гострі, життєздатні	Потовщені, деформовані
Розвиток пагона	Інтенсивний, видовжений	Сповільнений, вкорочений

Порівняння двох варіантів застосування екстракту – 1% і 5% виявило значне інгібування розвитку кореневої системи (табл.5).

Таблиця 5. Показники інгібування росту коренів Allium cepa L. залежно від концентрації екстракту H. Vernalis.

Варіант	**Концентрація екстракту**	**Середня довжина коренів, мм**	**Індекс інгібування росту (I%)**
Контроль (К)	0 (вода)	23,8±1,4	-
Екстракт Vв1	1%	6,9±0,8	71
Екстракт Vв5	5%	4,1±0,7	83

Аналіз морфометричних показників проростків *Allium cepa* L. (Табл. 2) виявив виражений дозозалежний інгібуючий ефект водного екстракту *Hamamelis*

vernalis. У контрольному варіанті середня довжина коренів становила 23,8 ± 1,4 мм, що відповідає нормативним показникам для даної тест-системи. При застосуванні 1% розчину екстракту спостерігається стрімке скорочення довжини кореневої системи до 6,9 ± 0,8 мм, що відповідає індексу інгібування росту (I%) на рівні 71%. Подальше збільшення концентрації до 5% призводить до майже повного пригнічення росту коренів — середня довжина становить лише 4,1 ± 0,7 мм, а показник інгібування зростає до 83%. Такі дані свідчать про те, що критичне пригнічення меристематичної активності відбувається вже за мінімальних концентрацій екстракту.

На основі отриманих даних можна сформулювати такий висновок, що водний екстракт *Hamamelis vernalis* характеризується високим рівнем фітотоксичності щодо проростків *Allium cepa* L. Навіть за відносно низької концентрації (1%) спостерігається інгібування росту кореневої системи понад 70%, що свідчить про глибоке порушення процесів клітинного поділу та розтягування. З огляду на отримані результати, використання даного екстракту як основи для природних антисептиків потребує подальшої спрямованої модифікації концентраційного режиму або методів очищення для мінімізації цитотоксичного впливу на живі тканини.

3.2 Дослідження антибактеріальної активності витяжки *Hamamelis vernalis*

Наступним етапом нашої роботи стало вивчення антибактеріального потенціалу водного екстракту *Hamamelis vernalis*. Пошук нових фітопрепаратів із вираженими антисептичними властивостями є актуальним завданням сучасної біотехнології, зважаючи на зростаючу резистентність мікроорганізмів до синтетичних антибіотиків. Враховуючи багатий вміст специфічних танінів та флавоноїдів у сировині гамамелісу, ми провели серію експериментів щодо визначення прямої інгібуючої дії витяжки на тест-штами бактерій *Escherichia coli.* Дослідження базувалося на визначенні здатності екстракту пригнічувати

життєдіяльність бактеріальних культур у стандартизованих умовах *in vitro* методом дифузії в агар.

Як тест-об'єкт було обрано штам *Escherichia coli*, що є стандартним модельним організмом для первинного скринінгу нових протимікробних засобів. Використання *E. coli* дозволяє оцінити здатність активних компонентів екстракту (зокрема галотанінів) проникати крізь складну клітинну стінку грамнегативних бактерій та інгібувати їхній метаболізм. Бактерія *E. coli* належить до грамнегативних мікроорганізмів, а вони часто стійкіші до екстрактів, ніж грампозитивні (як, наприклад *Staphylococcus*).

Проведені дослідження підтвердили наявність антибактеріальної активності водного екстракту *Hamamelis vernalis* щодо тест-штаму *Escherichia coli*. Встановлено, що інгібуючий ефект проявляється вже при мінімальній концентрації 1%, що візуалізується як чітка зона відсутності росту бактерій навколо місця внесення екстракту (рис.5).

