

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

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

КОСТИШИН ЛІЛЯ ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 615.322.07:615.254.1:582.661:582.991.18(043.3)

ДИСЕРТАЦІЯ
ФІТОХІМІЧНЕ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ
ВИКОРИСТАННЯ МИЛЬНЯНКИ ЛІКАРСЬКОЇ ТА ЧОРНОБРИВЦІВ
ЗОЛОТИСТИХ ЯК СЕЧОГІННИХ ЗАСОБІВ

226 «Фармація, промислова фармація»

22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Л. В. Костишин

Науковий керівник: Марчишин Світлана Михайлівна, доктор фармацевтичних наук, професор

Тернопіль – 2023

АНОТАЦІЯ

Костишин Л. В. Фітохімічне та фармакологічне обґрунтування використання мильнянки лікарської та чорнобривців золотистих як сечогінних засобів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація» (22 «Охорона здоров'я»). – Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 2023.

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 2023.

Дисертаційна робота присвячена вивченню мильнянки лікарської та чорнобривців золотистих, які, згідно з джерелами літератури, використовують у традиційній медицині як сечогінні засоби. Проведено комплексний фармакогностичний аналіз мильнянки лікарської трави і коренів та чорнобривців золотистих трави. У досліджуваній сировині встановлено наявність аміно- та жирних кислот, полісахаридів, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, дубильних речовин, органічних кислот, летких сполук, визначено їх кількісний вміст. У сировині мильнянки лікарської також досліджено сапоніни. У мильнянки лікарської трави і коренях та чорнобривців золотистих трави виявлено і визначено кількісний вміст макро- і мікроелементів.

Методом ВЕРХ у мильнянки лікарської трави і коренях виявили по 16 вільних і зв'язаних амінокислот. З вільних амінокислот у мильнянки лікарської коренях переважає L-аргінін і L-пролін, вміст яких становив 0,42 мкг/мг і 0,34 мкг/мг відповідно; зі зв'язаних – L-аргінін (2,02 мкг/мг) і гліцин (1,65 мкг/мг). Домінуючими з вільних амінокислот у мильнянки лікарської трави були L-аланін, L-валін, L-лейцин, вміст яких становив 1,35 мкг/мг,

0,90 мкг/мг і 0,76 мкг/мг відповідно; зі зв'язаних – гліцин, L-глутамінова кислота і L-аргінін (4,26 мкг/мг, 3,37 мкг/мг і 2,64 мкг/мг відповідно).

У чорнобривців золотистих траві методом ГХ/МС виявлено 11 зв'язаних і 5 вільних амінокислот. У чорнобривців золотистих траві за вмістом домінував L-пролін. Вміст вільного L-проліну становив 6,44 мкг/мг, зв'язаного – 18,82 мкг/мг.

Методом ГХ/МС у чорнобривців золотистих траві і методом ВЕРХ у мильнянки лікарської траві і коренях виявлено наявність і встановлено кількісний вміст індивідуальних органічних кислот. Чорнобривців золотистих трава містила щавлеву, малонову, фумарову, бурштинову, яблучну, лимонну, ванілінову, ізолимонну, сирінгову, ферулову кислоти. Найбільше виявлено лимонної кислоти, вміст якої становив 4315,5 мг/кг. У мильнянки лікарської траві ідентифіковано та визначено кількісний вміст винної, піровиноградної, ізолимонної, бурштинової і фумарової кислот, у коренях – піровиноградної, ізолимонної, лимонної, бурштинової та фумарової. У мильнянки лікарської траві домінували ізолимонна (120,83 мг/г) та піровиноградна кислоти (25,14 мг/г); у коренях – бурштинова (0,79 мг/г).

Найвищий вміст суми органічних кислот спостерігали у чорнобривців золотистих траві ($1,67 \pm 0,12$) %, дещо менший у мильнянки лікарської траві – ($1,10 \pm 0,10$) %. Найменша кількість суми органічних кислот виявлена у мильнянки лікарської коренях – ($0,89 \pm 0,10$) %.

Спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст аскорбінової кислоти у чорнобривців золотистих траві та мильнянки лікарської траві і коренях, що становило ($0,64 \pm 0,03$) %, ($0,41 \pm 0,02$) % і ($0,34 \pm 0,01$) % відповідно.

