

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

Фармацевтичний факультет
Кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

Марчишин Світлана Михайлівна

«___» _____ 2021 р.

УДК 615.322:615.349.7-074

МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА

на тему:

Експериментальне обґрунтування застосування збору антидіабетичного

Виконала студентка V курсу

денної форми навчання

спеціальності «Фармація»

_____ Лемішка Тетяна Ігорівна

Наукові керівники:

Доктор фармацевтичних наук, професор, завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою _____ Марчишин Світлана Михайлівна

Кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри фармакогнозії з медичною
ботанікою _____ Савич Альона Олександрівна

ТЕРНОПІЛЬ 2021

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	4
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1 ЗАСТОСУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН ТА ЇХ ЗБОРІВ У ТЕРАПІЇ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	10
1.1. Цукровий діабет, його види, епідеміологія та патогенез	10
1.2. Фітотерапія у комплексному лікуванні цукрового діабету 2 типу та його ускладнень	14
1.3. Ботанічна характеристика, розповсюдження, хімічний склад та фармакологічні властивості рослинних компонентів досліджуваного рослинного збору	20
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	28
РОЗДІЛ 3 ФІТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН, ЩО ВХОДЯТЬ ДО СКЛАДУ РОСЛИННОГО ЗБОРУ	43
3.1. Ідентифікація та кількісне визначення біологічно активних речовин первинного синтезу	43
3.1.1. Вміст аскорбінової кислоти	43
3.1.2. Якісне та кількісне визначення амінокислотного складу	44
3.1.3. Визначення загального вмісту органічних кислот	48
3.1.4. Якісне та кількісне визначення полісахаридів та інуліну	49
3.2. Ідентифікація та кількісне визначення біологічно активних речовин вторинного синтезу	53
3.2.1. Визначення загального вмісту фенольних сполук	53
3.2.2. Якісне та кількісне визначення загального вмісту гідроксикоричних кислот	54
3.2.3. Якісне та кількісне визначення загального вмісту флавоноїдів	55
3.3. Визначення елементного складу	57

РОЗДІЛ 4 ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ РОСЛИННОГО ЗБОРУ	60
ВИСНОВКИ	63
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	65
ДОДАТКИ	75

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АОЗ –	система антиоксидантного захисту;
БАР –	біологічно активні речовини;
ВООЗ –	Всесвітня організація охорони здоров'я;
ВОТТГ –	внутрішньоочеревинний тест толерантності до глюкози;
ГХ/МС –	газова хроматографія з мас-спектрометрією;
ДЕЦ МОЗ України –	Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України;
ДФ XI –	Державна Фармакопея 11-те видання;
ДФУ –	Державна Фармакопея України;
ДФЦ МОЗ України –	Державний Фармакологічний Центр Міністерства охорони здоров'я України;
КП –	контрольна патологія;
ЛР –	лікарські рослини;
ЛРС –	лікарська рослинна сировина;
ОТТГ –	оральний тест толерантності до глюкози;
ПОЛ –	перекисне окиснення ліпідів;
СФЗ	Стандартний фармакопейний зразок
ЦД –	цукровий діабет;
ШКТ –	шлунково-кишковий тракт.
GLP-1	глюкагоноподібний пептид-1

ВСТУП

Актуальність теми

Цукровий діабет (ЦД) є глобальною медико-соціальною проблемою, що обумовлено епідеміологічним характером розповсюдження та розвитком діабетичних ангіопатій, які істотно знижують якість та тривалість життя хворих. ЦД займає сьоме місце серед основних причин смертності населення більшості країн світу, а його частка серед ендокринних захворювань сягає 70 %. [45]. Згідно з офіційними даними Міжнародної Федерації Діабету (2019), прогнозується збільшення захворюваності на діабет у світі в 1,5 рази до 2030 року, що становитиме понад 500 тисяч пацієнтів [66]. Така несприятлива епідеміологічна ситуація вимагає негайного вирішення, оскільки стрімке зростання числа хворих на діабет призводить до збільшення навантаження на сферу охорони здоров'я через інвалідизацію та смертність населення у зв'язку з розвитком макро- та мікроангіопатії.

Згідно сучасних уявлень основними патогенетичними механізмами розвитку ЦД 2 типу є інсулінорезистентність, дисфункція β -клітин підшлункової залози, надмірне накопичення продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), інактивація системи антиоксидантного захисту (АОЗ) організму та надлишкове утворення глюкози печінкою [45, 64]. Інсулінорезистентність, що відіграє провідну роль у прогресуванні ЦД типу 2, призводить до виснаження функціональної активності інсулярного апарату. Цей процес є незворотнім і призводить до запуску каскаду патофізіологічних змін в організмі – порушення балансу у системах ПОЛ/АОЗ та розвитку оксидативного стресу, що в свою чергу сприяє прогресуванню самого діабету та розвитку його ускладнень [59]. Отже, фармакотерапія ЦД 2 типу має бути направлена на збереження або покращення функції β -клітин підшлункової залози, збільшення чутливості периферичних тканин до ефекту інсуліну, нормалізування рівня глікемії та поновлення метаболізму в цілому, зменшення оксидативного стресу [59, 78]. Для цього варто застосовувати препарати з різновекторною дією або

комбіновану терапію, спрямовану на різноманітні патогенетичні ланки ЦД типу 2.

У цьому аспекті принципово новим напрямком є пошук нових антидіабетичних засобів з комплексною та системною дією. Одним із таких напрямків може бути використання фітозасобів як у вигляді монотерапії на легких стадіях захворювання та для його профілактики, так і в поєднанні з традиційною терапією при більш важких формах. Фітотерапія є доволі обґрунтованим методом лікування, оскільки має ряд переваг – відносно низька токсичність рослинних препаратів, м'який фармакологічний ефект та можливість застосовувати протягом тривалого періоду без значних побічних ефектів, здатність добре поєднуватися із синтетичними препаратами, широкий спектр біологічно активних речовин з різними механізмами впливу на організм людини та широкий діапазон фармакологічної активності [73, 77]. Проте, особливої уваги заслуговують комбінації різних лікарських рослин, оскільки за рахунок поєднання певних рослинних компонентів можна тим чи іншим чином впливати на розвиток та прогресування ЦД, що є хронічним захворюванням, зі складним патогенетичним механізмом розвитку, тяжким перебігом та обтяженим анамнезом [51, 74, 88]. Крім того, важливим є також можливість призначати лікарські рослини тривалими курсами через достатньо низьку токсичність більшості з них [77].

Незважаючи на те, що в народній медицині відомо понад 150 видів рослин з гіпоглікемічними властивостями, перелік офіційних антидіабетичних засобів на їх основі досить обмежений [35].

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Тема магістерської роботи затверджена вченою радою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України від 10 листопада 2020 року (наказ № 127). Наукова робота виконана в рамках комплексної науково-дослідної роботи на тему «Фармакогностичне та фармакологічне дослідження перспективної рослинної сировини та фітосубстанцій на її основі» (номер Держреєстрації 0121U100664).

Мета і завдання дослідження

Метою роботи було ідентифікувати та встановити кількісний вміст основних біологічно активних речовин (БАР) у досліджуваному зборі та вивчити його гіпоглікемічні властивості.

Для досягнення зазначеної мети необхідно було вирішити такі завдання:

- здійснити фітохімічні та хроматографічні дослідження антидіабетичного рослинного збору;
- ідентифікувати основні БАР досліджуваного збору;
- встановити кількісний вміст основних БАР рослинного збору;
- вивчити елементний склад досліджуваної сировини;
- визначити гіпоглікемічну активність збору *in vivo*;
- дослідити взаємозв'язок між виявленими БАР та встановленою їх фармакодинамікою.

Об'єктом дослідження є комплексне фітохімічне та фармакологічне дослідження нового рослинного збору для терапії ЦД 2 типу, до складу якого входять оману кореневища і корені (*Inulae rhizomata et radices* L.), цмину квітки (*Helichrysi arenarii flores* L.), кукурудзи стовпчики з приймочками (*Maydis style cum stigmatibus* L.), материнки трава (*Origanum herba* L.), шипшини коричної плоди (*Rosae majalis fructus* L.) та кульбаби корені (*Taraxaci radices* L.).

Предметом вивчення є якісний і кількісний аналіз БАР рослинного антидіабетичного збору та його гіпоглікемічні властивості.

Методи дослідження

При виконанні магістерської роботи були використані фармакологічні, біохімічні, фармакогностичні методи дослідження та методи математичної статистики.

Наукова новизна отриманих результатів

З використанням сучасних фізико-хімічних методів аналізу вперше в рослинному антидіабетичному зборі визначено якісний склад і встановлено кількісний вміст основних БАР – флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, фенольних сполук, амінокислот, полісахаридів серед них інуліну, органічних

кислот, зокрема й аскорбінової кислоти, а також досліджено його елементний склад.

У роботі поглиблено наукові знання щодо фармакологічної активності досліджуваного збору, визначена його умовно-ефективна доза у інтактних тварин з нормальним глюкозним гомеостазом та за умов аліментарної гіперглікемії. Обгрунтовано зв'язок гіпоглікемічної дії рослинного збору з його фітохімічним складом.

Особистий внесок магістранта

Разом з науковим керівником визначено мету та завдання дослідження, розроблені методичні підходи, згідно з якими відібрані моделі та методи для виконання експериментальної частини магістерської роботи. Автором особисто був здійснений патентно-інформаційний пошук, проведений аналіз даних літератури за темою роботи, особисто виконані експериментальні дослідження, проведена статистична обробка й аналіз отриманих результатів, оформлення їх у вигляді таблиць, графіків і діаграм. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантом наведені результати власних експериментальних досліджень, взято участь в аналізі та узагальненні отриманих даних, у написанні статі.

Апробація роботи

Основні положення магістерської роботи були викладені і обговорені на Міжнародній науково-практичній конференції «PLANTA+. Наука, практика та освіта» (Київ, 19 лютого 2021); International Distance Scientific and Practical Conference materials “Modern approach of experimental and preclinical pharmacology” (Харків, 19 лютого 2021); III International Scientific and Practical Conference “Scientific Community: interdisciplinary research” (Гамбург, 16-18 березня 2021); XXV Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 12-14 квітня).

Публікації

За матеріалами магістерської роботи надруковано 5 робіт, з них 1 стаття у фаховому виданні, рекомендованому МОН України та 4 тези доповідей.

Обсяг і структура роботи. Магістерська робота викладена на 75 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, двох розділів експериментальних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту складає 64 сторінки друкованого тексту. Робота ілюстрована 5 таблицею та 9 рисунками. Список використаних джерел містить 93 найменувань, з них 42 кирилицею та 51 латиницею.

РОЗДІЛ 1

ЗАСТОСУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН ТА ЇХ ЗБОРІВ У ТЕРАПІЇ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Цукровий діабет, його види, епідеміологія та патогенез

ЦД – це метаболічний розлад, що характеризується наявністю хронічної гіперглікемії і супроводжується більшим чи меншим порушенням метаболізму вуглеводів, ліпідів та білків, і виникає внаслідок абсолютної чи відносної недостатності інсуліну, зумовленою впливом екзогенних, імунних, ендокринних і генетичних факторів [25, 45].

Згідно класифікації, що наводить Міжнародна діабетична Федерація, існує три види ЦД: 1-го типу або інсулінозалежний, 2-го типу або інсулінонезалежний та гестаційний [66]. Для першого випадку характерна гіпоінсулінемія у поєднанні з гіперглікемією, щодо другого випадку, то він характеризується гіперглікемією на тлі нормоінсулінемії або гіперінсулінемії, а що стосується гестаційного діабету, то він є тимчасовим захворюванням, яке виникає у період вагітності і проходить самостійно [25, 66].

ЦД 2 типу є найбільш поширеним видом, його частка сягає 80-85 % від усіх хворих на ЦД і розвивається у віці понад 30 років. Притаманні симптоми для цього типу мало виражені, а кетоацидоз виникає дуже рідко у зв'язку з помірною гіперглікемією. Для корекції вуглеводного обміну при ЦД 2 типу немає потреби в інсуліні, оскільки його патогенез здебільшого пов'язаний із порушенням резистентності чутливих клітин до дії інсуліну, а не з його секрецією [18].

Цей тип захворювання характеризується генетичною схильністю, особливо, ключову роль відіграє провокуючий фактор – ожиріння, оскільки жирова тканина підвищує інсулінорезистентність, що є пусковим механізмом розвитку ЦД 2 типу. Окрім цього, факторами ризику ЦД 2 типу є:

- генетична схильність (присутність у рідних родичів хворих на ЦД);

- люди віком старше 30 років;
- ожиріння і надлишок маси тіла;
- аномалія вагітності (плід масою більше 4 кг, вродженні вади плода, загибель плоду, глюкозурія у період вагітності);
- гестаційний діабет;
- атеросклероз, артеріальна гіпертензія, інфаркт міокарда, порушення кровопостачання головного мозку, облітеруючий атеросклероз судин нижніх кінцівок;
- епізодичні гіперглікемії та глюкозурії, внаслідок стресових ситуацій (інфекцій, травм, операцій тощо);
- пошкодження шкіри (піодермія, мікози, вульвіт, баланіт), катаракта, ксантоми, ксантелазми; рани, які погано і довго гояться;
- непередбачувані гіпоглікемії;
- хронічні захворювання печінки, підшлункової залози, нирок;
- пародонтоз, фурункульоз;
- супровідні захворювання залоз внутрішньої секреції (дифузний токсичний зоб, акромегалія, гіперкортицизм, феохромоцитома тощо);
- шкідливі звички (куріння, вживання алкоголю);
- довготривале приймання препаратів (глюкокортикоїдів, тіазидних діуретиків, гіпотензивних препаратів, оральних контрацептивів тощо) [18, 25, 45].

Провідну роль у розвитку та прогресуванні ЦД 2 типу займає інсулінорезистентність клітин-мішеней до інсуліну, причому рівень останнього в крові може бути в нормі або навіть підвищеним [1, 12]. Головною ланкою патогенезу ЦД 2 типу є інсулінорезистентність, яка проявляється у 85 % хворих [18]. Вона може бути генетично обумовленою, набутою або змішаною, в результаті чого утворюється компенсаторна гіперінсулінемія, гіперглікемія. Це стає причиною того, що відбувається збільшення надходження глюкози в клітини, зменшення чутливості, а через деякий час і блокада інсулінових

рецепторів. Гіперінсулінемія, в свою чергу, впливає на депонування глюкози та жиру в жирових депо, що підвищує інсулінорезистентність, внаслідок чого виникає ожиріння [1, 18]. Під час клінічних досліджень було виявлено, що ризик розвитку ЦД 2 типу при ожирінні I ступеня збільшується в 3 рази, при ожирінні II ступеня – у 5 разів, а за наявності ожиріння III ступеня – у 10 разів. Абдомінальне (андроїдне, вісцеральне) ожиріння має важливе значення [12, 40]. Погіршує ситуацію й гормон лептин, що накопичується у жировому депо, і який має впливовий ефект на апетит і контролює кількість жирової тканини в організмі [5].

Обтяжливим елементом патогенезу ЦД 2 типу є метаболічний синдром, який об'єднує інсулінорезистентність, ожиріння, дисліпопротеїнемію та артеріальну гіпертензію.

Клінічна картина перебігу ЦД 2 типу є стертою, тому під час обстеження інших захворювань його діагностують випадково. Для нього властиво нешвидкий початок, незмінний перебіг, наявність неспецифічних симптомів, на які пацієнти не зосереджують свою увагу. Основними симптомами ЦД є [12]: полідипсія, поліурія, втрата або збільшення ваги тіла, свербіж шкіри, астеновегетативні прояви, ніктурія, поліфагія, анорексія, захворювання шкіри.

Гіперглікемія є найпершим та основним проявом даного захворювання. Експерти Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) виділяють ЦД як синдром хронічної гіперглікемії. На розвиток останньої впливають два незалежні фактори: зменшення транспорту глюкози з крові до тканин та підвищення глюконеогенезу, що викликано прогресуючою абсолютною чи відносною інсулінонедостатністю. Гіперглікемії на початкових стадіях ЦД властиво мати захисний та пристосувальний характер, тому що в результаті глюкозного тиску та її утилізації, забезпечується перехід глюкози до тканин. Внаслідок гіперглікемії відбувається глюкозна інтоксикація, яка сприяє неферментативному глікуванню білків, які спричиняють пошкодження судин і нервової системи [12, 18].

Глюкозурія – наявність глюкози в сечі, що у здорової людини не повинно бути, оскільки ниркові каналці відіграють значну роль у реабсорбції глюкози. Здатність каналців реабсорбувати глюкозу для запобігання її надходженню до сечі відомо як нирковий поріг, де відбувається повна реабсорбція навіть до рівня глікемії 8,8 ммоль/л. У людей із ЦД спостерігається збільшення клубочкової фільтрації глюкози в 3-7 разів, ніж у здорових осіб. Частка глюкози, що виділяється із сечею, залежить від обсягу реабсорбції та осмотичного тиску первинної сечі. Концентрація глюкози в сечі при захворюванні на ЦД може становити 8-10 %. В поодиноких хворих на ЦД, глюкозурія може не проявлятися, незважаючи на значну гіперглікемію, тобто відбувається перевищення ниркового порогу рівня глюкози. Величина глюкозурії переважно збігається з величиною гіперглікемії [18, 43].

Поліурія – збільшення добової секреції сечі. Для здорових людей діурез здебільшого становить 1,4 л (0,9-2 л). Добова секреція сечі у хворих на ЦД залежить від компенсації захворювання, тому можливе її збільшення до 3-5 л. Від вираженості глюкозурії та поліурії залежить кількість сечі.

Полідипсія – збільшення потреби в прийомі рідини, спрага. Виникає як наслідок значної поліурії та зневоднення хворого. Полідипсію можуть викликати сухість слизової оболонки ротової порожнини, підвищення осмолярності крові, зниження об'єму циркулюючої крові, недостатність функції слинних залоз. При декомпенсації ЦД мають перевагу катаболічні процеси, що призводять до прогресуючої втрати ваги тіла. Зневоднення, ліполіз, глюконеогенез призводять також і до схуднення [12].

Поліфагія – підвищення апетиту, це відбувається за рахунок виснаженої утилізацією глюкози, стимуляцією глюконеогенезу, значною втратою глюкози організмом, де вона є основним джерелом енергії [12, 59].

Гіперкетонемія – наявність високого рівня кетонових тіл в крові. Кетогенез у печінці підсилюється через надмірне поступлення вільних жирних кислот. Вони естерифікуються та інтенсивно окиснюються до ацетил-КоА, а з

нього формуються кетоніві тіла, кумуляція яких спричиняє гіперкетонемію [12].

Кетонурія – наявність кетонових тіл у сечі. У здорових людей виділяється невеликий вміст кетонових тіл, які неможливо дослідити вже відомими методами. При нормальній кетонемії спостерігається повна реабсорбція кетонових тіл, а кетонурія виникає внаслідок гіперкетонемії (аналогічно до утворення глюкозурії) [12, 59].