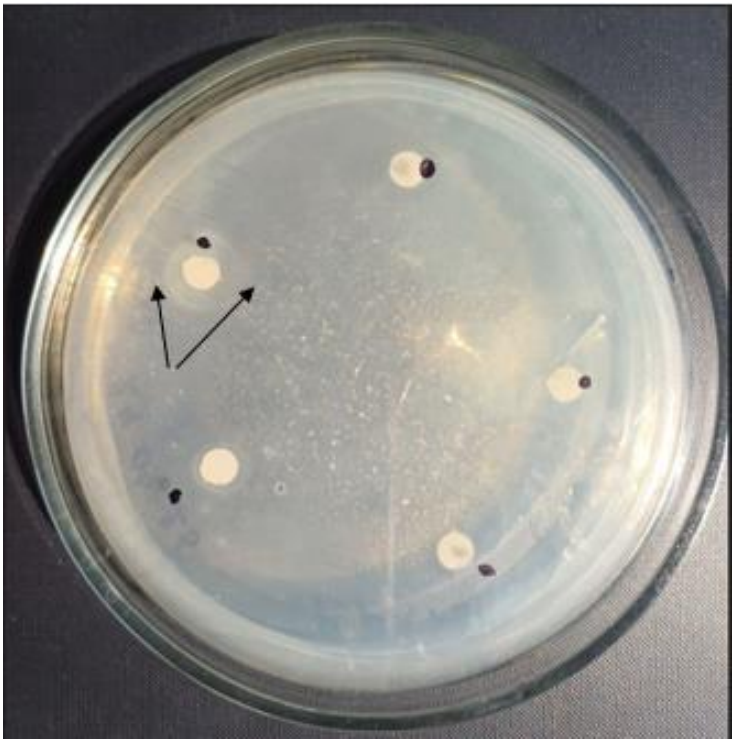


Рис.5. Антибактеріальна активність 1% водного екстракту *Hamamelis vernalis* щодо *Escherichia coli* (метод дифузії в агар)

Щодо антибактеріальної активності водних екстрактів *Hamamelis* є публікації, які також демонструють пригнічення росту культури у дослідженнях методом дифузії в агар. Це було продемонстровано на широкому спектрі видів

бактерій [1]. Крім того, було показано, що поєднання активних екстрактів з вибраними звичайними антибіотиками посилювало пригнічення росту бактерій у деяких комбінаціях, тоді як інші комбінації залишалися неінтерактивними. Синергетичних або антагоністичних взаємодій для жодних комбінацій екстрактів гаммамелісу та антибіотиків не спостерігалося [2].

При збільшенні концентрації до 5% спостерігалося розширення зони інгібування, що свідчить про посилення антимікробної дії та пряму залежність ефективності препарату від вмісту активних речовин у витяжці (рис.6).