Проведено аналіз жирнокислотного складу сировини мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих. У ліпофільній фракції чорнобривців золотистих трави ідентифіковано 9 жирних кислот, у ліпофільній фракції мильнянки лікарської трави – 11, коренів – 8.

Встановлено, що сума ненасичених жирних кислот у чорнобривців золотистих траві становила 53,12 %, сума насичених – 46,88 %. Чорнобривців золотистих трава містила значну кількість лінолевої (34,86 %) і ліноленової (18,26 %) кислот. З насичених жирних кислот у сировині чорнобривців золотистих домінувала пальмітинова кислота – 31,11 %.

У мильнянки лікарської траві також спостерігали домінування ненасичених жирних кислот, вміст яких становив 59,94 % від загального вмісту кислот. Переважали ліолева (23,06 %) та α -ліноленова кислоти (36,28 %). У мильнянки лікарської коренях домінували насичені жирні кислоти – 65,28 % від загального вмісту кислот. З насичених жирних кислот переважала пальмітинова кислота, вміст якої становив 52,78 %, яку не виявили у мильнянки лікарської траві.

З мильнянки лікарської траві і коренів і з чорнобривців золотистих трави виділено фракції водорозчинних полісахаридів (ВРПС) і пектинових речовин (ПР), кількісний вміст яких становив $(8,64 \pm 0,22) \%$, $(10,75 \pm 0,20) \%$, $(12,36 \pm 0,17) \%$ і $(5,15 \pm 0,05) \%$, $(5,70 \pm 0,15) \%$ і $(7,12 \pm 0,10) \%$ відповідно. Методом газової хроматографії з мас-спектрометрією (ГХ/МС) встановлено мономерний склад полісахаридних комплексів досліджуваної сировини. У мильнянки лікарської траві і коренях виявлено по 9 моноцукрів після кислотного гідролізу, ідентифіковано по 7, вільних цукрів виявлено по 8, ідентифіковано по 3 компоненти і дицукор сахарозу; у чорнобривців золотистих траві виявлено 10 моноцукрів після кислотного гідролізу, ідентифіковано 7, вільних цукрів виявлено 10, ідентифіковано 5 і дицукор сахарозу.

У мильнянки лікарської траві і коренях та чорнобривців золотистих трави встановлено кількісний вміст сполук фенольної природи: суми фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту, суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту, суми флавоноїдів у перерахунку на рутин – $(7,48 \pm 0,12) \%$, $(0,64 \pm 0,05) \%$, $(7,88 \pm 0,15) \%$; $(3,88 \pm 0,04) \%$, $(0,52 \pm 0,03) \%$

(4,22 ± 0,10) % і (2,86 ± 0,11) %, (0,69 ± 0,02) %, (4,18 ± 0,57) % відповідно. Найвищий вміст фенольних сполук спостерігали у сировині чорнобривців золотистих.

Методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) у мильнянки лікарської трави і коренях ідентифіковано та визначено кількісний вміст індивідуальних гідроксикоричних кислот: хлорогенової (480,41 мкг/г і 129,90 мкг/г), кофейної (149,13 мкг/г і 60,40 мкг/г), сирінгової (70,44 мкг/г і 64,27 мкг/г), *p*-кумарової (4420,20 мкг/г і 34,33 мкг/г), транс-ферулової (75,55 мкг/г і 54,36 мкг/г), синапової (41,39 мкг/г і 29,98 мкг/г), транс-цинамової (42,54 мкг/г і 16,58 мкг/г), хінної (8840,74 мкг/г і 3760,45 мкг/г), гідроксифенілацетатної (124,49 мкг/г і 13,13 мкг/г); індивідуальних сполук флавоноїдної природи: у траві ізокверцитрину (62,93 мкг/г) і кемпферолу (4,85 мкг/г); у коренях – кверцетину (109,98 мкг/г) відповідно. У мильнянки лікарської трави не виявлено галової кислоти, вміст якої у коренях рослини становив 45,05 мкг/г. У досліджуваній сировині спостерігали високий вміст хінної кислоти.