Поміж клінічних проявів ЦД варто виокремити специфічні та неспецифічні симптоми.

Специфічні симптоми – це пошкодження внутрішніх органів, які проявляються лише при ЦД, представляють перелік специфічних проявів, які доповнюють клінічну картину захворювання та викликають специфічний клінічний перебіг.

Неспецифічні симптоми властиві також і для інших захворювань, не тільки при хворобі ЦД. Їм властиво мати певні особливості, а саме модифікація та зміна клінічного перебігу хвороби [12, 40, 59].

1.2 Фітотерапія у комплексному лікуванні цукрового діабету 2 типу та його ускладнень

При терапії ЦД 2 типу слід дотримуватися деяких принципів лікування, що можуть гарантувати достатній рівень якості життя та сприятливий прогноз [12, 45, 66]:

- максимальна компенсація (нормалізація) порушеного обміну речовин: вуглеводів (нормоглікемія, аглюкозурія, нормальні показники глікованого гемоглобіну), жирів (нормоліпідемія), білків, мінералів;
- досягнення та підтримання нормальної ваги тіла;
- забезпечення процесу росту та розвитку дітей;
- попередження розвитку ангіо- та нейропатій, а також гострих ускладнень (гіпоглікемій, кетозу, кетоацидозу, коматозних станів);

- виконання дозованих фізичних навантажень;
- збереження або покращення працездатності.

Основною метою лікування ЦД 2 типу – досягнення стійкої компенсації захворювання, яка сповільнює розвиток судинних ускладнень, покращує стан хворих. До критерій досконалої компенсації можна віднести: нормоглікемію натще, зміни глікемії упродовж доби в межах 3,3-9,0 ммоль/л, аглюкозурію, відсутність кетозу та гіпоглікемічні стани. Це призводить до утворення сприятливих умов для нормалізації усіх видів обміну речовин: вуглеводного, білкового, ліпідного, мінерального та ін. [45, 66].

Основними методами лікування ЦД 2 типу є [25, 45, 59]:

- дієтотерапія;
- дозоване фізичне навантаження;
- цукрознижувальна фармакотерапія;
- навчання хворого самоконтролю;
- профілактика та лікування пізніх ускладнень.

Оскільки при ЦД 2 типу уражуються всі види обміну речовин, судини та внутрішні органи, призначення цукрознижувальної терапії може бути недостатнім, тому доцільно використовувати й допоміжні методи, а саме фітотерапію, фізіотерапевтичні процедури, санаторно-курортне лікування, лікувальну фізкультуру, ентеросорбцію, голкорексфлексотерапію та інші методи.

До відкриття шляху нової ери інсуліну (1922 рік) і синтетичних гіпоглікемічних препаратів (з середини 50-х років), фітотерапія була основним аспектом у лікуванні хворих на ЦД, тому й надалі подальший розвиток і застосування лікарських рослин в клініці при боротьбі з хворобою не втратило свого сенсу. Виписування хворим препаратів із рослин при лікуванні діабету все ще залишається суперечливою думкою, оскільки існує надзвичайно важлива потреба у застосуванні більш надійних препаратів інсуліну та синтетичних гіпоглікемічних засобів. Лікарські рослини не можутьвилікувати цукровий діабет, однак їх застосування може бути корисним як додаток до

медикаментозної терапії на всіх стадіях захворювання, так і заміною традиційного лікування на ранніх етапах. Часто приймаючи фітопрепарати пацієнтам потрібно вживати нижчі дози інсуліну і пероральних цукрознижувальних засобів. Традиційна фармакотерапія знижує ризик діабетичних ускладнень, приносить полегшення, але не забезпечує лікування і довготривалу нормалізацію метаболічних порушень, що під силу фітозасобам [73].

Фітотерапія при ЦД 2 типу ґрунтується на деяких головних принципах [47, 51, 83, 84]:

— майже повністю відображає або підсилює ефекти більшості пероральних протидіабетичних препаратів при можливому зменшенні їх побічних ефектів та доз;

- покращує синтез інсуліну, оптимізуючи його ефект на рівні тканин;
- підсилює процеси регенерації в β -клітинах підшлункової залози;
- вдосконалює роботу всіх ланок імунної системи;
- стабілізує вторинні порушення обміну речовин і гормонів;
- попереджує виникнення ускладнень з боку серцево-судинної, сечовидільної систем, опорно-рухового апарату тощо.

Відомо безліч підходів до систематики рослин, що використовують при ЦД, але підсумовуючи їх, можна виокремити такі групи [55, 57, 81, 84]:

1. Рослини, які знижують гіперглікемію завдяки вмісту інсуліноподібних та деяких гормоноподібних речовин (так звані фітогормони — галенін, інозит, інулін): листя чорниці, листя брусниці, трава козлятника, листя кропиви дводомної, кореневища та корені омани, корені лопуха, корені солодки голої, бульби топінамбуру тощо.

2. Рослини із загальнозміцнювальним ефектом (модулятори імунітету) — кореневища та корені родіоли рожевої, кореневища та корені елеутерокока колючого, корінь женьшеню, заманиха висока, насіння лимонника китайського.

3. Рослини-адаптогени, яким властива не тільки імуномодулююча дія, але і стимуляція вагоінсулярної вісі нервової системи до активізації ендокринної функції підшлункової залози.

4. Рослини-очищувачі й регулятори обміну речовин, рослини, які знижують рівень холестерину у крові (листя мучниці, трава споришу, листя чорниці, трава звіробою, трава пирію, трава подорожника, квіти липи, насіння льону).

5. Рослини, які мають легкозасвоювані речовини, за допомогою яких в організмі зменшується загальна необхідність в інсуліні (листя суниці, корені цикорію, листя малини, листя та плоди ожини, плоди винограду тощо). В них знаходиться фруктоза, яка для своєї утилізації вимагає небагато інсуліну, а окремі поодинокі цукри засвоюються навіть загалом без інсуліну.

6. Рослини, які містять у своєму складі велику кількість мікроелементів, а саме цинку і хрому, забезпечують стимуляцію процесів синтезу інсуліну і впливають на його нормальну взаємодію із тканинними рецепторами (лушпиння квасолі, трава споришу, рильця кукурудзи, лавровий лист, корінь імбиру, трава шавлії).

7. Рослини з великою кількістю вітамінів, органічних кислот, інших БАР, підвищують імунну систему організму (листя і ягоди брусниці, плоди шипшини, плоди горобини, листя та ягоди смородини).

Гіпоглікемічна активність рослин зумовлена різноманітними біологічними речовинами, які містяться у їхньому складі [55, 57, 81, 84]:

— рослини, що мають аргінін, інозит, гуанідин; вони проявляють інсуліноподібний ефект (ядра плодів мигдалю, корінь селери, ядра плодів грецького горіха, трава люцерни, листя кульбаби тощо);

— рослини, що є джерелами глікозиду миртиліну: їм властиво інсуліноподібний ефект (листя чорниці, насіння гарбуза, трава барвінку малого, сік цибулі, корінь женьшеню, кореневища та корені елеутерокока);

— рослини, що містять глікопротеїни – фітогемаглютиніни проявляють теж інсуліноподібну дію (стручки квасолі та гороху);

— рослини, що мають великий вміст гіркот та активізують регенерацію β -клітин підшлункової залози (корені лопуха, кореневища та корені оману, трава звіробою, трава споришу, листя кульбаби, трава подорожника);

— рослини, що мають у своєму складі пряні і запашні речовини – активізують регенерацію β -клітин підшлункової залози і виведення вже синтезованого в них інсуліну (цибулини та листя цибулі ріпчастої, цибулини часника городнього, корені селери, кора кориці, кореневища куркуми);

— більшість овочів і фруктів мають рослинні секретини, що покращують функцію інсулярного апарату підшлункової залози (капуста, салат, плоди груші, ядра плодів мигдалю).

Існує ряд лікарських рослин, що сприяють біотрансформації вуглеводів шляхом утворення з них фруктози, якій не потрібно інсулін для засвоєння. Це характерно для лікарської сировини, що містить інулін – кореневища та корені оману, корені кульбаби, бульби топінамбуру, корені цикорію. Поодинокі лікарські рослини дозволяють покращити постачання тканин киснем (квіти липи, трава сухоцвіту багнового, квіти арніки), виводять з організму надлишки солей і глюкози разом із сечею, виявляють бактерицидний і в'язучий ефект (листя і бруньки берези, листя мучниці, трава хвоща польового) [57, 65].

Позитивним фактором є те, що більша частина лікарських рослин проявляє олузнюючий ефект, а глюкоза у слаболужному середовищі переходить в інші вуглеводи — манозу і фруктозу, для утилізації яких не потрібно інсуліну, в результаті чого потреба у введенні останнього зменшується.

Рослини, що містять целюлозу і пектини, можуть бути корисними, тому що вони сповільнюють всмоктування глюкози у період приймання їжі і після прийому їжі, що запобігає різким стрибкам гіпеглікемії [65].

Багато лікарських рослин проявляють полівалентну і багатофакторну дію, зокрема, мають вплив на різні ланки розвитку ЦД 2 типу та його ускладнень. У результаті можливе одночасне вирішення декількох завдань при мінімальному ризику ускладнень токсичного чи алергічного характеру.

Основні механізми антидіабетичної активності лікарських рослин полягають у:

- стимуляції β -клітин панкреатичних острівців, що синтезують інсулін;
- інгібуванні гормонів, які збільшують рівень глюкози в крові;
- підвищенні вмісту інсулінових рецепторів або посиленні їхньої чутливості до інсуліну;
- зменшенні утилізації глікогену;
- покращенні засвоєння глюкози тканинами і органами;
- зменшенні кількості вільних радикалів, інгібуванні надмірної ліпопероксидації і корекції метаболічних порушень ліпідного і білкового обміну [55, 57, 65, 81].

Фармацевтичний ринок України з антидіабетичних препаратів за АТС-класифікацією представлений здебільшого синтетичними засобами, а частка фітопрепаратів складає лише 8 % ринку і включають: збір «Арфазетин», збір «Садіфіт», гуарем, стулки плодів квасолі та пагони чорниці.

Тому оптимізація існуючої протидіабетичної фармакотерапії, пошук та вивчення нових фітозасобів для профілактики та лікування цієї хвороби та її ускладнень є доцільним та обґрунтованим.

Враховуючи наведену інформацію очевидно, що лікарські засоби рослинного походження, які використовують для лікування хворих на ЦД 2 типу, мають різноманітний метаболічний, регуляторний, поліорганий ефект. Фітотерапія дозволяє здійснити системний підхід до терапії ЦД 2 типу та його ускладнень, сприяє досягненню покращення якості життя пацієнтів, допомагає зменшити прояви специфічних та неспецифічних ускладнень.

1.3 Ботанічна характеристика, розповсюдження, хімічний склад та фармакологічні властивості рослинних компонентів досліджуваного рослинного збору

Оману кореневища та корені —
Inulae rhizomata et radices

Оман високий — *Inula helenium* L.

Рід Оман — *Inula*

Родина Складноцвіті — *Asteracea*

Рід *Inula* включає 90 видів, які є витривалими євразійськими багаторічними рослинами та 19 видів, що зустрічаються в Європі.



Inula helenium L. – це міцна, витривала багаторічна рослина, корінна в Західній та Центральній Азії, але натуралізована по всій Європі та у Великобританії. Росте по берегах річок, серед чагарників, на полях, біля шляхів. По Україні трапляється в лісостепній зоні. На ринок сировина експортується з Китаю та інших країн СНД [89].

В стеблах, листках і кореневищах знаходиться ефірна олія, інуліни, тритерпеноїди, органічні кислоти, слиз. До складу ефірної олії входять сесквітерпенові лактони (евдесманоліди), алантолактон, кислота алантова, азулен. Сесквітерпени відомі своїми антигельмінтними властивостями проти шлунково-кишкових нематод, протизапальними і антибактерицидними властивостями. Відвар кореневищ з коренями оману застосовують як стимулюючий засіб органів секреції від кашлю, особливо тих, що пов'язані з бронхітом, астмою та кашлем [4, 13].

Значна кількість полісахаридного інуліну міститься в його підземних рослинних частинах. Ці великі молекули не розщеплюються нашим верхнім відділом шлунково-кишкового тракту, а натомість переходять у товсту кишку, де кишкові бактерії можуть їх використовувати, тому він може збалансувати

корисну мікрофлору кишечника, мати імуномодулюючу дію, відігравати важливу роль в метаболізмі жиру організму [86].

Високий вміст інуліну корисний людям з проблемами цукру в крові, такими як ЦД 2 типу. Інулін уповільнює метаболізм глюкози, зменшуючи її стрибки в крові, що сприяють резистентності до інсуліну. Вживання продуктів, багатих на інулін, допомагає відновити нормальний рівень цукру в крові та захистити вас від небезпечного впливу ЦД на організм. Цей крохмаль (інулін) також може мати антиоксидантні якості, які можуть зменшити системне запалення, часто пов'язане з цією хворобою [68].



Цмину квітки — *Helichrysi arenarii flores*

Цмин пісковий — *Helichrysum arenarium L.*

Рід Цмин — *Helichrysum*

Родина Складноцвіті — *Asteraceae*

Helichrysum arenarium (L.) – трав'яниста багаторічна рослина, що належить до сімейства айстрових, і є рідною для Європи, Середньої Азії та Китаю. Росте на піщаних

відкритих місцях, схилах. Поширена по всій території України, окрім високогір'я Карпат [79].

Основними біологічно активними сполуками *Helichrysi arenarii flores* є флавоноїд: ізосаліпурпозидом халкону та флаванони саліпурпозид, нарінгенін як домінуючі компоненти, тоді як інші сполуки, що присутні у значній кількості, це фталіди, каротиноїди, фенольні кислоти, гіркі речовини, ефірна олія (ліналоол, анетол, терпінеол, тимол, карвакрол) та жовті пігменти: похідні α -пірону, такі як аренол та гомоаренол [36].

Макро- та мікроелементи: Al, Cr, Cu, Mn, P, Ca, Fe та Zn є критично важливими компонентами ряду ферментативних та неферментативних процесів, що беруть участь в антиоксидантному захисті людського організму, і

дефіцит будь-якого з цих важливих елементів може погіршити функцію загальної антиоксидантної системи. Вони мають важливе значення для перебігу ЦД, оскільки багато з них беруть участь у регуляції вуглеводного обміну. В тому числі, Zn є частиною структури інсуліну, підвищує тривалість гіпоглікемічної дії і стійкість гіперглікемії, в свою чергу, це викликає до посиленого виведення Zn з організму і негативно відображається на перебігу ЦД та його ускладнень. Дефіцит Zn теж впливає на розвиток окисного стресу та на руйнування клітин. Cr збільшує активність інсуліну і є центральним атомом в молекулі гормоноподібної речовини – фактор поглинання глюкози (GLUT). Дефіцит Cr має певну роль у формуванні діабетичної нейропатії. Дефіцит Mn може стати причиною розвитку ЦД 2 типу. Cu та Fe беруть участь у синтезі білків та ферментів, необхідних для нормальної роботи метаболізму [34].

Застосовується як жовчогінний, гепатопротекторний та дезінтоксикаційний засіб, діуретик, як м'який протимікробний та спазмолітичний засіб [7].

Флавоноїди (нарінгін, еріодиціол, лютеолін, галутеолін, астрагалін та кемпферол), обумовлюють жовчогінну, протидіабетичну і антисклеротичну активність; усувають закупорку судин, бляшки холестеринів, зміцнюють стінки судин і підвищують їх тонус; контролюють ЦД, проблеми з жировим обміном, ожирінням і полегшують їх перебіг [46].

Квітки містять антибактеріальні компоненти та гіркі речовини, які також можуть сприяти шлунковій та підшлунковій секреції. Він також показаний при розладі травлення, а також при втраті апетиту.

Кукурудзи стовпчики з
приймочками — *Maydis style cum
stigmatis*

Кукурудза звичайна — *Zea mays L.*

Рід Кукурудза — *Zea*

Родина Тонконогові — *Poaceae*



Однорічна трав'яниста рослина — корінний житель Центральної Америки, Південної Мексики. Зараз культивується у всьому світі як зернова та лікувальна культура [27].

Основними хімічними складовими сушених стовпчиків з приймочками є флавоноїди, особливо 6-С-глікозилфлавоїди, лютеолін, рутин, антоціанідини та флавонол-4-оли (лютеофол, апіфол). Містить також жирні олії (до 2,5 %), ефірну олію (до 0,12 %) (карвакрол, α -терпінеол, ментол і тимол), сапоніни (2-3 %), дубильні речовини пірокатехінової групи (11-13 %), алкалоїди (0,05 %), стерини (стигмастерол та ситостерол), вітаміни К, В₁, В₂, В₃, В₅, В₆, С, Е, D, слиз, мінерали (особливо приблизно 2,7 % калію), каротиноїди, камедь, смолисті речовини [26].

У науковій медицині стовпчики з приймочками використовують для підтримуючого лікування хронічного нефриту, застої жовчі, холангіту, гепатиту, холециститу, а також гострого та хронічного циститу і уретриту. Можливе застосування при лікуванні серцевих захворювань (як сечогінний засіб), гіпертонії, ревматизму та ЦД [41].

У народній медицині – для лікування синців, набряків, ранок, фурункулів, дерматитів та зовнішнього запалення. Для внутрішнього застосування при лікуванні подагри, гастриту, застої жовчі, алкоголізму, простати, доброякісної гіперплазії передміхурової залози, нічного енурезу. Стовпчики з приймочками можуть знижувати рівень крові тиску і зменшувати час згортання крові. Вони впливають на вуглеводний обмін, тому що містять глікокініни — речовини *гіпоглікемізуючої дії* [21].



Материнки трава — *Origanum herba*

Материнка звичайна — *Origanum vulgare L.*

Рід Материнка — *Origanum*

Родина Глухокропивні — *Lamiaceae*

Багаторічна трав'яниста рослина поширена по всій Азії, Європі та Північній Африці; у США, Франції материнку культивують. В Україні росте по всій території в розріджених хвойних лісах, на узліссях [37].

Трава містить ефірну олію, до складу якої входять карвакрол, тимол, камфен, феландрен, крім того, також є монотерпенові вуглеводні (лімонен, терпінен, каріофілен, β -бісаболен та н-цимен) та монотерпенові спирти (ліналоол, 4-терпінеол), флавоноїди (нарінгін, лютеолін-7-глюкозид), розмаринова кислота, дубильні речовини, алкалоїди, кислота аскорбінова [17, 69].

Застосовується для лікування кашлю, застуди та як відхаркувальний, потогінний, спазмолітичний, седативний та протизапальний засіб. Інші сфери використання включають лікування здуття живота, стимуляція жовчовиділення, апетиту та травлення [22, 69].