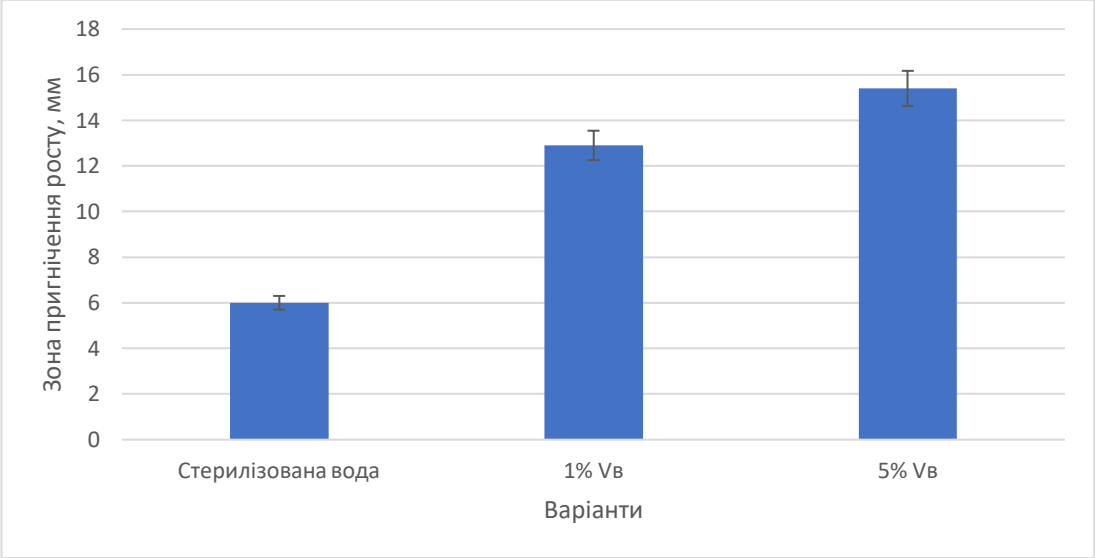


Рис.6. Антибактеріальна активність екстрактів *Hamamelis vernali* на агарі проти *E. coli*

Отримані дані вказують на те, що компоненти екстракту гамамелісу здатні ефективно долати захисний бар'єр клітинної стінки грамнегативних бактерій, пригнічуючи розвиток культури *E. coli*.

Узагальнюючи результати проведених експериментів (Табл. 6), можна констатувати наявність комплексної біологічної дії водного екстракту *Hamamelis vernalis*.

Таблиця 6. Порівняння показників фітотоксичності та антибактеріальної активності двох концентрацій водного екстракту *Hamamelis vernalis*

Об’єкт дослідження	Показник активності	Контроль	Екстракт 1%	Екстракт 5%
Рослинна тест-система (*Allium cepa* L.)	Середня довжина коренів, мм	23,8 ± 1,4	6,9 ± 0,8	4,1 ± 0,7

	Індекс інгібування росту (I%), %	0	71	83%
Бактеріальна культура (*Escherichia coli*)	Наявність і розміри зони інгібування, мм	Відсутня	12,9±0,5	15,4±0,4

З одного боку, встановлено виражений протимікробний потенціал щодо *E. coli* вже при 1% концентрації. З іншого боку, ці ж концентрації виявляють значну фітотоксичність, що проявляється у пригніченні росту кореневої системи модельних об'єктів. Таке поєднання властивостей вказує на те, що активні компоненти гамамелісу (зокрема галотаніни та флавоноїди) мають потужний вплив на клітинний метаболізм як прокаріотів, так і еукаріотів. Для подальшого біотехнологічного застосування екстракту як антисептика доцільним є пошук "терапевтичного вікна" — концентрацій нижче 1%, де антибактеріальний ефект зберігатиметься при одночасному зниженні загальної цитотоксичності.

ВИСНОВОК

1. Встановлено, що водний екстракт Hamamelis vernalis характеризується високим рівнем фітотоксичності щодо проростків Allium cepa L. За відносно низької концентрації (1%) спостерігається інгібування росту кореневої системи понад 70%, що свідчить про глибоке порушення процесів клітинного поділу та розтягування. З огляду на отримані результати, використання даного екстракту як основи для природних антисептиків потребує подальшої спрямованої модифікації концентраційного режиму або методів очищення для мінімізації цитотоксичного впливу на живі тканини.

2. Результати проведеного дослідження підтверджують виражену антибактеріальну активність водного екстракту Hamamelis vernalis щодо грамнегативної тест-культури Escherichia coli. Встановлено, що інгібуючий вплив на мікроорганізми має чітко виражений дозозалежний характер: при концентрації 1% спостерігається формування зон пригнічення росту бактерій, які суттєво розширюються при збільшенні концентрації до 5%.

3. Водний екстракт Hamamelis vernalis є перспективною основою для розробки нових природних антисептичних засобів. Водночас виявлена паралельна фітотоксичність (згідно з результатами Allium-тесту) вказує на необхідність подальшої оптимізації дозування з метою досягнення максимального антибактеріального ефекту при мінімальному цитотоксичному впливі на живі тканини.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Грицан Л. Д. Досвід викладання теми “екстракція” в курсі фізичної та колоїдної хімії у вищому фармацевтичному навчальному закладі. Медична освіта. 2013. № 4. URL: https://doi.org/10.11603/me.v0i4.1335(дата звернення: 07.12.2025).