Трава використовується як сечогінний засіб для лікування інфекцій нирок, каменів у нирках внаслідок хронічного нефриту, артриту, гепатиту, головного болю, ЦД, високого рівня холестеролу, високого рівня цукру в крові. Зовнішньо використовують олію для загоєння ран, при шкірних захворюваннях, що включають вугрі, лупу, виразки, бородавки. БАР, що містяться в материнці можуть зменшувати інсулінорезистентність, регулювати експресію генів, що впливають на жировий і вуглеводний обмін, відновлювати пошкоджені тканини печінки та нирок [63].

Шипшини плоди — *Rosae Fructus*

Шипшина корична — *Rosa majalis L.*

Рід Шипшина — *Rosa*

Родина Розоцвіті — *Rosaceae*



Багаторічний дикорослий чагарник поширений в Центральній Європі. В Україні росте у лісах, на узліссях, між чагарниками, біля доріг, річок, рідше на луках, частіше на річкових заплавах [3, 19].

В плодах шипшини міститься аскорбінова кислота від 4 % до 14 %, також є вітаміни К, В₁, В₂, В₅, Р, РР, Е; флавоноїди – похідні кверцетину, кемпферолу, антоціани, гіперозид, катехіни; тритерпени; макро- і мікроелементи. В зрілих плодах багато цукру (до 18 %), пектинових речовин (до 4 %), органічних кислот (лимонна і яблучна 2 %), фенолокислот. В насінні міститься жирна олія, каротиноїди і вітамін Е. Завдяки високому вмісту вітамінів, шипшина мобілізує імунну систему і тому часто використовується для профілактичного та допоміжного лікування застуди. Також вражає високий вміст цінних мінералів Са та Mg, необхідних для серця, кісток та м'язів [19, 24].

Шипшина містить і інші цінні рослинні речовини, які, як було доведено, забезпечують захист від раку, ЦД та високого кров'яного тиску. Сюди входить каротиноїд лікопін, який також має профілактичний ефект при остеопорозі та патологічних змін у сітківці. Крім того, було показано, що плоди пригнічують запальні процеси, нормалізують певні функції лейкоцитів, саме тому вони успішно використовуються для лікування проблем суглобів та артрозу [93].

Шипшина застосовується при застуді, запаленні (зменшує С-реактивний білок), кишкових захворювань, при кровотечах, подагрі та ревматизмі, як сечогінний та жовчогінний засіб при захворюваннях печінки (хронічний гепатит, холецистит, холангіт); при хворобах нирок і сечового міхура (нефрити). Вміст пектинової та фруктової кислот може спричиняти діуретичний ефект.

Олія із насіння шипшини холодного віджиму застосовується при опіках і для загоєння ран, при тріщинах шкіри, екземах, також її використовують для лікування рубців. Вона є цінна для здоров'я як харчова олія завдяки високому вмісту поліненасичених жирних кислот.

Плоди шипшини входять до складу полівітамінних зборів, а також можуть застосовуватися самостійно. Із свіжих плодів промисловість виготовляє

сироп (*Sirupus fructus Rosae*), екстракт і на його основі інші вітамінні концентрати [38].

Кульбаби корені —
Taraxaci radices
 Кульбаба лікарська —
Taraxacum officinale
 Рід Кульбаба — *Taraxacum*
 Родина Складноцвіті —
Asteraceae



Багаторічна трав'яниста рослина є корінним жителем північної півкулі. Росте по всій території України на луках, серед чагарників, як бур'ян у садах, на городах, уздовж доріг [39].

В молочному соці містяться гіркі речовини глікозидного характеру – тараксацин і тараксацерин, смолисті речовини каучукової природи. Із коренів виділені тритерпенові сполуки в основному спиртового характеру, а також ситостерин і стигмастерин [2].

Характерними складовими є сесквітерпени, в тому числі гіркий еудесманолід, тетрагідроридентин В та тараксаколід β -D-глюкопіранозид; гермакраноліди, β -D-глюкопіранозид тараксинової кислоти та β -D-глюкопіранозид 11,13-дигідротараксинової кислоти. Також присутні похідні *p*-гідроксифенілоцтової кислоти, тараксакозид; тритерпени, тараксастерол, тараксерол, стероїди, флавоноїди, вуглеводи (фруктоза, інулін, сахароза), органічні кислота (винна, лимонна) [16].

Застосовують для стимуляції діурезу, збільшення потоку жовчі та стимулювання апетиту, для лікування диспепсії та як проносний та загальнозміцнюючий засіб, для лікування фурункулів і ранок, ЦД, лихоманки, запалення очей, безсоння, ангіни, абсцесу легень, жовтяниці, ревматизму, антацидного гастриту та інфекції сечовивідних шляхів [23].

Входить до складу апетитних, жовчогінних і сечогінних чаїв. Із лікарської сировини можуть виготовляти відвар і густий екстракт [2, 42].

Підводячи підсумок огляду літератури можна зробити висновок, що основними патогенетичними механізмами ЦД 2 типу є інсулінорезистентність, дисфункція β -клітин підшлункової залози та надлишкове утворення глюкози печінкою. Все це призводить до пошкодження серцево-судинної системи, інсулярного апарату підшлункової залози, розвитку мікро- та макроангіопатій. Тому, за сучасними уявленнями, фармакотерапія ЦД 2 типу повинна бути спрямована на стабілізацію (або поліпшення) функції β -клітин, посилення секреції інсуліну, зниження інсулінорезистентності та покращення метаболізму в цілому. Такі особливості терапії передбачають застосування препаратів з системною різнонаправленою дією, що мають позитивний терапевтичний ефект та мають невелику кількість побічних ефектів. Одним з таких напрямків терапії є використання фітозасобів, ефективність яких підтверджена численними науковими дослідженнями та досвідом народної медицини. Перевагою препаратів рослинного походження є те, що вони малотоксичні, діють м'яко, не кумулюють (за винятком серцевих глікозидів), можуть використовуватися тривалий час у комбінації з іншими рослинними засобами, можуть бути призначені хворим будь-якого віку незалежно від ступеня важкості ЦД.

Проведений огляд джерел літератури, недостатня кількість офіційних антидіабетичних рослинних засобів на фармацевтичному ринку в Україні, зокрема зборів лікарських рослин, стали підставою для експериментального дослідження нового рослинного антидіабетичного збору, до складу якого входить лікарська рослинна сировина, що здавна використовується в традиційній та нетрадиційній медицині: оману кореневища і корені (*Inulae rhizomata et radices* L.), цмину квітки (*Helichrysi arenarii flores* L.), кукурудзи стовпчики з приймочками (*Maydis style cum stigmatis* L.), материнки трава (*Origanum herba* L.), шипшини коричневої плоди (*Rosae majalis fructus* L.) та кульбаби корені (*Taraxaci radices* L.).

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом для досліджень було комплексне фітохімічне та фармакологічне дослідження рослинного антидіабетичного збору, до складу якого входять:

Оману кореневище та корені (<i>Inulae rhizomata et radices L.</i>)	1 мас.ч.;
Цмину квітки (<i>Helichrysi arenarii flores L.</i>)	2 мас.ч.;
Кукурудзи стовпчики з приймочками (<i>Maydis style cum stigmatis L.</i>)	2 мас.ч.;
Материнки трава (<i>Origani herba L.</i>)	2 мас.ч.;
Шипшини коричної плоди (<i>Rosae majalis fructus L.</i>)	2 мас.ч.;
Кульбаби корені (<i>Taraxaci radices L.</i>)	1 мас.ч.

Компоненти рослинного антидіабетичного збору були зібрані на території Тернопільської області протягом 2019-2020 р.р.

При проведенні досліджень були використані такі методи: фізичні, фізико-хімічні, хімічні, біохімічні, фармакологічні та методи математичної статистики.

2.1 Виявлення біологічно активних речовин первинного синтезу

Для проведення фітохімічних досліджень використовували водні та спиртово-водні витяжки з рослинного антидіабетичного збору. Якісний склад та кількісний вміст БАР визначали фармакопейними методами [8, 9].

2.1.1 Аскорбінова кислота

Вміст аскорбінової кислоти визначали спектрофотометричним методом за ДФУ 2.0 за допомогою спектрофотометра Shimadzu 1800-UV (Японія) [10].
Випробовуваний розчин. 0,500 г подрібненої на порошок досліджуваної

сировини поміщали у круглодонну колбу, додавали розчин 1,0 г *щавлевої кислоти Р* у 50 мл *метанолу Р*, кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 10 хв, охолоджували у льодяній бані до температури (15–20) °С і фільтрували. 2 мл фільтрату переносили у конічну колбу місткістю 50 мл, послідовно додавали, обережно струшуючи після кожного додавання, 2 мл *дихлорфеноліндофенолу стандартного розчину Р*, потім, точно через 60 с, 0,5 мл розчину 100 г/л *тіосечовини Р* в *етанолі (50 %) Р* та 0,7 мл 50 *динітрофенілгідразину-сірчаної кислоти розчину Р*, нагрівали зі зворотним холодильником при температурі 50 °С протягом 75 хв і відразу поміщали у льодяну баню протягом 5 хв. Додавали краплями 5 мл суміші 12 мл *води Р* і 50 мл *сірчаної кислоти Р*, проводячи додавання за період не менше 90 с і не більше 120 с, енергійно струшували колбу у льодяній бані. Витримували протягом 30 хв при кімнатній температурі та вимірювали оптичну густину за довжини хвилі 520 нм, використовуючи розчин А як компенсаційну рідину.

Розчин А. 2 мл фільтрату, одержаного при приготуванні випробовуваного розчину, обробляли як описано вище, додаючи *динітрофенілгідразину-сірчаної кислоти розчин Р* безпосередньо перед вимірюванням оптичної густини.

Розчин порівняння. 40,0 мг *аскорбінової кислоти Р* розчиняли у свіжоприготованому розчині 20 г/л *щавлевої кислоти Р* у *метанолі Р*, доводили об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл. 5 мл одержаного розчину доводили свіжоприготованим розчином 20 г/л *щавлевої кислоти Р* у *метанолі Р* до 100 мл. 2 мл одержаного розчину обробляли, як описано вище для фільтрату, отриманого при приготуванні випробовуваного розчину.

Оптичну густину вимірювали за довжини хвилі 520 нм, використовуючи розчин В як компенсаційну рідину.

Розчин В. 2 мл розчину порівняння обробляли, як описано вище для розчину А. Вміст аскорбінової кислоти (X), у відсотках, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{2,5 \times A_1 \times m_2}{A_2 \times m_1}, \quad (2.1)$$

де: A_1 – оптична густина випробовуваного розчину;
 A_2 – оптична густина розчину порівняння;
 m_1 – маса наважки випробовуваної сировини, г;
 m_2 – маса наважки аскорбінової кислоти, г [10].

2.1.2 Амінокислоти

Якісний склад та кількісний вміст амінокислот у досліджуваній сировині визначали методом газової хромато-мас-спектрометрії (ГХ/МС) за допомогою системи Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, США) [31, 71]. Хроматографічне розділення проводили за допомогою капілярної колонки HP-5ms (30m×0,25mm×0,25µm, Agilent technologies, США) в режимі програмування температури – початкову температуру 50 °C витримували впродовж 4 хв, піднімали з градієнтом 5 °C/хв до 300 °C, кінцеву температуру витримували впродовж 5 хв. Температура випаровувача 250 °C, температура інтерфейсу 280 °C. Пробу об'ємом 1 мкл, вводили в режимі поділу потоку 1:50. Детектування проводили в режимі SCAN в діапазоні (38-400 m/z). Швидкість потоку газу носія через колонку 1,0 мл/хв.

Пробопідготовку рослинної сировини для визначення вільних амінокислот проводили таким чином: наважку, перетерту до порошкоподібного стану, поміщали у віалу, додавали 2 мл водного розчину 0,1N хлористоводневої кислоти та витримували на ультразвуковій бані за температури 50 °C протягом 3 год. 1,0 мл відцентрифугованого екстракту упарювали на роторному випаровувачі, тричі промиваючи водою очищеною Р для видалення хлористоводневої кислоти.

Пробопідготовку рослинної сировини для визначення зв'язаних амінокислот проводили таким чином: наважку, перетерту до порошкоподібного стану, поміщали у віалу, додавали 2 мл водного розчину 6N хлористоводневої кислоти та поміщали в термостат за температури 110 °C. Гідроліз проводили протягом 24 год. Потім 1,6 мл відцентрифугованого гідролізату упарювали на

ротаторному випаровувачі, тричі промиваючи водою очищеною Р для видалення хлористоводневої кислоти.

Преколонкову дериватизацію проводили шляхом розчинення сухих зразків у реакційній суміші, що складалася з 390 мкл розчину 1 М натрію гідроксиду, 333 мкл метанолу та 67 мкл піридину з ретельним перемішуванням протягом 5 с. До одержаного розчину додавали 80 мкл метилхлороформату і знову ретельно перемішували протягом 60 с. Утворені деривати амінокислот екстрагували 400 мкл хлороформу з подальшим додаванням 400 мкл розчину 50 мМ натрію гідрокарбонату. Для хроматографічного аналізу використовували хлороформну фазу [90].

Ідентифікацію амінокислот проводили шляхом порівняння часів утримання стандартів амінокислот та за наявності репрезентативних молекулярних та фрагментарних іонів. Вміст зв'язаних амінокислот визначали шляхом віднімання вмісту вільних амінокислот від їх загального вмісту.

2.1.3 Органічні кислоти

Для кількісного визначення суми вільних органічних кислот брали 25,0 г (точна наважка) подрібненої на порошок сировини поміщали у конічну колбу місткістю 250 мл, заливали 200 мл *води Р* і витримували на водяній бані протягом 2 год, потім охолоджували і кількісно переносили у мірну колбу місткістю 250 мл, доводили об'єм витяжки *водою Р* до позначки й перемішували. 10 мл витяжки відбирали у колбу місткістю 500 мл, додавали 200–300 мл *води Р*, 1 мл *фенолфталеїну розчину Р1*, 2 мл *розчину 1 г/л метиленового синього Р* і титрували 0,1 М розчином натрію гідроксиду до появи в піні світло-фіолетово-червоного забарвлення.

Вміст суми вільних органічних кислот (X) визначали у перерахунку на лимонну кислоту й абсолютно суху сировину, у відсотках і обчислювали за формулою 2.2: [15].

$$X = \frac{V \times 0,0067 \times 250 \times 100 \times 100}{m \times 10 \times (100 - W)}, \quad (2.2)$$

де: V – об'єм 0,1 М розчину натрію гідроксиду, витраченого на титрування, мл;

0,0067 – кількість кислоти лимонної, що відповідає 1 мл 0,1 М розчину натрію гідроксиду;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

2.1.4 Полісахариди та інулін

Для проведення якісних реакцій на полісахариди готували водні витяжки з ЛРС. Для цього 30 г подрібненої сухої сировини заливали 250 мл гарячої *води очищеної Р* і настоювали протягом доби. Водні витяжки фільтрували, а сировину заливали 100 мл гарячої *води очищеної Р*. Операцію повторювали 3-5 разів. Водні витяжки об'єднували і випаровували до 15 мл. Одержаний екстракт використовували для виявлення полісахаридів.

30 мл 95 % етанолу *Р* приливали до 10 мл витяжки. Поява плаваючих пластинчастих згустків, що при відстоюванні випадали в осад, свідчила про наявність у досліджуваній сировині полісахаридів. Осад відфільтровували і проводили реакцію на виявлення відновних (нейтральних) цукрів.

Осад переносили у пробірку, додавали 5 мл *кислоти хлористоводневої розведеної Р* і кип'ятили протягом 30 хв. До охолодженого гідролізату додавали 10 мл реактиву Фелінга і знову кип'ятили. Поява цеглисто-червоного осаду свідчила про наявність відновних цукрів.

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту моносахаридів, сахарози та інуліну проводили методом ГХ/МС.

Метод заснований на екстракції вільних моносахаридів та одержанні ацетатів їх альдонітрильних похідних з подальшим аналізом ГХ/МС [56, 57, 83].

Обладнання та умови хроматографічного розділення: хроматографічне розділення проводили на газовій хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, США). Колонка капілярна HP-5ms (30m×0,25mm×0,25µm, Agilent technologies, США). Температура випаровувача 250 °C, температура інтерфейсу 280 °C. Розділення проводили в режимі програмування температури – початкову температуру 160 °C витримували впродовж 8 хв, піднімали з градієнтом 5 °C/хв до температури 240 °C. Кінцеву температуру витримували впродовж 6 хв. Пробу об'ємом 1 мкл, вводили в режимі поділу потоку 1:50. Детектування проводили в режимі SCAN в діапазоні (38-400 m/z). Швидкість потоку газу носія крізь колонку 1,2 мл/хв. Ідентифікацію проводили за часом утримання стандартів моносахаридів та з використання бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби.

Пробопідготовка ЛРС полягала в екстракції загальних та вільних цукрів за різних умов. Для виділення загальних цукрів рослинну сировину перетирали до порошкоподібного стану в скляній ступці. Точну наважку сировини (500 мг) поміщали в круглдонну колбу, додавали 5 мл 2М кислоти трифтороцтової та протягом 6 год при температурі 100 °C здійснювали гідроліз оліго- і полісахаридів. Після цього відбирали 2 мл гідролізату, упарювали, промивали водою до видалення кислоти трифтороцтової. Ресуспендували додаванням 2 мл водного розчину внутрішнього стандарту.

Екстракцію вільних моносахаридів проводили із перетертої до порошкоподібного стану рослинної сировини. До точної наважки (500 мг) сировини, подрібненої до порошкоподібного стану, додавали розчин метанолу з внутрішнім стандартом із розрахунку 500 мкг на пробу. Вільні полісахариди виділяли при температурі 80 °C з використанням ультразвукової бані протягом 4 год.

Для одержання альдонітрильних похідних моносахаридів відбирали 2 мл екстракту, упарювали до сухого залишку на роторному випаровувачі та додавали 0,3 мл дериватизуючого реактиву (32 мг/мл гідроксиламіну

солянокислого в суміші піридин/метанол (4:1, v/v). Розчинений екстракт витримували впродовж 25 хв при температурі 75 °С. Для ацетилювання альдонітрильних похідних моносахаридів додавали 1 мл ацетатного ангідриду та витримували впродовж 15 хв при 75 °С. До реакційної суміші додавали 2 мл дихлоретану, надлишок дериватизаційних реагентів видаляли подвійною екстракцією 1М розчином кислоти хлористоводневої та води. Дихлоретановий шар висушували до сухого залишку та розчиняли в 300 мкл суміші гептан/етилацетат (1:1, v/v).

Ідентифікацію моносахаридів досліджуваної суміші проводили шляхом порівняння часів утримування стандартних моносахаридів та з використання бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби. Як внутрішній стандарт використовували розчин сорбітолу. За звичайних умов дериватизації кетовуглевод (фруктоза) переходить в альдовуглевод (глюкозу). За даної методики фруктоза при дериватизації дає 2 піки, які під час обрахунків сумують.

Масу моноцукру і сахарози (мг) на 1 кг сировини розраховували за формулою 2.3:

$$X = \frac{S_x \cdot M_{\text{вн.ст.}} \cdot 1000}{S_{\text{вн.ст.}} \cdot m}, \quad (2.3)$$

де: S_x – площа піку досліджуваного моноцукру;

$M_{\text{вн.ст.}}$ – маса внутрішнього стандарту на пробу;

$S_{\text{вн.ст.}}$ – площа піку внутрішнього стандарту;

m – наважка сировини, мг.

Ідентифікацію інуліну проводили у рослинному зборі за реакцією Молліша (з α -нафтолом і кислотою сульфатною концентрованою. Поява фіолетово-бурого забарвлення свідчила про наявність інуліну в сировині.

Кількісний вміст інуліну визначали методом ГХ/МС [56, 57, 83].

Кількісний вміст інуліну (за різницею загальної кількості фруктози після ензимного гідролізу, фруктози у вільному стані та фруктози, яка одержана із

сахарози) визначали за допомогою ГХ/МС – Agilent 6890N/5973inert (Agilent Technologies, США) у перерахунку на внутрішній стандарт D-арабінозу з використанням капілярної колонки HP-5ms (30m×0,25mm×0,25µm, Agilent Technologies, США), при температурі випаровувача 250 °C та інтерфейса 280 °C. Розділення проводили в режимі програмування температури – початкову температуру 160 °C витримували впродовж 8 хв, піднімали з градієнтом 5 °C/хв до 240 °C. Кінцеву температуру витримували впродовж 6 хв. Пробу об'ємом 1 мкл вводили в режимі поділу потоку 1:50. Детектування проводили в режимі SCAN в діапазоні (38-400 m/z). Швидкість потоку газу носія крізь колонку 1,2 мл/хв. Ідентифікацію проводили за часом утримання стандартів моносахаридів та з використанням бібліотеки мас-спектрів NIST 02.

Екстракцію 300 мг подрібненої сировини здійснювали у 130 мл 0,1 М ацетатно-буферного розчину рН 4,5 та з додаванням 5 мл внутрішнього стандарту (120 мг/мл). Пробу поміщали в ультразвукову баню на 4 годин при 80 °C. Після екстракції розчин охолоджували до 60 °C. При цій температурі додавали 100 мкл ферменту “*Fructozyme*” і витримували при 60 °C 30 хв. Після охолодження розчин переносили у мірну колбу місткістю 200 мл. Для осадження протеїнів використовували реагенти Карез 1 та Карез 2 по 3 мл кожний, розчин доводили до мітки водою очищеною Р. Для повного осадження білків колбу залишали на 2 год, після чого екстракт відфільтровували.

Паралельно за цих же умов, але без додавання фруктозим ензиму, визначали вміст вільної фруктози у зразку та вміст фруктози, яка вивільняється із дисахариду – сахарози [91].

Кількісний вміст інуліну (мг/г) розраховували за формулою 2.4:

$$X = [A \times (F_1 - F_2 - F_3)] / P, \quad (2.4)$$

де: F_1 – концентрація загальної фруктози після ензимного гідролізу, мг/г;

F_2 – концентрація вільної фруктози, мг/г;

F_3 – концентрація фруктози, вивільненої із сахарози ($F_3 = S/B$, де S – концентрація сахарози, B – емпіричний фактор конверсії фруктози відносно сахарози (2,13);

A – емпіричний фактор конверсії фруктози відносно інуліну (1,03);

P – маса наважки, мг.

Емпіричний фактор конверсії фруктози відносно інуліну та сахарози (фактор конверсії інуліну у фруктозу та сахарози у фруктозу) визначено шляхом послідовної обробки проб різними кількостями ферменту.

2.2 Виявлення та визначення кількісного вмісту біологічно активних речовин вторинного синтезу

2.2.1. Фенольні сполуки

Визначення вмісту суми фенольних сполук у досліджуваних об'єктах проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на галову кислоту за допомогою спектрофотометра Shimadzu 1800-UV (Японія) [92].

Вміст суми фенольних сполук (X , %) у перерахунку на галову кислоту та абсолютно суху сировину розраховували за формулою 2.5:

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 1 \cdot 30 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot 100 \cdot 50 \cdot m \cdot 1 \cdot (100 - W)}, \quad (2.5)$$

де A – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина СФЗДФУ галової кислоти;

m – маса наважки сировини, г;

m_0 – маса наважки СФЗДФУ галової кислоти, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

2.3.2 Гідроксикоричні кислоти

Для виявлення даної групи сполук використовували спиртово-водну витяжку та проводили реакцію з ферум (III) хлоридом: до 1 мл витяжки додавали 2 краплі 1 % розчину ферум (III) хлориду. Спостерігали зелено-сіре забарвлення, яке свідчило про наявність у досліджуваному об'єкті сполук фенольної природи, в тому числі кислот гідроксикоричних.

Кількісний вміст гідроксикорисних кислот (X, %) визначали спектрофотометрично, в перерахунку на хлорогенову кислоту [29] за допомогою спектрофотометра Schimadzu 1800-UV (Японія) і обчислювали за формулою 2.6:

$$X = \frac{A \times 250 \times 50 \times 100}{E^{1\%}_{1\text{cm}} \times m \times 1 \times (100 - W)}, \quad (2.6)$$

де A – оптична густина досліджуваного розчину;

250 – об'єм розчину, мл;

m – маса сировини, г;

$E^{1\%}_{1\text{cm}}$ – питомий показник поглинання хлорогенової кислоти (531);

W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

2.3.3 Флавоноїди

Для якісного виявлення флавоноїдів у рослинному зборі готували спиртово-водні витяжки. 3 г подрібненої сировини (точна наважка) поміщали у колбу місткістю 100 мл, заливали 30 мл 70 % етанолу Р, до колби приєднували зворотний холодильник та нагрівали на киплячій водяній бані 20 хв, періодично перемішуючи. Після охолодження витяжку фільтрували та очищали від супутніх фенольних сполук за допомогою колонкової хроматографії: фільтрат наносили на колонку (діаметр 1 см), заповнену поліамідним сорбентом (1 г), промивали 50 мл води очищеної Р і вимивали флавоноїди з колонки 70 %

етанолом P, відбираючи забарвлену у жовтий колір фракцію. Одержаний елюат випаровували до 1/2 об'єму та використовували для проведення якісних реакцій та хроматографічного аналізу флавоноїдів. Як зразок для порівняння використовували 0,1 % спиртовий розчин рутину.

З метою ідентифікації флавоноїдів застосовували загальновідомі якісні реакції:

- ціанідинова проба (реакція з кислотою хлористоводневою концентрованою та металічним магнієм): спостерігали появу червоного забарвлення;
- із 10 % розчином луку спостерігали появу жовтого забарвлення;
- із 10 % розчином ферум (III) хлоридом спостерігали зелене забарвлення;
- із 5 % спиртовим розчином алюмінію хлориду спостерігали жовто-зелене забарвлення;
- із розчином плюмбуму ацетату середнім спостерігали утворення драглистого осаду жовтуватого кольору.

Кількісний вміст суми флавоноїдів визначали спектрофотометричним методом, у перерахунку на рутин за допомогою спектрофотометра Shimadzu 1800-UV (Японія) [29].

1 г подрібненої сировини (точна наважка), просіяної крізь сито з діаметром 2 мм, поміщали у колбу зі шліфом місткістю 150 мл, заливали 30 мл 70 % *етанолом P*, колбу зважували. Колбу із зворотним холодильником нагрівали на водяній бані протягом 2 год, періодично струшували для змивання часток сировини зі стінок. Після охолодження до кімнатної температури колбу зважували, при необхідності додавали 70 % *етанол P* до первинної маси. Витяжку фільтрували через фільтр у колбу місткістю 100 мл, відділяли перші 20 мл витяжки.

1 мл витяжки вміщували у мірну колбу місткістю 25 мл, до 1 мл 2 % розчину алюмінію хлориду в 95 % *етанолі P*, об'єм розчину доводили 95 % *етанолу P* до мітки і перемішували (випробуваний розчин). Через 40 хв

вимірювали оптичну густину розчину при довжини хвилі 415 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовували розчин, який містив 1 мл витяжки, 2 краплі *розведеної кислоти ацетатної Р* і доведений 95 % *етанолом Р* до мітки в мірній колбі місткістю 25 мл. Паралельно за цих умов вимірювали оптичну густину розчину СФЗ рутину, приготовленого аналогічно досліджуваному розчину.

Вміст суми флавоноїдів (X, %) у перерахунку на рутин та абсолютно суху сировину розраховували за формулою 2.7:

$$X = \frac{A \times m_0 \times 30 \times 100 \times 100}{A_0 \times m \times (100 - W) \times 100}, \quad (2.7)$$

де А – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина стандартного зразка рутину;

m – маса наважки сировини, г;

m_0 – маса наважки СФЗ ДФУ рутину, г;

W – втрата в масі при висушуванні, % .

2.3 Визначення елементного складу

Встановлення якісного складу та кількісного вмісту макро- і мікроелементів у зразках досліджуваних видів сировини проводили методом атомно-абсорбційної спектроскопії з атомізацією в повітряно-ацетиленовому полум'ї [30].

Пробопідготовку зразків сировини здійснювали методом сухого і вологого (для визначення кадмію) озолення. Сухе озолення полягало у спалюванні досліджуваної подрібненої сировини у муфельній печі при температурі 450-500 °С впродовж 6 годин. Для проведення вологого озолення до наважки подрібненої повітряно-сухої сировини масою 0,1 г додавали 10 % розчин калію біхромату і 10 мл *кислоти сульфатної Р*, кип'ятили до прозорості

розчину, який потім висушували в сушильній шафі та сухий залишок використовували для подальшого аналізу.

Атомно-абсорбційний аналіз проводили на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115 ПК. Атомізація хімічних елементів здійснювалася у повітряно-ацетиленовому полум'ї, за довжини хвилі 220-340 нм. Калібрувальну криву будували в залежності середніх значень поглинання розчинів порівняння солей металів від їх концентрації. Для кожного елемента була досягнута строга лінійність з використанням п'яти калібрувальних розчинів в інтервалі вимірюваних концентрацій. Максимальна відносна похибка вимірювання при довірчій ймовірності 0,95 і п'яти паралельних вимірюваннях становила $\pm 5\%$.

Чутливість даного методу поступово змінювалася від 0,5 % до 0,001 %, відносне стандартне відхилення не перевищувало $\pm 20\%$. Вміст кальцію та магнію у досліджуваних об'єктах визначали титриметричним методом.

2.4 Фармакологічні дослідження

Дослідження проводили на білих безпородних щурах самцях масою 180-200 г, яких утримували у розпліднику віварію Центральної науково-дослідної лабораторії (ЦНДЛ) Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України згідно з санітарно-гігієнічними нормами. Усі досліди проводили відповідно до методик і вимог ДФЦ МОЗ України «Положення про використання тварин у біомедичних дослідженнях» (Ю. М. Кожем'якін) та до правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою науковою метою (м. Страсбург, 1986), і Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», прийнятого 21 лютого 2006 року [61].

Скринінгове визначення ефективності та дози збору антидіабетичного за гіпоглікемічною дією виконували на інтактних нормоглікемічних щурах. Досліджувані антидіабетичні збори вводили у вигляді відварів у дозах 6, 9, 12 мл/кг у порівнянні з аналогом за фармакологічною дією – вітчизняним

лікарським збором «Арфазетин» (ПрАТ «Віола», Україна), та антидіабетичним засобом з групи бігуанідів – таблетками метформіну САНДОЗ® (Лек С. А., Польща). Арфазетин застосовували у вигляді водного відвару дозою 9 мл/кг маси. Доза метформіну розрахована за методом Риболовлєва [28] виходячи з добової дози для людини (1000 мг/день) і становила для щурів 60 мг/кг. Контрольні тварини отримували воду.

На першому етапі визначали можливу гіпоглікемічну дію зборів антидіабетичних та препаратів порівняння за одноразового введення. Гіпоглікемічний ефект оцінювали за їх здатністю знижувати концентрацію глюкози у крові через 60, 120 та 180 хв після їх внутрішньошлункового введення натще у вказаних дозах [11]. Рівень глюкози у крові тварин визначали глюкозооксидазним методом із використанням наборів хімічних реактивів «Д-глюкоза» («Філісіт-Діагностика», Україна).

На другому етапі скринінгового дослідження визначали гіпоглікемічну дію зборів антидіабетичних за умови тривалого введення за допомогою навантажувальних тестів толерантності до глюкози [11, 80, 82, 85]. Досліджувані збори вводили щодня одноразово протягом 20-ти днів, останнє введення здійснювали за одну годину до вуглеводного навантаження. Контрольні тварини отримували еквівалентну кількість води.

Скринінгове дослідження за антигіперглікемічної активності зборів антидіабетичних проводили за умови орального тесту навантаження глюкозою (оральний тест толерантності до глюкози, ОТТГ) у порівнянні зі збором «Арфазетин» та таблетками метформіну. Відвари зборів антидіабетичних у дозах 6, 9, 12 мл/кг, відвар збору «Арфазетин» у дозі 9 мг/кг та суспензію метформіну у дозі 60 мг/кг вводили внутрішньошлунково за 1 год до навантаження вуглеводами.

Внутрішньошлункове введення розчину глюкози дозволяє змоделювати стан аліментарної гіперглікемії, адекватний стану після прийому їжі у людини. Оральний тест толерантності до глюкози проводили вранці натще внутрішньошлунковим введенням 40 % розчину глюкози у дозі 3 г/кг.

Вміст глюкози у крові тварин визначали одразу після введення досліджуваних засобів та через 15, 30, 60, 120 хв після введення розчину глюкози [11, 80, 82, 85] Зразки крові збирали з хвостової вени щурів.

Стан глюкозного гомеостазу у тварин, які отримували відвари зборів антидіабетичних протягом 20-ти днів оцінювали за рівнем базальної глікемії та толерантністю до глюкози, яку визначали за допомогою внутрішньоочеревинного тесту толерантності до глюкози (ВОТТГ).

Внутрішньоочеревинний тест толерантності до глюкози проводили наступним чином: після нічного голодування (16-18 год) щурам вранці внутрішньоочеревинно вводили розчин глюкози у дозі 2 г/кг . Гіпоглікемічну дію досліджуваних зборів та препаратів порівняння оцінювали за їх здатністю знижувати гіперглікемію, спричинену навантаженням глюкозою на 15-й хв ВОТТГ (у час максимального підйому рівня глюкози у крові тварин у відповідь на внутрішньоочеревинне вуглеводне навантаження). Концентрацію глюкози у крові, яку отримували з хвостової вени тварин, визначали до введення глюкози та через 15, 45 та 60 хв глюкозооксидазним методом [11].

Отримані експериментальні дані обробляли методами варіаційної статистики за допомогою стандартного пакету статистичних програм «Statistica v. 6,0». Узагальнені дані з визначення набряку лапи виражали як середнє арифметичне та його стандартну помилку (*mean ± St. er*). Для отримання статистичних висновків при порівнянні виборок відносних перемінних застосовували однофакторний дисперсійний аналіз та критерій Мана-Уїтні. Відмінності між контрольними та дослідними групами вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Фармакологічні дослідження були проведені на 56 білих нелінійних щурах самцях, вирощених у розпліднику віварію ЦНДЛ Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України відповідно до вимог GLP, згідно з методичними рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України [61].

РОЗДІЛ 3

ФІТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН, ЩО ВХОДЯТЬ ДО СКЛАДУ РОСЛИННОГО ЗБОРУ

Фармакологічна дія багатьох видів ЛР, що застосовуються у традиційній та народній медицині, пов'язана з наявністю в них різних груп БАР, які при надходженні в організм тварин і людей виявляють фізіологічно активні властивості та зумовлюють певну фармакодинаміку. Вони називаються діючими речовинами, що мають різноманітний склад і відносяться до різних класів хімічних сполук [73].

Наявність у рослинах комплексу діючих речовин з різновекторним проявом фармакологічної активності сприяє комплексному та ефективному лікуванню захворювань.

БАР лікарських рослин за хімічною будовою нагадують фізіологічно активні сполуки організму або його метаболіти, тому препарати рослинного походження можна призначати тривалий час; вони мають широкий терапевтичний спектр фармакологічної дії; до більшості з них організм людини адаптований, оскільки вони часто присутні у рослинній їжі [51, 73, 77].

Перспективним лікарським засобом у комплексному лікуванні ЦД, на нашу думку, може стати рослинний збір, до складу якого входить ЛРС з багатим та різноманітним вмістом БАР, що проявлятимуть позитивний вплив на метаболізм у даних хворих, покращуватимуть перебіг захворювання та будуть запобігати розвитку діабетичних ускладнень.

3.1 Ідентифікація та кількісне визначення біологічно активних речовин первинного синтезу

3.1.1 Вміст аскорбінової кислоти

Аскорбінова кислота – важлива біологічно активна речовина первинного синтезу, яка виявляє антиоксидантні властивості, служить донором водню для

відновлення різних біологічних субстратів, бере участь у процесах біосинтезу колагену, карнітину, нейротрансмітерів, моделює процеси клітинної проліферації, індукує апоптоз, стимулює імунну систему, підвищуючи проліферацію імунних клітин, має протизапальну та протиалергічну дію, а також бере участь у регуляції окисно-відновних процесів, вуглеводного обміну, згортання крові, регенеруванні тканин і перетворенні холестеролу в стероїдні гормони [33].

Кількісне визначення проводили спектрофотометричним методом, за яким було встановлено, що досліджуваний рослинний збір містить $0,31 \pm 0,02$ % аскорбінової кислоти.

3.1.2 Якісне та кількісне визначення амінокислотного складу

Амінокислоти, окрім своєї основної функції попередників синтезу білка, відіграють ключову роль у численних обмінних процесах, адже мають потужну секретолітичну активність – стимулюють секрецію інсуліну, глюкагону, кортизолу та інсуліноподібного фактору росту-1 [54]. Крім того, дані літератури свідчать про регуляторну роль амінокислот у транскрипції та трансляції генів, а також про їх важливу функцію у внутрішньоклітинній передачі сигналів [52, 54]. Ефективність амінокислот у лікуванні та профілактиці цукрового діабету обумовлена, насамперед, їх здатністю стимулювати секрецію інсуліну у β -клітинах підшлункової залози, а також збільшувати утилізацію глюкози в крові та знижувати аліментарну гіперглікемію. Найбільший інсулінотропний ефект притаманний аргініну, лейцину, ізолейцину, аланіну та фенілаланіну [50, 52]. Окрім цього, амінокислоти можуть зменшувати протеоліз м'язів та/або стимулювати синтез білка, що приводить до поліпшення білкового балансу у скелетних м'язах, що збільшує процес утилізації глюкози. Це є важливою складовою терапії цукрового діабету, адже такі хворі часто мають дефіцит маси скелетних м'язів,

що, в свою чергу, сприяє розвитку інсулінорезистентності та прогресуванню даного захворювання [54].