2. Екстракція та характеристика пектинів з кірок дині: експериментальний огляд / Є. Б. Медведков та ін. Journal of chemistry and technologies. 2022. Т. 29, № 4. С. 650–659. URL: https://doi.org/10.15421/jchemtech.v29i4.252250(дата звернення: 07.12.2025).

3. Іванько Л. С. Іммобілізовані на кремнеземі антрахінони, флавоноїди та визначення Sn (4), Ti (3), Zr (4) та флуориду : автореф. дис. … канд. хім. наук. Київ, 2001. 18 с.

4. Маслов Д. Надкритична флюїдна екстракція. Public communication in science: philosophical, cultural, political, economic and it context / chair H. Синяєва. 2020. URL: https://doi.org/10.36074/15.05.2020.v2.39(дата звернення: 07.12.2025).

5. Маслов Д. Надкритична флюїдна хроматографія. Integración de las ciencias fundamentales y aplicadas en el paradigma de la sociedad post-industrial / chair H. Синяєва. 2020. URL: https://doi.org/10.36074/24.04.2020.v3.04(дата звернення: 07.12.2025).

6. Старова В. С. Екстракція катіонних форм органічних речовин міцелярними фазами на основі додецилсульфату натрію : автореф. дис. … канд. хім. наук. Київ, 2011. 20 с.

7. Студеняк Я. І. Екстракція роданідних комплексів деяких d-елементів з ціаніновими барвниками. : автореф. дис. … канд. хім. наук. К., 1994. 22 с.

8. Царук І., Мага І. Екстракція біологічно-активних речовин деревію звичайного (Achillea millefolium L.) та застосування їх у фітотерапії. Problems of Environmental Biotechnology. 2024. № 1-2. URL: https://doi.org/10.18372/2306-6407.1.18933(дата звернення: 07.12.2025).

9. Anderson E. Hamamelis Vernalis Sarg. The Ozark witch-hazel. Bulletin of popular information - Arnold Arboretum, Harvard University.1934. Vol. 2, no. 1. P. 1–4. URL: https://doi.org/10.5962/p.322247(date of access: 07.12.2025).

10. Anderson E. Variation in Flower Color in Hamamelis vernalis. Journal of the Arnold Arboretum. 1933. Vol. 14, no. 3. P. 253–257. URL: https://doi.org/10.5962/p.185282(date of access: 07.12.2025).

11. Bährle-Rapp M. Hamamelis virginiana. Springer Lexikon Kosmetik und Körperpflege. Berlin, Heidelberg, 2007. P. 244. URL: https://doi.org/10.1007/978-3-540-71095-0_4575(date of access: 07.12.2025).

12. Chang Y.-S., 張詠昇. Quantitative Structure-Activity Relationship of Flavonoid Antioxidants : thesis. 2005. URL: http://ndltd.ncl.edu.tw/handle/15526659025148038238(date of access: 07.12.2025).

13. Cheynier V., Rigaud J., da Silva J. M. R. Structure of Procyanidin Oligomers Isolated From Grape Seeds in Relation to Some of their Chemical Properties. Plant Polyphenols. Boston, MA, 1992. P. 281–294. URL: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3476-1_16(date of access: 07.12.2025).

14. Chiral Methods of Flavonoid Analysis / J. A. Yáñez et al. FLAVONOID PHARMACOKINETICS. Hoboken, NJ, USA, 2012. P. 117–159. URL: https://doi.org/10.1002/9781118468524.ch3(date of access: 07.12.2025).

15. Clinical Pharmacokinetics of Flavonoids / C. L. Sayre et al. FLAVONOID PHARMACOKINETICS. Hoboken, NJ, USA, 2012. P. 195–247. URL: https://doi.org/10.1002/9781118468524.ch5(date of access: 07.12.2025).