Якісний склад та кількісний вміст амінокислот у досліджуваній сировині визначали методом газової хромато-мас-спектрометрії (ГХ-МС) за допомогою системи Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, США) [31].

Результати хроматографічного визначення амінокислотного складу рослинного антидіабетичного збору наведені на рисунку 3.1, 3.2 та в таблиці 3.1.

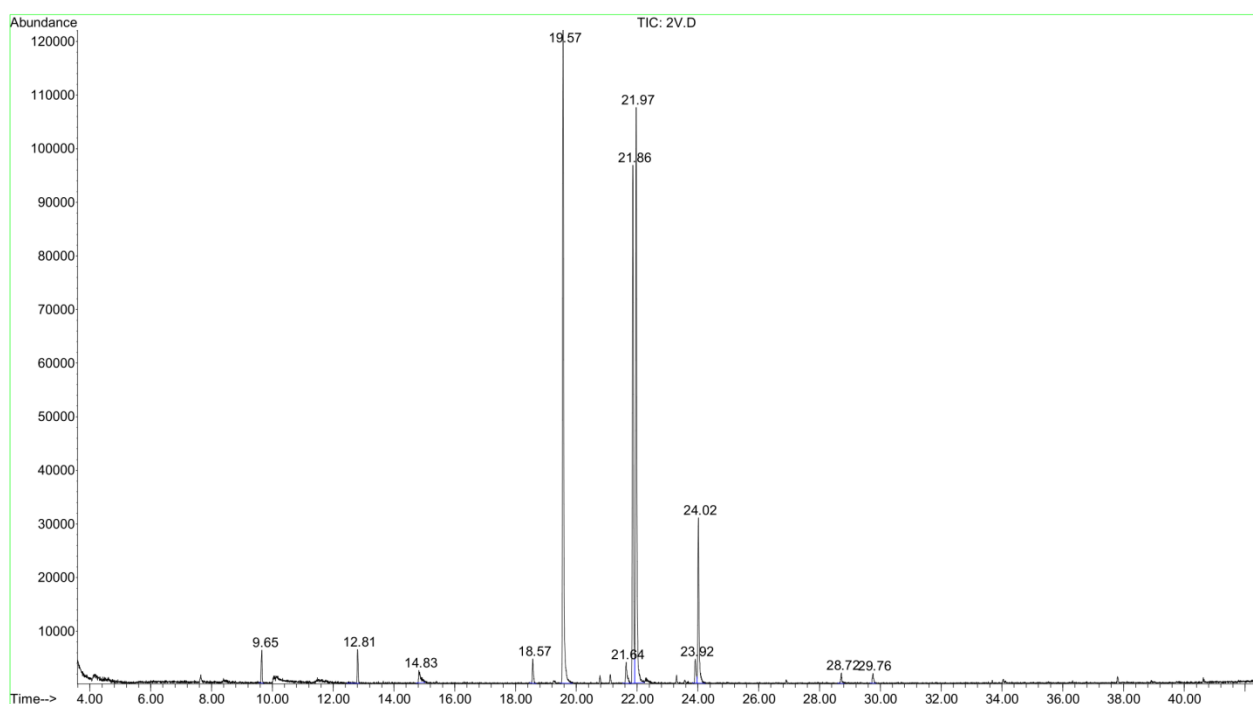


Рис. 3.1 ГХ/МС хроматограма вільних амінокислот у рослинному антидіабетичному зборі.

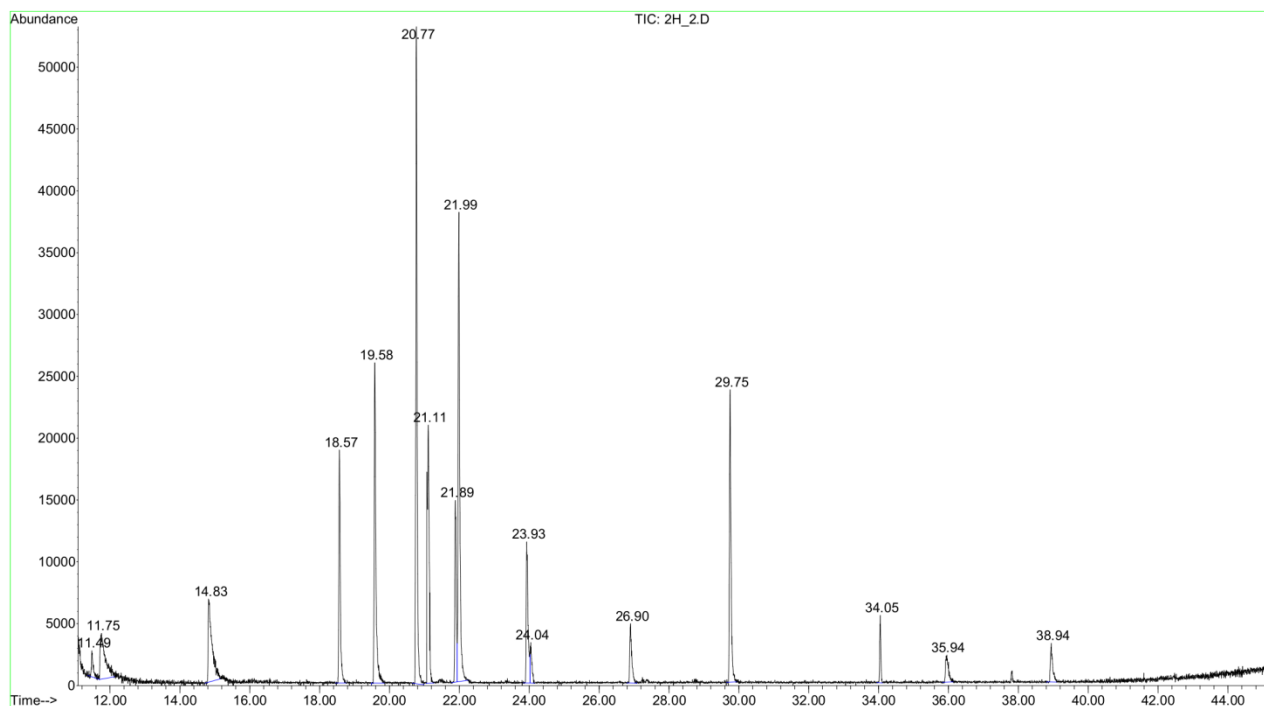


Рис. 3.2 ГХ/МС хроматограма зв'язаних амінокислот у рослинному антидіабетичному зборі.

За результатами ГХ/МС аналізу рослинного антидіабетичного збору було ідентифіковано 8 вільних амінокислот — аланін, гліцин, валін, треонін, ізолейцин, пролін, аспарагінова кислота та фенілаланін, з яких 4 незамінні (рис. 3.1) та 12 зв'язаних амінокислот – аланін, гліцин, валін, лейцин, треонін, ізолейцин, пролін, аспарагінова та глютамінова кислоти, фенілаланін, лізин та тирозин, з яких 5 незамінні (рис. 3.2).

Кількісне визначення показало, що переважаючим амінокислотним компонентом у рослинному антидіабетичному зборі є пролін у вільному та у зв'язаному стані – 7,67 мг/г та 11,10 мг/г, відповідно (табл. 3.1). Пролін проявляє виражену гіпоглікемічну активність, що зумовлена зменшенням вироблення печінкової глюкози внаслідок пригнічення процесів глікогенолізу, глюконеогенезу та активності глюкозо-6-фосфатази [54]. Згідно з результатами хроматографічного аналізу встановлено, що досліджуваний рослинний збір містить у найбільшій кількості лейцин (11,92 мг/г) – незамінну амінокислоту, що знаходиться у зв'язаному стані (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Вміст амінокислот у рослинному антидіабетичному зборі

з/п	Назва	Час утримання, хв.	Вміст вільних амінокислот, мг/г	Вміст зв'язаних амінокислот, мг/г	Загальний вміст, мг/г
1.	Аланін+Гліцин	14,83	0,27	3,91	4,18
2.	Валін*	14,83	0,29	4,37	4,66
3.	Норвалін	18,57	Внутрішній стандарт		
4.	Лейцин*	20,77	н/в	11,92	11,92
5.	Серин	21,04	н/в	н/в	н/в
6.	Треонін*	21,28	0,34	6,51	6,85
7.	Ізолейцин*	21,87	6,36	4,41	10,77
8.	Пролін	21,97	7,67	11,10	18,77
9.	Аспарагін	22,09	н/в	н/в	н/в
10.	Аспарагінова кислота	23,93	0,36	3,23	3,59
11.	Глутамінова кислота	26,90	н/в	1,56	1,56
12.	Метіонін*	27,14	н/в	н/в	н/в
13.	Цистеїн	29,18	н/в	н/в	н/в
14.	Фенілаланін*	29,75	0,14	5,91	6,05
15.	Глутамін	31,90	н/в	н/в	н/в
16.	Лізін	35,94	н/в	1,05	1,05
17.	Гістидин	37,08	н/в	н/в	н/в
18.	Тирозин	38,94	н/в	1,10	1,10
19.	Триптофан*	42,01	н/в	н/в	н/в
Вміст незамінних амінокислот			7,13	33,12	40,25
Загальний вміст			15,43	55,07	70,50

Примітки:

- * – незамінні амінокислоти;
- н/в – не виявлено.

Лейцин – амінокислота з розгалуженим ланцюгом, яка відіграє важливу роль у контролі синтезу білка та регулюванні метаболізму клітин. Однією з найважливіших функцій лейцину при цукровому діабеті є те, що він має здатність стимулювати секрецію інсуліну у β -клітинах підшлункової залози, а також виступає джерелом енергії метаболічних процесів та алостеричним активатором глутаматдегідрогенази для посилення глутамінолізу [50, 54]. У

досліджуваному зборі виявлено значну кількість у вільному стані ізолейцину (6,36 мг/кг), що відноситься до групи есенціальних амінокислот (табл. 3.1). Ізолейцин, що є ізомером лейцину, сам по собі не має здатності стимулювати синтез інсуліну, проте у поєднанні з лейцином їх секретолітична активність значно збільшується, що спричинює більш виражений гіпоглікемічний ефект [50, 54]. Окрім цього, серед зв'язаних у пептиди амінокислот виявлено високий вміст треоніну (6,51 мг/г), фенілаланіну (5,91 мг/г), ізолейцину (4,41 мг/г) та валіну (4,37 мг/г). Усі чотири амінокислоти відносяться до незамінних амінокислот (табл. 3.1). Фенілаланін, ароматична амінокислота, що має безпосередній вплив на перебіг цукрового діабету, зокрема за рахунок своєї здатності регулювати вуглеводний метаболізм шляхом стимулювання вивільнення глюкагоноподібного пептиду-1 (GLP-1), який, у свою чергу, підсилює секрецію інсуліну, інгібує секрецію глюкагону, стимулює проліферацію та неогенез β -клітин підшлункової залози, зменшує інсулінорезистентність [52]. Отже, рослинні амінокислоти, що виявлені у достатній кількості у досліджуваному зборі, мають важливе значення для перебігу та лікування цукрового діабету.

3.1.3 Визначення загального вмісту органічних кислот

Органічні кислоти мають широкий спектр фармакологічних властивостей і біологічної дії на організм людини [6]. Вони є вихідними сполуками при утворенні амінокислот, беруть участь у процесах обміну речовин, проявляють антиоксидантну, протизапальну, жарознижувальну, потогінну, імуномодельную активність [32]. Також завдяки органічним кислотам створюється сприятливе середовище для життєдіяльності корисної мікрофлори у ШКТ, вони регулюють виділення жовчі та панкреатичного соку, покращують апетит, знижують процеси бродіння, підтримують кислотно-основний баланс [6, 32].

За результатами титриметричного визначення було встановлено, що досліджуваний рослинний збір містить $2,1 \pm 0,02$ % загальної суми органічних кислот.

3.1.4 Якісне та кількісне визначення полісахаридів та інуліну

Полісахариди – важливі БАР, які мають позитивний вплив на лікування та профілактику ЦД. Адже вони проявляють антисклеротичну дію, яка обумовлена їх здатністю утворювати комплекси з білками та ліпопротеїдами плазми крові. Інулін – полісахарид, який знижує рівень глюкози в крові, проявляє антиоксидантну та дезінтоксикаційну дію шляхом виведення з організму радіонуклідів та кетонів тлі, покращує стан серцево-судинної системи, знижує рівень холестеролу в крові та нормалізує обмін речовин [62, 76].

У рослинному зборі за допомогою якісних реакцій (з 95 % *етанолом Р*; з реактивом Фелінга після кислотного гідролізу) виявлено полісахариди і відновлювані цукри [14].

Ідентифікацію та кількісне визначення полісахаридів та їх мономерних фрагментів вивчали за допомогою методу ГХ/МС [83].

Результати дослідження показали, що рослинний збір містить 11 вільних цукрів (рис. 3.4) та 9 – зв'язаних (рис. 3.5). За результатами кількісного визначення було встановлено, що переважаючим вільним моносахаридом була фруктоза, її вміст становив 48,32 мг/г. Щодо зв'язаних моносахаридів, то переважала глюкоза з вмістом 13,04 мг/г (табл.).

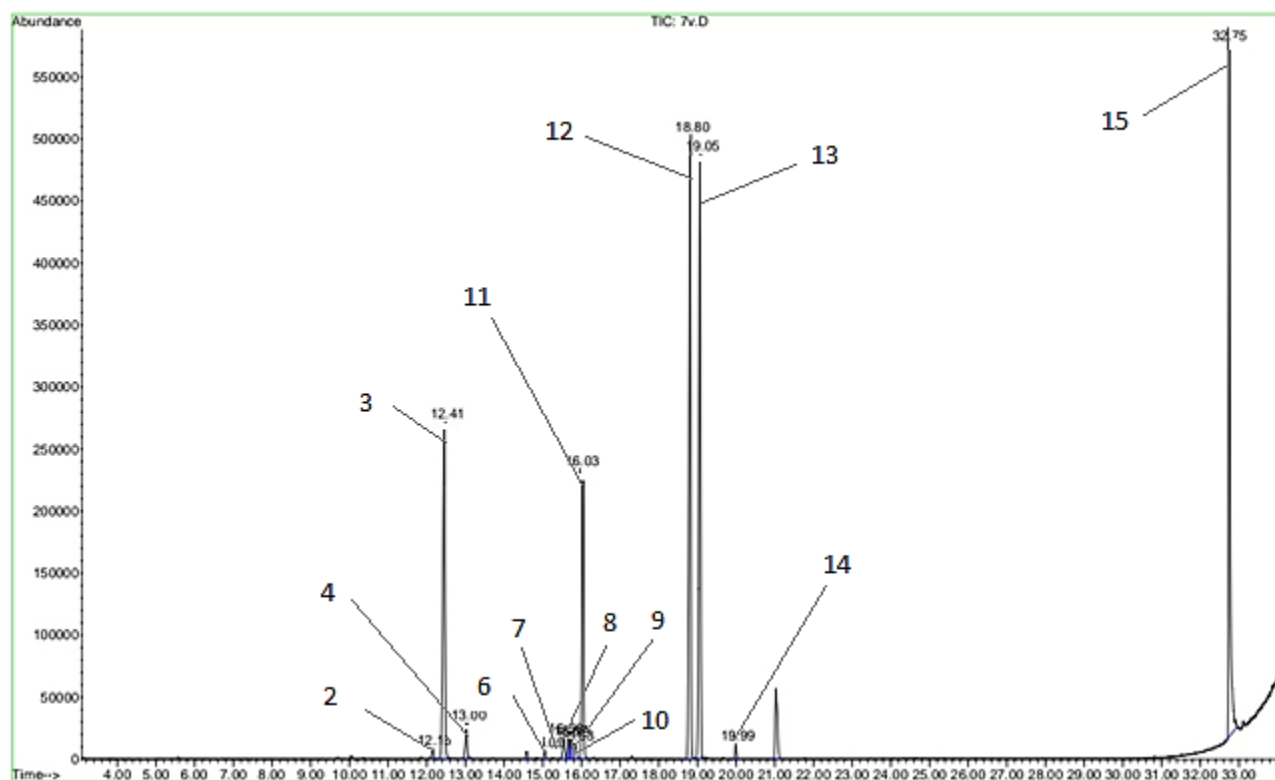


Рис. 3.3 ГХ/МС хроматографа вільних цукрів у рослинному антидіабетичному зборі

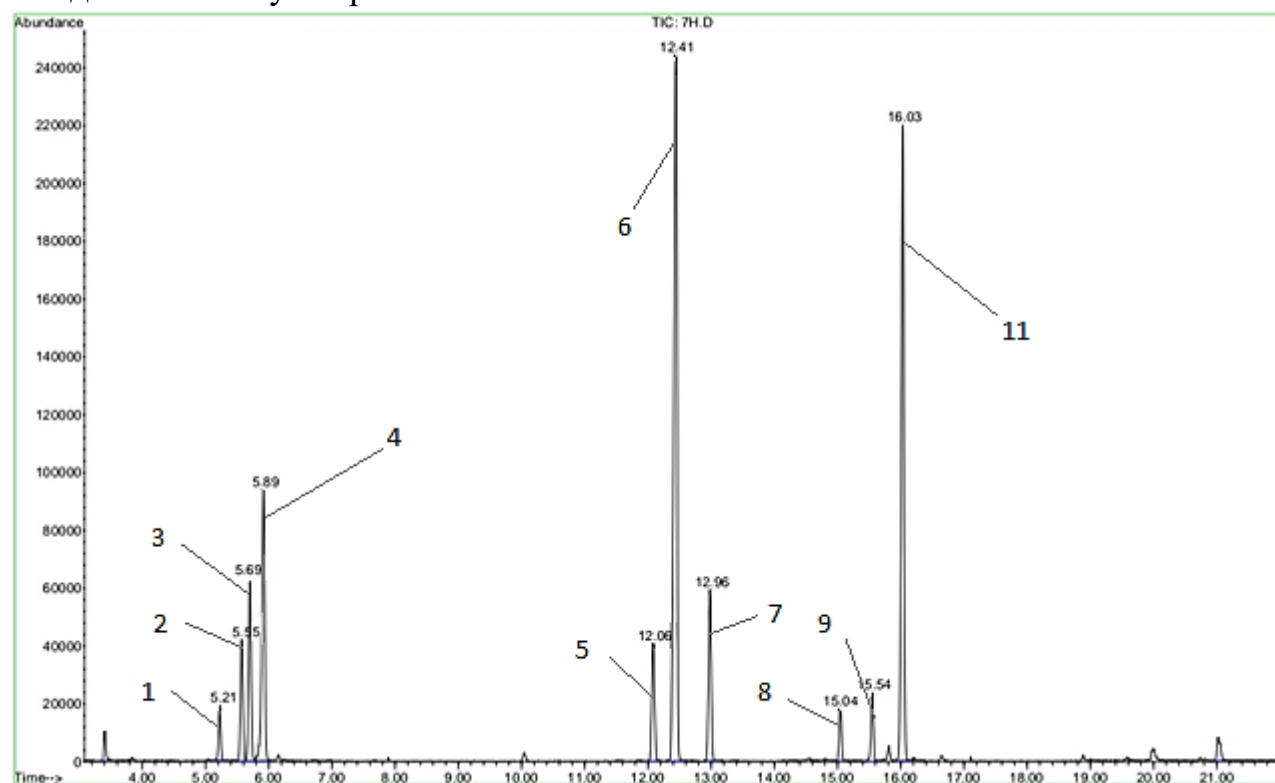


Рис. 3.4 ГХ/МС хроматографа зв'язаних цукрів у рослинному антидіабетичному зборі

Таблиця 3.2

Вміст полісахаридів у рослинному антидіабетичному зборі

№ піку на хроматограмі	Час утримання	Назва	Вміст, мг/г
Вільні полісахариди			
1.	10,01	Арабітол	-
2.	12,13	Маноза	0,40±0,01
3.	12,41	Глюкоза	16,05±0,02
4.	13,00	Галактоза	1,36±0,01
5.	14,56	Пінітол	-
6.	15,03	Муко-інозітол	0,29±0,01
7.	15,50	Міо-інозітол	1,06±0,02
8.	15,60	Глюкопептітол	0,7±0,01
9.	15,70	Ідітол	0,97±0,02
10.	15,82	Манітол	0,94±0,01
11.	16,03	Сорбітол	Внутрішній стандарт
12.	18,80	Фруктоза	25,22±0,03
13.	19,05	Фруктоза	23,1±0,02
14.	19,99	Целобіоза	0,48±0,01
15.	32,75	Сахароха	21,61±0,03
Зв'язані моносахариди			
1.	5,21	Рамноза	1,44±0,01
2.	5,55	Арабіноза	3,84±0,01
3.	5,69	Рибоза	5,94±0,01
4.	5,89	Ксилоза	9,97±0,02
5.	12,06	Маноза	4,18±0,01
6.	12,41	Глюкоза	28,88±0,02
7.	12,96	Галактоза	5,65±0,01
8.	15,04	Муко-інозітол	1,76±0,01
9.	15,54	Міо-інозітол	2,06±0,01
10.	15,81	Манітол	-
11.	16,03	Сорбітол	Внутрішній стандарт

Інулін – поширений в природі резервний полісахарид, поліцукридний ланцюжок якого складається переважно з залишків *D*-фруктози, з'єднаних між собою 1,2-глюкозидними зв'язками. Він знижує рівень глюкози в крові, шляхом уповільнення всмоктування вуглеводів та заміщення глюкози в обмінних

процесах [76]. Проявляє антиоксидантну та дезінтоксикаційну дію завдяки виведенню з організму радіонуклідів та кетонових тіл, а також бере участь у стимулюванні росту та розвитку біфідо-лактофлори, підвищує всмоктування Са в товстому кишечнику, впливає на метаболізм ліпідів, зменшує ризик атеросклеротичних змін у серцево-судинній системі та попереджає розвиток ЦД [62].

Кількісний вміст інуліну визначався різницею між фруктозою як продуктом ферментативного гідролізу та фруктозою, що входить до складу сахарози та вільної фруктози, з урахуванням емпіричного фактора для перетворення фруктози з інуліну. Вуглеводи розділяли за допомогою ГХ/МС після перетворення на леткі похідні у вигляді альдононітрилацетату (рис. 3.5, 3.6) [57]. Дослідження показало, що вміст інуліну у рослинному зборі становив 139.93 мг/г.

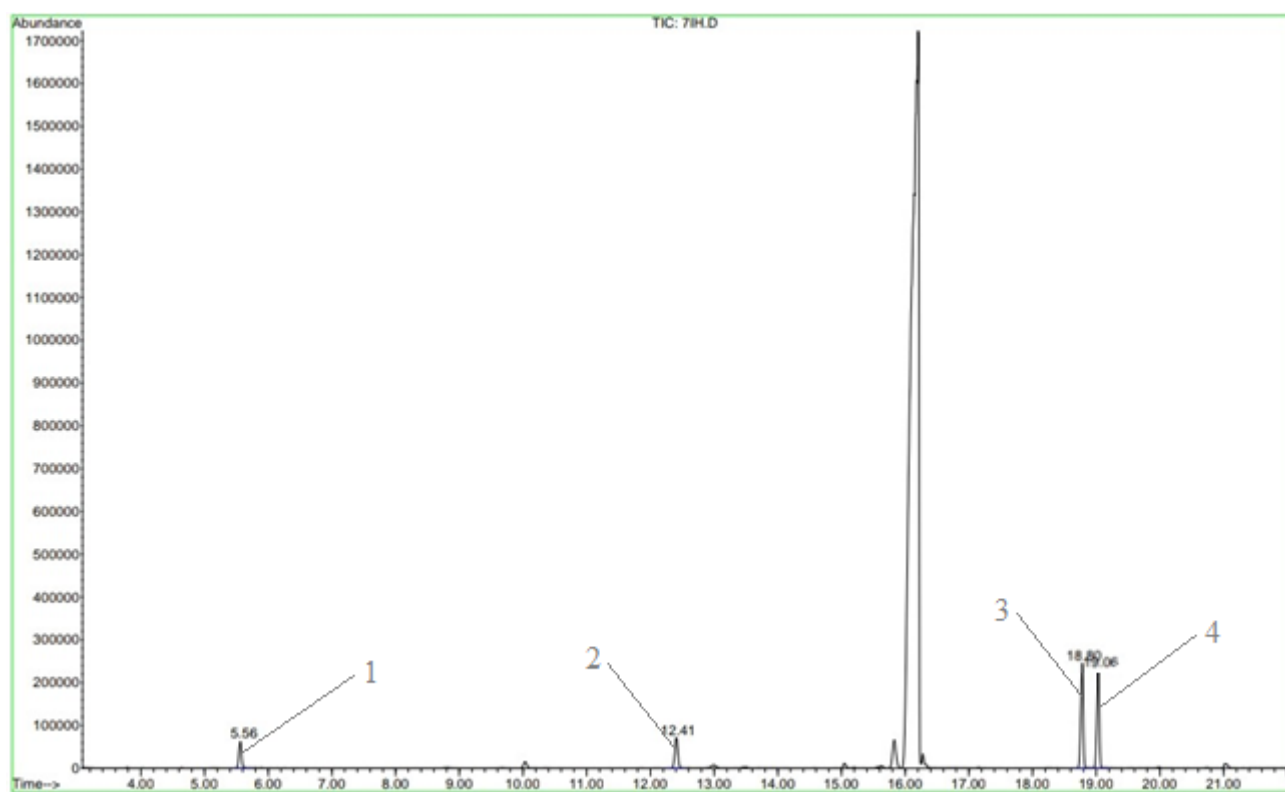


Рис. 3.5 ГХ/МС хроматограма моносахаридів, що утворилися внаслідок ферментативного гідролізу у рослинному антидіабетичному зборі (1 – арабіноза, внутрішній стандарт; 2 – глюкоза; 3-4 – фруктоза)

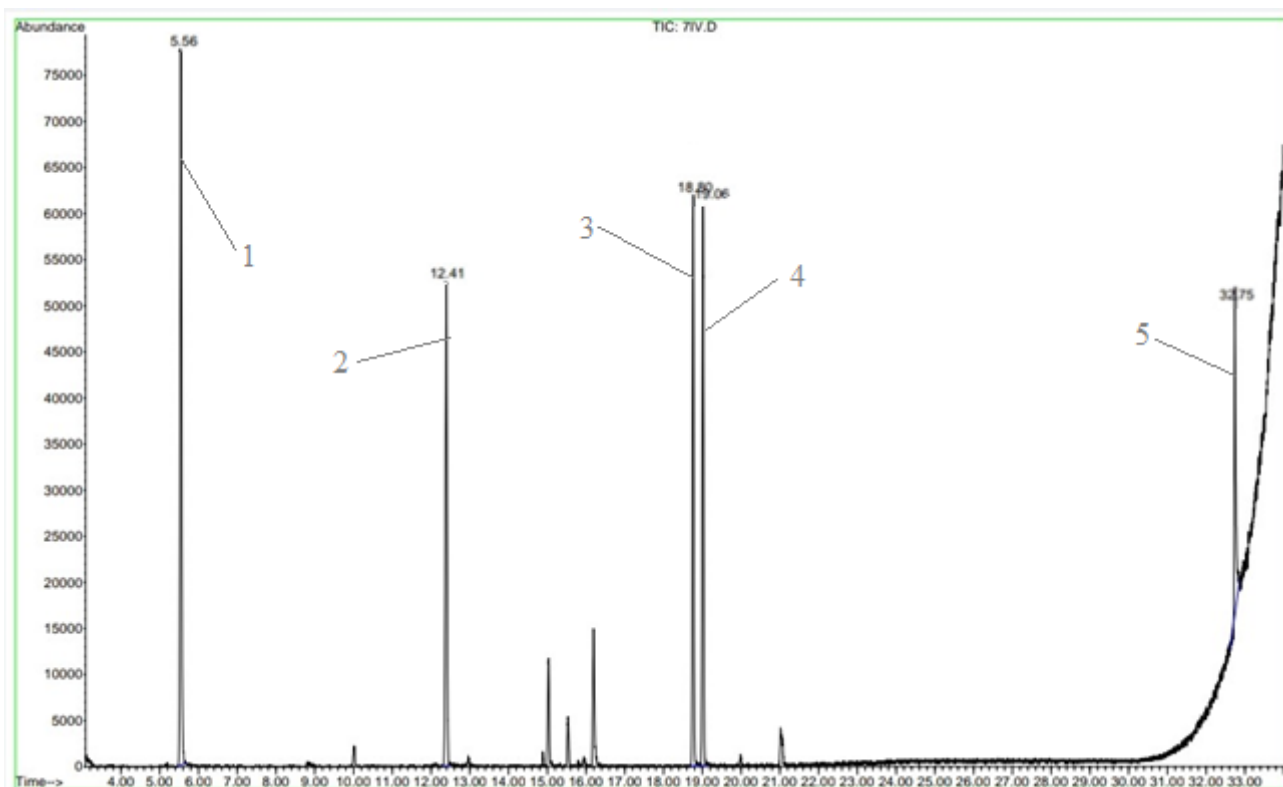


Рис. 3.6 ГХ/МС хроматограма вільних цукрів у рослинному антидіабетичному зборі (1 – арабіноза, внутрішній стандарт; 2 – глюкоза; 3-4 – фруктоза; 5 – сахароза)

3.2 Ідентифікація та кількісне визначення біологічно активних речовин вторинного синтезу

3.2.1 Визначення загального вмісту фенольних сполук

Поліфеноли мають здатність впливати на клітинні мембрани, ферментні білки; регулювати обмін медіаторів – ацетилхоліну, адреналіну; впливати на ведучі системи нейрогуморальної та нейроендокринної регуляції [53]. Фенольні сполуки проявляють такі фармакологічні дії як кровоспинна, протизапальна, антиоксидантна, також в останні роки їх застосовують як кардіопротектори, радіопротектори та протипухлинні засоби [49, 58].

За допомогою реакцій ідентифікації у зборі антидіабетичному виявлено, що переважають конденсовані дубильні речовини.

Для кількісного визначення фенольних сполук використовували спектрофотометричний метод при довжині хвилі 270 нм.

Дослідження показало, що загальний вміст фенольних сполук у досліджуваному зборі становить $(6,79 \pm 0,03)$ % у перерахунку на галову кислоту (рис. 3.7).

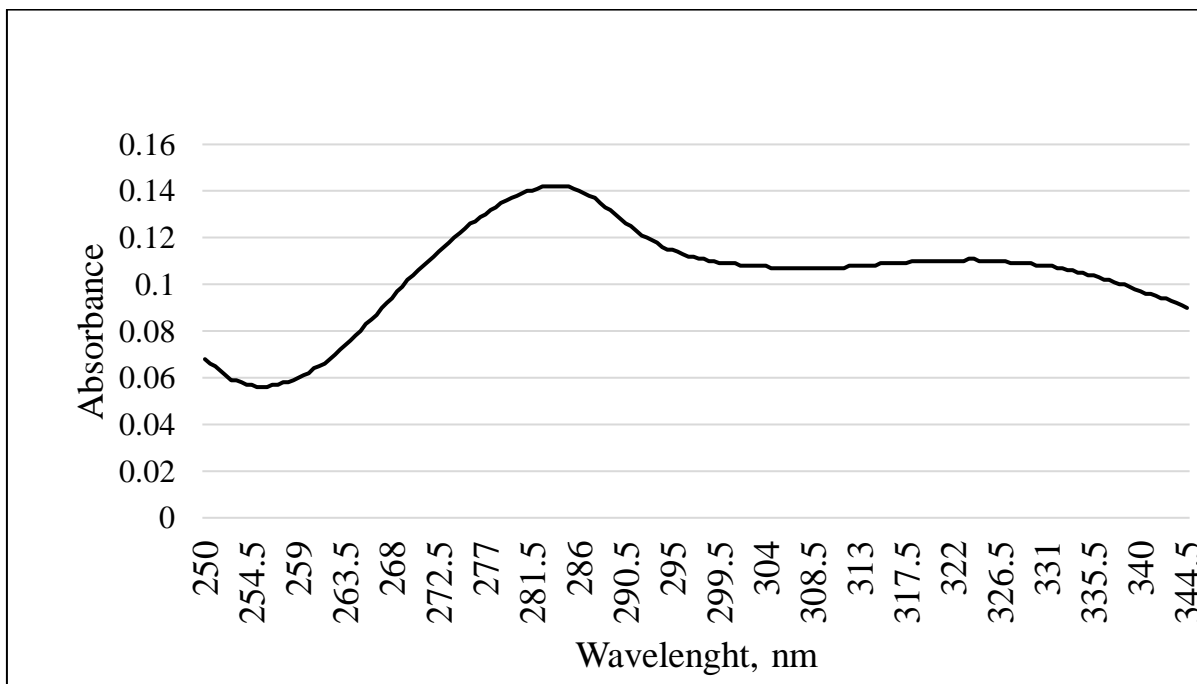


Рис. 3.7 Спектр поглинання фенольних сполук у рослинному антидіабетичному зборі

3.2.2 Якісне та кількісне визначення загального вмісту гідроксикоричних кислот

Гідроксикоричні кислоти мають слабкі бактеріостатичні властивості, виявляють протизапальну, гепатопротекторну (кофейна, ферулова кислоти) та імунотропну (кофейна кислота); жовчогінну, антимікробну, антимікозну, радіопротекторну (ферулова кислота) дію [48]. Джерела літератури свідчать, що ферулова кислота є потужним антидіабетичним агентом, діючи на багатьох ланках патогенезу. Вона сприяє зниженню глюкози в крові з подальшим значним збільшенням інсуліну в плазмі [75].

Для виявлення даної групи сполук використовували спиртово-водний екстракт та проводили реакцію з ферум (III) хлоридом. Спостерігали зелено-сіре забарвлення, яке свідчить про наявність у досліджуваному об'єкті сполук фенольної природи.

Для кількісного визначення гідроксикоричних кислот використовували спектрофотометричний метод при довжині хвилі 327 нм.

Дослідження показало, що загальний вміст гідроксикоричних кислот у досліджуваному зборі становить $(3,17 \% \pm 0,04) \%$ у перерахунку на суху речовину (рис. 3.8).

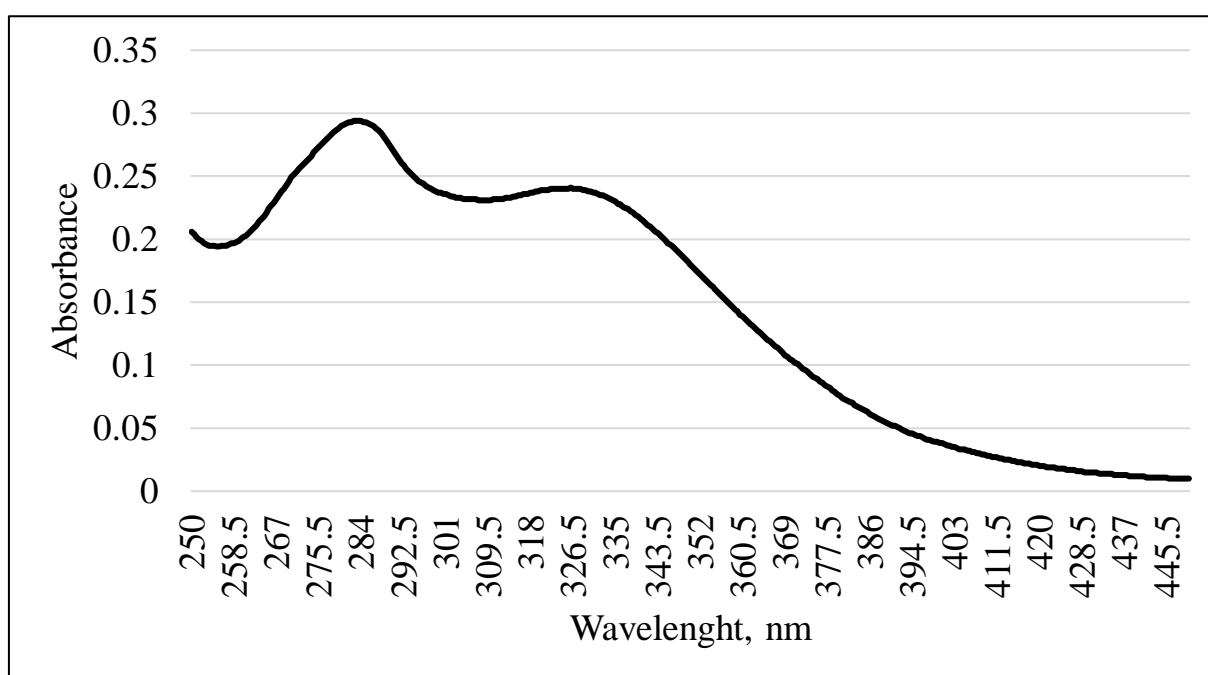


Рис. 3.8 Спектр поглинання гідроксикоричних кислот у рослинному антидіабетичному зборі

3.2.3 Якісне та кількісне визначення загального вмісту флавоноїдів

Однією з важливих особливостей флавоноїдів є антиоксидантна дія. Їх фенольна структура надає можливість молекулі флавоноїдів взаємодіяти з вільними радикалами, зменшуючи інтенсивність перекисного окиснення ліпідів. Антиоксидантна дія флавоноїдів підвищує опірність організму до різних негативних факторів зовнішнього середовища [67]. Антиоксидантні

властивості флавоноїдів обумовлюють також їх гіпохолестеринемічну та антисклеротичну дію, мембраностабілізуючі властивості. Вони виявляють протиалергічну, протидіабетичну, сечогінну, спазмолітичну, гіпотензивну дію, розширюють коронарні судини, підвищують скоротливі властивості міокарду [70].