16. Extraction of polyphenolic compounds from grape processing products by low-temperature eutectic solvent betaine-lactic acid / V. Vorobyova et al. Technical sciences and technologies. 2022. No. 4(30). P. 140–147. URL: https://doi.org/10.25140/2411-5363-2022-4(30)-140-147(date of access: 07.12.2025).

17. Fischer B., Hartwich C. Hamamelis. Hagers Handbuch der Pharmaceutischen Praxis. Berlin, Heidelberg, 1910. P. 3–5. URL: https://doi.org/10.1007/978-3-662-41202-2_2(date of access: 07.12.2025).

18. FLAVONOID PHARMACOKINETICS / ed. by N. M. Davies, J. A. Yáñez. Hoboken, NJ, USA : John Wiley & Sons, Inc., 2012. URL: https://doi.org/10.1002/9781118468524(date of access: 07.12.2025).

19. Flavonoids and Drug Interactions / J. A. Yáñez et al. FLAVONOID PHARMACOKINETICS. Hoboken, NJ, USA, 2012. P. 281–319. URL: https://doi.org/10.1002/9781118468524.ch7(date of access: 07.12.2025).

20. Gottlieb O. R. Plant Phenolics as Expressions of Biological Diversity. Plant Polyphenols. Boston, MA, 1992. P. 523–538. URL: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3476-1_30(date of access: 07.12.2025).

21. Haiduk K., Sviatnyi V. EXTRACTION OF NOTIONS AND CONCEPTS FROM NL TEXTS ON THE BASIS OF ASSOCIATION MEASURES. Naukovyi visnyk Donetskoho natsionalnoho tekhnichnoho universytetu. 2020. P. 13–26. URL: https://doi.org/10.31474/2415-7902-2020-1(4)-2(5)-13-26(date of access: 07.12.2025).

22. Hamamelis. Bulletin of popular information - Arnold Arboretum, Harvard University.1918. Vol. 4, no. 3. P. 10–11. URL: https://doi.org/10.5962/p.320801(date of access: 07.12.2025).

23. Hamamelis vernalis. Bulletin of popular information - Arnold Arboretum, Harvard University.1927. Vol. 1, no. 18. P. 70–72. URL: https://doi.org/10.5962/p.321894(date of access: 07.12.2025).

24. Hamamelis vernalis. CABI Compendium. 2022. CABI Compendium. URL: https://doi.org/10.1079/cabicompendium.26421(date of access: 07.12.2025).

25. Hergert H. L. The Nature of Non-Proanthocyanidin Units in ‘Condensed Tannins’ from Conifer Wood and Bark. Plant Polyphenols. Boston, MA, 1992. P. 385–409. URL: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3476-1_21(date of access: 07.12.2025).

26. Hidalgo M., Sánchez-Moreno C., de Pascual-Teresa S. Flavonoid–flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity. Food Chemistry. 2010. Vol. 121, no. 3. P. 691–696. URL: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.097(date of access: 07.12.2025).

27. Hrybova N. Xenobiotics of PAHS group is extracted from sunflower seeds. Scientific Herald of National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. Series: Agronomy. 2018. Vol. 2018, no. 294. P. 209–2018. URL: https://doi.org/10.31548/agr2018.294.209(date of access: 07.12.2025).

28. Laks P. E., Pruner M. S. Flavonoid biocides: Structure/activity relations of flavonoid phytoalexin analogues. Phytochemistry. 1989. Vol. 28, no. 1. P. 87–91. URL: https://doi.org/10.1016/0031-9422(89)85015-0(date of access: 07.12.2025).

29. Marshall W. HAMAMELIS. Planting and Rural Ornament. Cambridge. P. 149–159. URL: https://doi.org/10.1017/cbo9781107706187.009(date of access: 07.12.2025).