Важливими є протизапальні, жовчогінні, протипухлинні, протирадіаційні, капіляррозміцнювальні, імуномодулюючі, антимікробні властивості флавоноїдів. Флавоноїдовмісні рослини привертають увагу у зв'язку з перспективою отримання з них лікарських препаратів з широким спектром фармакодинаміки [70, 72].

Для якісного виявлення флавоноїдів у рослинному зборі готували спиртово-водні витяги. Виділення даної групи БАР проводили з допомогою колонкової хроматографії, яка була заповнена поліамідним сорбентом.

Для кількісного визначення суми флавоноїдів використовували спектрофотометричний метод при довжині хвилі 415 нм, перерахунок вели на рутин. Було встановлено загальний вміст флавоноїдів в рослинному зборі – $(1,87 \pm 0,04) \%$ (рис. 3.9).

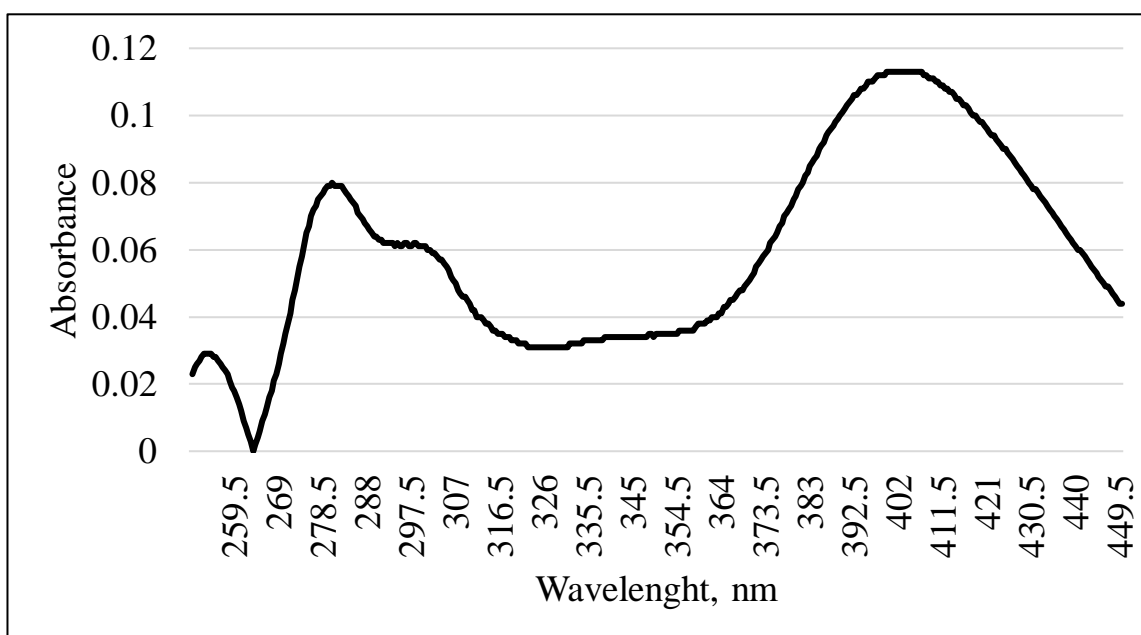


Рис. 3.9 Спектр поглинання флавоноїдів у рослинному антидіабетичному зборі.

3.3 Визначення елементного складу

У регулюванні вуглеводного обміну людини беруть участь багато есенціальних мікроелементів, наприклад Zn, Cu, Mn, Se, Cr та ін. Zn входить до структури інсуліну, збільшує тривалість його цукрознижувальної дії. Гіперглікемія призводить до збільшення екскреції Zn з організму, погіршує перебіг ЦД та його ускладнень. Дефіцит Zn сприяє розвитку оксидативного стресу та руйнації клітин [44].

Відомо, що Cr підвищує активність інсуліну, він є центральним атомом у молекулі гормоноподібної речовини – фактора засвоєння глюкози (GTF – glucose tolerance factor), що функціонує в поєднанні з інсуліном і забезпечує транспортування глюкози через клітинні мембрани. Дефіцит Cr відіграє роль у формуванні діабетичної нейропатії [60].

Існують дані про зв'язок між розвитком ЦД та вмістом в організмі Se. Недостатність в організмі Mn може сприяти розвитку ЦД 2 типу [87].

Ці факти свідчать про необхідність контролю за вмістом мікроелементів та його корекції за допомогою раціонального харчування.

В результаті атомно-абсорбційної спектрометрії було виявлено 5 макроелементів та 4 мікроелементи та встановлено їх кількісний вміст (табл. 3.3).

Дослідження показало, що рослинний антидіабетичний збір є багатим джерелом мікроелементів, що необхідні для покращення перебігу ЦД, зокрема, Mn 17,1 мг/кг; Zn 32,6 мг/кг; Cr 5,0 мг/кг, коли, наприклад, у пшениці вміст Mn 3,2 мг/кг; Zn 3,5 мг/кг; Cr 0,014 мг/кг [30].

Таблиця 3.3

Вміст макро- та мікроелементів у рослинному антидіабетичному зборі

№ з/п	Назва	Вміст, мг/кг
	Масова частка золи, %	7,1
1.	Натрій (Na)	88,0
2.	Калій (K)	19403,0
3.	Кальцій (Ca)	204,0
4.	Магній (Mg)	833,0
5.	Ферум (Fe)	207,0
6.	Купрум (Cu)	11,1
7.	Цинк (Zn)	32,6
8.	Манган (Mn)	17,1
9.	Хром (Cr)	5,0

Таким чином, отримані результати дозволяють зробити висновок, що представлений рослинний антидіабетичний збір, до складу якого входять оману кореневища і корені (*Inulae rhizomata et radices* L.), цмину квітки (*Helichrysi arenarii flores* L.), кукурудзи стовпчики з приймочками (*Maydis style cum stigmatis* L.), материнки трава (*Origanii herba* L.), шипшини коричної плоди (*Rosae majalis fructus* L.) та кульбаби корені (*Taraxaci radices* L.). має значний вміст БАР, що проявляють широкий спектр фармакологічної дії і можуть впливати на всі ланки патогенезу ЦД 2 типу та його ускладнень.

Список публікацій до розділу:

1. Савич А. О., Марчишин С. М., Лемішка Т. І. Вивчення амінокислотного складу збору лікарських рослин з антидіабетичною активністю. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 4. С. 96 – 102.
2. Лемішка Т., Савич А. *Спектрофотометричне визначення гідроксикоричних кислот у рослинному антидіабетичному зборі* : матеріали XXV міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених, м. Тернопіль, 12 – 14 квітня, 2021 р. Тернопіль, 2021. С. 197.
3. Flavonoids as important biocomponents in some plant species and their mixtures with a wide range of pharmacological properties /A. Savych, S. Marchyshun, O. Skrynychuk, [et al.]. Materials of III International Scientific and Practical Conference “Scientific Community: interdisciplinary research, Hamburg, Germany, March 16 – 18, 2021. Hamburg, Germany, 2021. P. 369 – 373.

РОЗДІЛ 4

ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ РОСЛИННОГО ЗБОРУ

Численними клінічними дослідженнями доведена важливість ретельного контролю глікемії у хворих на ЦД 2 типу, дотримання якого дозволяє попередити або ослабити хронічні судинні ускладнення захворювання [45, 66].

Таблиця 4.1

Гіпоглікемічна дія рослинного збору при 20-ти денному профілактичному введенні нормоглікемічним щурам у порівнянні зі збором «Арфазетин» та таблетками метформіну за умов орального тесту толерантності до глюкози (mean±SE, n=8)

Групи тварин	Концентрація глюкози, ммоль/л			
	Вихідні дані	30 хв	60 хв	120 хв
Контрольна група	4,17±0,07	7,89±0,09	7,62±0,12	6,85±0,13
Збір Арфазетин, 9 мл/кг	4,08±0,08	5,38±0,11*	5,33±0,15*	4,92±0,14*
Таблетки метформіну, 60 мг/кг	3,91±0,16	4,28±0,17*/**	4,17±0,18*/* *	4,02±0,14*/ **
Рослинний збір, 6 мл/кг	4,11±0,16	5,53±0,11*	5,42±0,18*	5,24±0,18*
Рослинний збір, 9 мл/кг	4,09±0,13	5,41±0,18*	5,21±0,17*	5,04±0,19*
Рослинний збір, 12 мл/кг	4,07±0,11	4,42±0,17*/**	4,31±0,13*/* *	4,12±0,14*

Примітки:

1. * – відмінності статистично достовірні щодо значень КП, $p < 0,05$ (за U-критеріями Манна-Уїтні);
2. ** – відмінності статистично достовірні і щодо значень препарату порівняння збору «Арфазетин», $p < 0,05$ (за U-критеріями Манна-Уїтні).

Дослідження проводилися на інтактних нормоглікемічних білих щурах самцях масою 180-200 г, які з метою профілактичного лікування впродовж 20-ти днів перорально отримували водні екстракти (1:10) досліджуваних зборів у

дозі 6 мл/кг/день, 9 мл/кг/день та 12 мл/кг/день та препарати порівняння – офіційна збір «Арфазетин» у дозі 9 мл/кг/день та таблетки метформіну у дозі 60 мг/кг/день. Вивчення гіпоглікемічних властивостей та встановлення умовно терапевтичної дози досліджуваних засобів здійснювали за допомогою тестів глюкозного навантаження.

Таблиця 4.2

Гіпоглікемічна дія рослинного збору при 20-денному введенні нормоглікемічним щурам у порівнянні зі збором «Арфазетин» та таблетками метформіну за умови внутрішньоочеревинного тесту толерантності до глюкози (mean±SE, n=8)

Групи тварин	Концентрація глюкози, ммоль/л			
	Вихідні дані	15 хв	45 хв	60 хв
Контрольна група	4,21±0,11	8,62±0,17*	5,23±0,18	4,42±0,11
Збір Арфазетин, 9 мл/кг	4,19±0,18	6,82±0,19*	5,01±0,17	4,43±0,15
Таблетки метформіну, 60 мг/кг	4,14±0,19	6,32±0,17*/**	4,92±0,18	4,21±0,13
Рослинний збір, 6 мл/кг	4,09±0,17	7,19±0,17*	5,26±0,18	4,17±0,17
Рослинний збір, 9 мл/кг	4,11±0,18	7,07±0,16*	5,11±0,16	4,20±0,13
Рослинний збір, 12 мл/кг	4,15±0,21	6,36±0,17*/**	4,94±0,16*	4,21±0,16

Примітки:

1. * – відмінності статистично достовірні щодо значень КП, $p < 0,05$ (за U-критеріями Манна-Уїтні);
2. ** – відмінності статистично достовірні і щодо значень препарату порівняння збору «Арфазетин», $p < 0,05$ (за U-критеріями Манна-Уїтні).

Результати дослідження показали, що 20-ти денне профілактичне введення рослинних зборів знижувало аліментарну гіперглікемію на 30-й хв ОТТГ (табл. 4.1) та сприяло зменшенню порушень толерантності до вуглеводів шляхом зниження гіперглікемії на 15-й хв ВОТТГ (табл. 4.2). Найбільшу гіпоглікемічну активність проявив рослинний збір у дозі 12 мл/кг/день, яка була практично на рівні з препаратом порівняння – таблетками метформіну, але

перевищувала за ефективністю офіційний збір «Арфазетин». Окрім цього, було встановлено дозо-залежність ефективності досліджуваного рослинного збору.

Узагальнюючи отримані дані можна зробити висновок, що незважаючи на практично однакову динаміку глікемії під час проведення тесту, найбільшу активність рослинний збір виявляє у дозі 12 мл/кг, до складу якого входять оману кореневища з коренями, цмину квітки, кукурудзи стовпчики з приймочками, материнки трава, шипшини плоди, кульбаби корені.

Отже, на моделі аліментарної гіпеглікемії визначено виразні антигіперглікемічні властивості нового рослинного збору. За результатами проведеного дослідження була обрана умовно ефективна доза збору антидіабетичного – 12 мл/кг, в якій досліджуваний об'єкт проявляє виразну цукрознижуючу дію.

Список публікацій до розділу:

1. Savych A. O., Marchyshyn S. M., Lemishka T. I. *Changes in protein metabolism in dexamethasone-induced insulin resistant rats under the influence of a plant: International distance scientific and practical conference materials “Modern approach of experimental and preclinical pharmacology”*, Kharkiv, February 19, 2021. Kharkiv, 2021. P. 27 – 28.

2. Савич А. О., Марчишин С.М., Лемішка Т.І. *Дослідження впливу збору лікарських рослин на постпрандіальну гіперглікемію у нормоглікемічних щурів: матеріали міжнар. наук. – практ. конф. «PLANTA+. Наука, практика та освіта»*, м. Київ, 19 лютого 2021 р. Київ, 2021. С. 350 – 352.

ВИСНОВКИ

У магістерській роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукової задачі, яке полягає в експериментальному обґрунтуванні доцільності використання нового рослинного антидіабетичного збору у лікуванні цукрового діабету 2 типу. Розширено знання про фітохімічні та фармакологічні ефекти збору, до складу якого входять оману кореневища і корені (*Inulae rhizomata et radices* L.), цмину квітки (*Helichrysi arenarii flores* L.), кукурудзи стовпчики з приймочками (*Maydis style cum stigmatibus* L.), материнки трава (*Origanum herba* L.), шипшини коричної плоди (*Rosae majalis fructus* L.) та кульбаби корені (*Taraxaci radices* L.). Пояснено зв'язок між гіпоглікемічною дією збору лікарських рослин та особливостями його хімічного складу. Проведено фітохімічний аналіз основних біологічно активних груп збору антидіабетичного. Доведена доцільність подальшого доклінічного вивчення та можливості використання збору лікарських рослин з метою створення перспективного лікарського засобу.

1. Проведено дослідження структури вітчизняного фармацевтичного ринку та встановлено, що існує потреба в забезпеченні ніші засобами на основі рослинної сировини у вигляді зборів для лікування та профілактики цукрового діабету 2 типу. Теоретично обґрунтовано склад багатокomпонентного рослинного збору та механізм фармакологічного впливу його основних біологічно активних речовин на розвиток та перебіг цукрового діабету 2 типу.

2. Вперше методом спектрофотометрії визначено вміст аскорбінової кислоти, загальний вміст фенольних сполук, флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у досліджуваному зборі.

3. Вперше методом ГХ/МС ідентифіковано та визначено кількісний вміст амінокислот, вільних вуглеводів та фракцій полісахаридних комплексів, а також інуліну у рослинному зборі.

4. Методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії ідентифіковано 5 макроелементів та 4 мікроелементи, що мають вплив на розвиток та перебіг

цукрового діабету, та визначено їх кількісний вміст.

5. Встановлено достовірні гіпоглікемічні властивості представленого рослинного збору у дозі 12 мл/кг під час фармакологічного дослідження на інтактних нормоглікемічних тваринах за допомогою глюкозних навантажувальних тестів.

6. Результати проведених фармакогностичних та фармакологічних досліджень підтверджують перспективність застосування даного рослинного збору та доцільність створення на його основі лікарських препаратів з метою оптимізації фармакотерапії цукрового діабету 2 типу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бабина Г. В. Сахарный диабет и беременность: счастливое материнство. Актуальность вопроса в мире и Украине. *Репродуктив. эндокринология*. 2014. № 1. С. 84–88.
2. Біологічні особливості і вирощування малопоширених овочів : навч. посібн. / О. І. Улянич та ін. Умань : ВПЦ «Візаві», 2018. С. 84 .
3. Вивчення деяких представників роду *Rosa* флори України . Ю. О. Коновал, Л. В. Сінченко, О. В. Криворучко та ін. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів: тези доп. всеукр. наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених, м. Харків, 21 – 22 квітня 2011 р. Харків, 2011. С. 74.*
4. Вивчення компонентного складу ефірних олій з трави омани високого (*Inula helenium* L.), омани британського (*Inula Britannica* L.) флори України / О. К. Єренко, О. В. Мазулін, Г. П. Смойловська [та ін.]. *Фармацевтичний журнал*. 2012. № 4. С. 85.
5. Вуглеводний обмін при цукровому діабеті 1–го типу у щурів за умов застосування водного екстракту лушпиння квасолі звичайної. М. Ю. Кузнєцова, Т. І. Галенова, О. М. Савчук [та ін.]. *Фізіол. журн*. 2015. Т. 61, № 6. С. 96 – 103.
6. Гамуля О. В., Федченкова Ю. А., Хворост О. П. Дослідження органічних кислот у сировині огірка посівного. *Фармацевтичний часопис*. 2014. № 4. С.17 – 19.
7. Гудзенко А. В. Розроблення підходів до стандартизації цмину піщого (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench.) в рослинних сумішах. *Фармацевтичний журнал*. 2014. № 6. С. 77 .
8. Державна Фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. 1-е вид. Харків: РІРЕГ, 2001. 556 с.

9. Державна Фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр. 1 вид., Доповн. 2. X. : Державне підприємство “Науково – експертний фармакопейний центр. 2008. 620 с.
10. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Науково – експертний фармакопейний центр». 2 – е вид., Т. 3. X.: Держ. п-во «Науково – експертний фармакопейний центр», 2014. 732 с. (Аскорб.К)
11. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації / За ред. чл. – кор. АМН України О. В. Стефанова. К.: Авіцена, 2001 р. 528 с.
12. Ендокринологія: підруч. для студ. вищ. мед. навч. закл. IV рівня акредитації / П. М. Боднар та ін.; за ред. П. М. Боднар. 3–тє вид., перероб. та доп. Вінниця: Нова Книга, 2013. 478 с.
13. Исследование антиоксидантных и антирадикальных свойств экстрактов корней и корневищ девясила (*Inula L.*) / В. А. Артемьева, Т. А. Ямашев, Т. А. Панкратова [та ін.]. *Вестник Казанского технологического университета*. Казань, 2017. Т.20, № 20. С. 109.
14. Калушка О. Б., Марчишин С. М. Полісахаридний комплекс підземних і надземних органів пирію повзучого (*Agropyron repens (L.)*). *Фармацевтичний часопис*. 2009. Т. 9, № 3. С. 22–24.
15. Козачок С. С., Марчишин С. М., Виноградов Б. О. Якісний склад та кількісний вміст органічних кислот у зборі антиалергічному. *Фармацевтичний часопис*. 2012. № 4. С. 67–72.
16. Константинов Ю. М. Одуванчик, подорожник. Природные лекарства. Москва: Центрполиграф, 2013. 160 с.
17. Котюк Л. А., Д. Б. Рахметов. Біологічно активні речовини *Origanum vulgare*. *Физиология растений и генетика*. 2016. Т. 48, № 1. С. 20.
18. Кравчун П. П. Статеві і вікові особливості поширення цукрового діабету 2–го типу, ожиріння та хронічної серцевої недостатності у хворих з постінфарктним кардіосклерозом. *Експерим. і клініч. медицина*. 2015. № 2. С. 70–73.

19. Криворучко Е. В. Карбоновые кислоты плодов шиповника собачьего. *Вестник фармации*. 2014. № 3 (65). С. 38 – 39.
20. Марчишин С. М., Гусак Л. В., Бердей Т. С. Дослідження кислот гідроксикоричних трави чистецю Зібольда. *Медична та клінічна хімія*. 2016. Т. 8, № 3. С. 13 – 16.
21. Носаль М. А., Носаль І. М. Лікарські рослини і способи їх застосування в народі. Київ, 2013. С. 207.
22. Носаль М. А., Носаль І. М. Лікарські рослини і способи їх застосування в народі. Київ, 2013. С. 99 .
23. Носаль М. А., Носаль І. М. Лікарські рослини і способи їх застосування в народі. Київ, 2013. С. 173 .
24. Петрова С. Н., Ивкова А.В. Химический состав и антиоксидантные свойства видов рода *Rosa L.* *Химия растительного сырья*. 2014. № 2. С. 13 – 16.
25. Поширення порушень вуглеводного обміну в міській популяції України залежно від ступеня і типу ожиріння / О. І. Мітченко, М. Н. Мамедов, Т. В. Колесник [та ін.]. *Міжнар. ендокринолог. журн.* 2015. № 4. С. 11–16.
26. Розробка методики якісного аналізу кукурудзи стовпчиків з прийомками для включення у проект національної монографії до Державної Фармакопеї / У. В. Карпюк, Е. Е. Котова, А. Г. Котов [та ін.]. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2017. № 3(7). С. 25.
27. Рослинництво: навчальний посібник для студентів галузі знань 20 «Аграрні науки та продовольство» спеціальності 201 «Агрономія» першого бакалаврського рівня / В.А. Мазур та ін. Вінниця: ВНАУ, 2020. С. 132 .
28. Рыболовлев Ю. Р., Рыболовлев Р. С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности. *Доклады АН СССР*. 1979. Т. 247, № 6. С. 1513–1516.
29. Савич А. О., Марчишин С. М., Кравчук Л. О. Дослідження якісного складу та кількісного вмісту флавоноїдів у зборах антидіабетичних № 3 і № 4 методом ВЕРХ. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, №2 (33). С. 219 – 224

30. Савич А. О., Марчишин С. М. Аналіз мінерального складу рослинних антидіабетичних. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 2. С. 81 – 86.
31. Савич А. О., Марчишин С. М., Лемішка Т. І. Вивчення амінокислотного складу збору лікарських рослин з антидіабетичною активністю. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 4. С. 96 – 102.
32. Смойловська Г. П. Дослідження якісного складу та кількісного вмісту карбонових кислот у листі *Urtica dioica* L. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2015. № 3 (19). С. 48– 51.
33. Соколова Л. В. Визначення кількісного вмісту кислоти аскорбінової в сублимованих порошках рослин. *Український медичний альманах*. 2010. № 13(6). С. 133–136.
34. Суслик Г. І., Капустинська О. С., Гирявенко О. Я. Роль макро- та мікроелементів у патогенезі цукрового діабету 2 типу. *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія*. 2014. № 2 (47). С. 19.
35. Товстуха Є. С. Золоті рецепти української народної медицини. К.: КМ, 2010. 550 с.
36. Фармакогнозія : базовий підруч. для студ. вищ. фармац. навч. закл. (фармац. ф-тів) IV рівня акредитації / В.С. Кисличенко та ін. ; за ред. В.С. Кисличенко. Харків : НФаУ «Золоті сторінки», 2015. С.498 .
37. Фармакогнозія : базовий підруч. для студ. вищ. фармац. навч. закл. (фармац. ф-тів) IV рівня акредитації / В.С. Кисличенко, І.О. Журавель, С.М. Марчишин та ін.; за ред.: В.С. Кисличенко. Харків : НФаУ «Золоті сторінки», 2015. С. 310 .
38. Фармакогнозія : базовий підруч. для студ. вищ. фармац. навч. закл. (фармац. ф – тів) IV рівня акредитації / В.С. Кисличенко, І.О. Журавель, С.М. Марчишин та ін. ; за ред.: В.С. Кисличенко. Харків : НФаУ «Золоті сторінки», 2015. С. 212 .
39. Фармакогнозія : базовий підруч. для студ. вищ. фармац. навч. закл. (фармац. ф – тів) IV рівня акредитації / В.С. Кисличенко, І.О. Журавель,

С.М. Марчишин та ін. ; за ред.: В.С. Кисличенко. Харків : НФаУ «Золоті сторінки», 2015. С. 255 .

40. Цитокиновый статус и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови больных сахарным диабетом 2 типа и неалкогольной жировой / Е. А. Кондратюк, П. Н. Боднар, Н. И. Лисяный [та ін.]. *Ендокринологія*. 2015. Т. 20, № 1. С. 401–407.

41. Экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой как потенциальное средство терапии токсических гепатитов / Л. Г. Дворникова , В. Ф. Турецкова , С. В.Замятина [та ін.]. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук* . 2012. №14 (5– 3). С. 711– 714.

42. Яблонська К. М. Косоголова Л. О., Мосюк Л. І. Підбір методів екстракції біологічно активних речовин з кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale* Wigg.). *Проблеми екологічної біотехнології*. 2015. № 1. С. 2.

43. *A review of the epidemiology of diabetes in rural India* / P. Misra, R. P. Upadhyay, A. Misra [et al.]. *Diabetes Res Clin Pract.* 2011. Vol. 92(3). P. 303–11.

44. *A Systematic Review on the Implication of Minerals in the Onset, Severity and Treatment of Periodontal Disease* / A. Varela-López, F. Giampieri, P. Bullón [et al.]. *Molecules*. 2016. Vol. 21(9). P. 1183.

45. American Diabetes Association. *Standards of Medical Care in Diabetes. Diabetes care*, 2020. Vol. 43, 1212 pp.

46. Anti-atherosclerotic activities of flavonoids from the flowers of *Helichrysum arenarium* L. MOENCH through the pathway of anti-inflammation / Z. Mao, C. Gan, J. Zhu [et al.]. *Bioorg. Med. Chem.* 2017. Vol. 27. P. 2812–2817.

47. Antihyperglycemic, hypolipidemic and antioxidant properties of the herbal mixtures in dexamethasone – induced insulin resistant rats / A. Savych, S. Marchyshyn, R. Basaraba [et al.]. *Pharmacologyonline*. 2020. Vol. 2. P. 73 – 82.

48. Anti-obesity and cardioprotective effects of cinnamic acid in high fat diet- induced obese rats / K. Mnafigui, A. Derbali, S. Sayadi [et al.]. *Journal of Food Science and Technology*. 2015. Vol. 52 (7). P. 4369– 4377.

49. Antioxidant plants and diabetes mellitus / H. Nasri, H. Shirzad, A. Baradaran [et al.]. *J Res Med Sc.i.* 2015. Vol. 20 (5). P. 491– 502.
50. Application of Raman spectroscopy in type 2 diabetes screening in blood using leucine and isoleucine amino – acids as biomarkers and in comparative anti-diabetic drugs efficacy studies / Z. Birech, P. W. Mwangi, F. Bukachi [et al.]. *PloS one.* 2017. Vol.12 (9). P. 413
51. Basic principles for the using of medicinal plants and their mixtures for the treatment and prevention of diabetes type 2 / A. O. Savych, S. M. Marchyshyn, H. R. Kozyr [et al.]. *Phytherapy chasopys.* 2019. Vol. 4. P. 43– 46.
52. Branched-chain and aromatic amino acid profiles and diabetes risk in Chinese populations / T. Chen, Y. Ni, X. Ma [et al.]. *Scientific reports.* 2019. Vol. 6. P. 20594.
53. Combining pressurized liquids with ultrasound to improve the extraction of phenolic compounds from pomegranate peel (*Punica granatum L.*) / B. R. Sumere, M .C. De Souza, M. P. Dos Santos [et al.]. *Ultrason Sonochem.* 2018. Vol. 48. P. 151– 162.
54. Comerford K. B., Pasin G. Emerging evidence for the importance of dietary protein source on glucoregulatory markers and type 2 diabetes: different effects of dairy, meat, fish, egg, and plant protein foods. *Nutrients.* 2016. Vol. 8 (8). P.446.
55. Determination of amino acids content in two samples of the plant mixtures by GC-MS / A. Savych, S. Marchyshyn, M. Harnyk [et al.]. *Pharmacia.* 2021. Vol. 68(1). P. 283 – 289.
56. Determination of carbohydrates of *Chrysanthemum morifolium L.* leaves and flowers by GC-MS / S. Marchyshyn, O. Polonets, A. Savych [et al.]. *Pharmakeftiki Journal.* 2020. Vol. 32. № 4. P. 202 – 212.
57. Determination of inulin in the herbal mixtures by GC-MS method / A. Savych, S. Marchyshyn, H. Kozyr [et al.]. *Pharmacia.* 2021. № 68(1). P. 181 – 187.

58. Dietary polyphenols and gene expression in molecular pathways associated with type 2 diabetes mellitus: a review / G.G. Kang, N. Francis, R. Hill [et al.]. *Int J Mol Sci*. 2019. Vol. 21(1). P.140.
59. Differentiation of diabetes by pathophysiology, natural history, and prognosis / J. S. Skyler, G. L. Bakris, E. Bonifacio [et al.]. *Diabetes*. 2017. Vol. 66(2). P. 241– 255.
60. Dubey P., Thakur V., Chattopadhyay M. Role of minerals and trace elements in diabetes and insulin resistance. *Nutrients*. 2020. Vol. 12(6). P.1864.
61. EEC. "Council directive 2010/63/EU, of the 22nd September 2010 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the member states regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes". *Official Journal of the European Communities*. 2010. P.1–29.
62. Effect of inulin-type carbohydrates on insulin resistance in patients with type 2 diabetes and obesity: a systematic review and meta-analysis / M. Rao, C. Gao, L. Xu [et al.]. *Journal of diabetes research*. Vol. 2019 (13). P. 5101423.
63. Flavonoids and phenolic acids from oregano: occurrence, biological activity and health benefits / E. P.Gutiérrez – Grijalva, M. A.Picos-Salas, N. Leyva-López [et al.]. *Plants*. 2018. Vol. 7(1). P. 7.
64. Global trends in diabetes complications: a review of current evidence / J. L. Harding, M. E. Pavkov, D. J. Magliano [et al.]. *Diabetologia*. 2019. Vol. 62(1). P. 3– 16.
65. In vitro and in vivo antioxidant activities of inulin / H. M. Shang, H. Z. Zhou, J. Y. Yang [et al.]. *PloS one*. 2018. Vol. 13(2). e0192273.
66. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. 9th edition, 2019. Brussels, Belgium. URL: <http://www.diabetesatlas.org>.
67. Kaurinovic B., Vastag G. Flavonoids and phenolic acids as potential natural antioxidants. *IntechOpen. Antioxidants*. 2019. DOI:10.5772/intechopen.83731.
68. Kim M., Song K., Kim Y. S. Alantolactone improves palmitate-induced glucose intolerance and inflammation in both lean and obese states in vitro:

Adipocyte and adipocyte-macrophage co-culture system. *Int. Immunopharmacol.* 2017. № 49. P. 187 – 194.

69. Lukas B., Schmiderer C., Novak J. Essential oil diversity of European *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae). *Phytochemistry*. 2015. Vol. 119. № 4. P. 32 – 40.

70. Luteolin improves the impaired nerve functions in diabetic neuropathy: behavioral and biochemical evidences / M. Li, Q. Li, Q. Zhao [et al.]. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015. Vol. 8(9). P. 10112– 10120.

71. Microscale analysis of amino acids using gas chromatography-mass spectrometry after methyl chloroformate derivatization / W. P. Chen, X. Y. Yang, A. D. Hegeman [et al.]. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 2010. Vol. 878(24). P. 2199-2208.

72. Molecular mechanisms of the anti-obesity and anti-diabetic properties of flavonoids / M. Kawser Hossain, A. Abdal Dayem, J. Han [et al.]. *Int J Mol Sci.* 2016. Vol. 17(4). P. 569.

73. Natural phyto-bioactive compounds for the treatment of type 2 diabetes: inflammation as a target / S. Gothai, P. Ganesan, S.Y. Park [et al.]. *Nutrients*. 2016. Vol. 8(8). P.461.

74. Oh Y. S., Jun H. S. Role of bioactive food components in diabetes prevention: effects on Beta-cell function and preservation. *Nutr Metab Insights*. 2014. Vol. 7. P. 51– 59.

75. Ong K. W., Hsu A, Tan B. K. Chlorogenic acid stimulates glucose transport in skeletal muscle via AMPK activation: a contributor to the beneficial effects of coffee on diabetes. *PLoS One*. 2012. Vol. 7(3). e32718.

76. Paternoster S., Falasca M. Dissecting the physiology and pathophysiology of glucagon-like peptide-1. *Frontiers in endocrinology*. 2018. Vol. 9. P. 584.

77. Phytotherapy in the management of diabetes: a review / P. Governa, G. Baini, V. Borgonetti [et al.]. *Molecules*. 2018. Vol. 23. P.105.

78. Predictive models of diabetes complications: protocol for a scoping review / R. Ndjaboue, I. Farhat, C.A. Ferlatte [et al.]. *Syst Rev.* 2020. Vol. 9(1). P.137.

79. Sandy everlasting (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench): botanical, chemical and biological properties / D. Pljevljakušić, D. Bigović, T. Janković [et al.]. *Front. Plant Sci.* 2018. Vol. 9. P.1123.

80. Savych A. O., Marchyshyn S. M., Basaraba R.Yu. Determination of hypoglycemic activity of the herbal mixtures in screening study. *Pharmacology and Drug Toxicology.* 2020. № 14 (5). P. 344–351.

81. Savych A., Marchyshyn S., Basaraba R. Determination of fatty acid composition content in the herbal antidiabetic collections. *Pharmacia.* 2020. № 67(3). P. 153–159.

82. Savych A., Marchyshyn S., Doroshenko O. Screening of hypoglycemic activity of herbal mixtures (Message 2). *Ukrainian biopharmaceutical journal.* 2020. №3 (64). P. 22– 29.

83. Savych A., Marchyshyn S., Milian I. Determination of carbohydrates in the herbal antidiabetic mixtures by GC-MC. *Acta Pharmaceutica.* 2021. Vol. 71. № 3. P. 429– 443.

84. Savych A., Marchyshyn S., Basaraba R. Screening study of hypoglycemic activity of the herbal mixtures (Message 1). *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science».* 2020. №4 (26). P. 40– 46.

85. Savych A. O., Marchyshyn S. M., Milian I. I. Screening study of hypoglycemic activity of herbal mixtures (Presentation 3). *Clinical Pharmacy.* 2020. Vol. 24. № 4. P. 38– 46.

86. Shoaiba M., Shehzad A. Inulin: Properties, health benefits and food applications. *Carbohydr Polymer.* 2016. Vol. 147. P. 444– 454.

87. Siddiqui K., Bawazeer N., Joy S. S. Variation in macro and trace elements in progression of type 2 diabetes. *TheScientificWorldJournal.* 2014. P. 461591.

88. The role of medicinal plants in the treatment of diabetes: a systematic review / W. Kooti, M. Farokhipour, Z. Asadzadeh [et al.]. *Electron Physician* . 2016. Vol. 8(1). P.1832 – 1842.
89. Tobyn G. , Denham A., Whitelegg M. The western herbal tradition: 2000 years of medicinal plant knowledge . London, UK: Singing Dragon, 2016. P. 201.
90. Vancompernelle B., Croes K., Angenon G. Optimization of a gas chromatography–mass spectrometry method with methyl chloroformate derivatization for quantification of amino acids in plant tissue. *Journal of Chromatography B*. 2016. Vol. 1017. P. 241– 249.
91. Vendrell-Pascuas S., Castellote-Bargalló A., López-Sabater M. Determination of inulin in meat products by high-performance liquid chromatography with refractive index detection. *Journal of Chromatography A*. 2000. Vol. 881(1– 2). P. 591– 597.
92. Weerasak S., Vorarat S. Simultaneous determination of gallic acid, catechin, rutin, ellagic acid and quercetin in flower extracts of *Michelia alba*, *Caesalpinia pulcherrima* and *Nelumbo nucifera* by HPLC. *Thai pharmaceutical and health science journal*. 2007. Vol. 2. № 2. P. 131– 137.
93. Winther K., Vinther Hansen A. S., Campbell-Tofte J. Bioactive ingredients of rose hips (*Rosa canina* L) with special reference to antioxidative and anti-inflammatory properties: in vitro studies. *Botanics: Targets and Therapy*. 2020. Vol.6. P. 11—23.

ДОДАТКИ

Список публікацій магістранта

1. Савич А. О., Марчишин С. М., Лемішка Т. І. Вивчення амінокислотного складу збору лікарських рослин з антидіабетичною активністю. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 4. С. 96 – 102.
2. Савич А. О., Марчишин С.М., Лемішка Т.І. *Дослідження впливу збору лікарських рослин на постпрандіальну гіперглікемію у нормоглікемічних щурів*: матеріали міжнар. наук. – практ. конф. «PLANTA+. Наука, практика та освіта», м. Київ, 19 лютого 2021 р. Київ, 2021. С. 350 – 352.
3. Лемішка Т., Савич А. *Спектрофотометричне визначення гідроксикоричних кислот у рослинному антидіабетичному зборі* : матеріали XXV міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених, м. Тернопіль, 12 – 14 квітня, 2021 р. Тернопіль, 2021. С. 197.
4. Savych A. O., Marchyshyn S. M., Lemishka T. I. *Changes in protein metabolism in dexamethasone-induced insulin resistant rats under the influence of a plant*: International distance scientific and practical conference materials “Modern approach of experimental and preclinical pharmacology”, Kharkiv, February 19, 2021. Kharkiv, 2021. P. 27 – 28.
5. Flavonoids as important biocomponents in some plant species and their mixtures with a wide range of pharmacological properties /A. Savych, S. Marchyshun, O. Skrynychuk, [et al.]. Materials of III International Scientific and Practical Conference “Scientific Community: interdisciplinary research, Hamburg, Germany, March 16 – 18, 2021. Hamburg, Germany, 2021. P. 369 – 373.

Магістерська робота захищена

" ____ " _____ 2021 р.

з оцінкою _____

Голова екзаменаційної комісії

з атестації випускників:

доцент кафедри управління та
економіки фармації з технологією ліків

Тернопільського національного

медичного університету імені

І.Я. Горбачевського МОЗ України

кандидат фармацевтичних наук

доц. Козир Г.Р.