30. Martinez S. E., Davies N. M., Reynolds J. K. Toxicology and Safety of Flavonoids. FLAVONOID PHARMACOKINETICS. Hoboken, NJ, USA, 2012. P. 249–280. URL: https://doi.org/10.1002/9781118468524.ch6(date of access: 07.12.2025).

31. Mattice W. L. Fluorescence of Oligomers that Contain Catechin or Epicatechin. Plant Polyphenols. Boston, MA, 1992. P. 447–458. URL: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3476-1_25(date of access: 07.12.2025).

32. Nash E. B., Wilbrand R. Hamamelis virginica. Leitsymptome in der homöopathischen Therapie. Stuttgart, 2015. URL: https://doi.org/10.1055/b-0036-138661(date of access: 07.12.2025).

33. Oxidation and Rearrangement Reactions of Condensed Tannins / D. Ferreira et al. Plant Polyphenols. Boston, MA, 1992. P. 349–384. URL: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3476-1_20(date of access: 07.12.2025).

34. Pogorilyy S. D., Kramov A. A. Automated extraction of structured information from a variety of web pages. PROBLEMS IN PROGRAMMING. 2018. No. 2-3. P. 149–158. URL: https://doi.org/10.15407/pp2018.02.149(date of access: 07.12.2025).

35. Polyphenols and Flavonoids: An Overview / J. A. Yáñez et al. FLAVONOID PHARMACOKINETICS. Hoboken, NJ, USA, 2012. P. 1–69. URL: https://doi.org/10.1002/9781118468524.ch1(date of access: 07.12.2025).

36. Porter L. J. Structure and Chemical Properties of the Condensed Tannins. Plant Polyphenols. Boston, MA, 1992. P. 245–258. URL: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3476-1_14(date of access: 07.12.2025).

37. Putnam B. L. Hamamelis Virginiana. Botanical Gazette. 1896. Vol. 21, no. 3. P. 170. URL: https://doi.org/10.1086/327324(date of access: 07.12.2025).

38. Scalbert A. Quantitative Methods for the Estimation of Tannins in Plant Tissues. Plant Polyphenols. Boston, MA, 1992. P. 259–280. URL: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3476-1_15(date of access: 07.12.2025).

39. Sheiko S. Y., Shalamay A. S. TANNINS OF ALDER GENUS PLANTS (LITERATURE REVIEW). Fitoterapia. 2019. Vol. 4, no. 4. P. 68–74. URL: https://doi.org/10.33617/2522-9680-2019-4-68(date of access: 07.12.2025).

40. Slabbert N. Complexation of Condensed Tannins with Metal Ions. Plant Polyphenols. Boston, MA, 1992. P. 421–436. URL: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3476-1_23(date of access: 07.12.2025).

41. Takemoto J. K., Martinez S. E., Davies N. M. Analysis of Flavonoids through Chromatography. FLAVONOID PHARMACOKINETICS. Hoboken, NJ, USA, 2012. P. 71–115. URL: https://doi.org/10.1002/9781118468524.ch2(date of access: 07.12.2025).

42. Tang H. R., Hancock R. A., Covington A. D. Complexation Between Polyphenols and Aluminum Salts. Plant Polyphenols. Boston, MA, 1992. P. 437–445. URL: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3476-1_24(date of access: 07.12.2025).

43. Thompson M., Williams C. R., Elliot G. E. P. Stability of flavonoid complexes of copper(II) and flavonoid antioxidant activity. Analytica Chimica Acta. 1976. Vol. 85, no. 2. P. 375–381. URL: https://doi.org/10.1016/s0003-2670(01)84703-6(date of access: 07.12.2025).

44. Yáñez J. A., Sayre C. L., Davies N. M. Preclinical Pharmacokinetics of Flavonoids. FLAVONOID PHARMACOKINETICS. Hoboken, NJ, USA, 2012. P. 161–193. URL: https://doi.org/10.1002/9781118468524.ch4(date of access: 07.12.2025).