У чорнобривців золотистих траві методом ВЕРХ виявлено, ідентифіковано і встановлено значний кількісний вміст хінної кислот (2604,21 мкг/г) і хлорогенової (666,02 мкг/г) кислот. Окрім того, у чорнобривців траві виявлено кофейну, сирінгову, *p*-кумарову, синапову, транс-ферулову, транс-цинамову гідроксикоричні кислоти і встановлено їх кількісний вміст – 159,59 мкг/г, 45,23 мкг/г, 103,49 мкг/г, 184,33 мкг/г, 217,89 мкг/г і 47,69 мкг/г відповідно. Не виявлено у чорнобривців золотистих траві галову і гідроксифенілацетатну кислоти.

Результати ВЕРХ-аналізу показали наявність у чорнобривців золотистих траві ізокверцитрину (68,32 мкг/г), нарингіну (2560,38 мкг/г), кемпферолу (136,71 мкг/г) і значного вмісту кверцетину (787,05 мкг/г).

У мильнянки лікарської трави виявлено і визначено кількісний вміст компонентів конденсованих дубильних речовин – галокатехіну (5838,14 мкг/г)

та епікатехіну (155,75 мкг/г); у коренях – лише незначну кількість галокатехіну – 174,77 мкг/г. У чорнобривців золотистих траві, окрім галокатехіну (6169,00 мкг/г) та епікатехіну (307,46 мкг/г), виявлено і встановлено кількісний вміст епікатехін галату (56,66 мкг/г).

В усіх досліджуваних об'єктах не виявлено катехіну і пірокатехіну, у мильнянки лікарської траві – епікатехін галату, у коренях даного виду – епікатехін галату та епікатехіну.

Методом ГХ/МС встановлено якісний і визначено кількісний вміст компонентів летких сполук у досліджуваній сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих. У мильнянки лікарської траві виявлено 20 компонентів летких сполук, з яких ідентифіковано 7, відсоток збігу яких становив 80-98 %; у коренях виявлено 13 компонентів, ідентифіковано – 6, відсоток збігу яких становив 90-98 %. Компонентний склад обох досліджуваних об'єктів представлений, в основному, парафіновими вуглеводнями, естерами жирних кислот і жирних кислот.

У чорнобривців золотистих траві виявлено 28 компонентів летких сполук, з яких ідентифіковано – 14. Переважаючими компонентами досліджуваної траві є н-пентакозан (62,70 мг/кг), спатуленон (35,76 мг/кг), естрагол (29,76 мг/кг), вератрол (28,60 мг/кг), валеранон (17,95 мг/кг).

У мильнянки лікарської траві і коренях виявлено сапоніни тритерпенового ряду. Методом надвисокоєфективної рідинної хроматографії-мас-спектрометрії (УВЕРХ-МС) у досліджуваних зразках мильнянки лікарської ідентифіковано 23 сапоніни, 19 з яких було ідентифіковано раніше. Кількісний вміст сапонінів у коренях становив $(4,3 \pm 0,01) \%$, у траві – $(4,0 \pm 0,01) \%$.

Досліджено елементний склад досліджуваної сировини мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих. У мильнянки лікарської траві виявлено 12 елементів: 4 макро- (Ca, Mg, K, Na) та 8 мікроелементів (Fe, Zn, Cu, Cr, Mn, Ni, Se, Si), не виявлено кадмію; у коренях – 11 елементів – 4 макро- і 7 мікроелементів; не виявлено силіцію і кадмію. У чорнобривців золотистих

траві виявлено 10 елементів: 4 макро- (Ca, Mg, K, Na) та 6 мікроелементів (Fe, Zn, Cu, Mn, Cd, Se, Si); не виявлено хрому, нікелю і силіцію. У значній кількості у траві та коренях мильнянки лікарської накопичуються калій, вміст якого у траві становив 37646 мг/кг, у коренях – 8170 мг/кг. У чорнобривців золотистих траві вміст калію становив 12254 мг/кг.

Проведено морфолого-анатомічний аналіз мильнянки лікарської трави і коренів, визначено основні діагностичні макро- і мікроскопічні ознаки. Розроблено проекти методів контролю якості (МКЯ) на нову лікарську рослинну сировину «Мильнянки лікарської трава». Визначено основні показники якості мильнянки лікарської трави.

Визначено оптимальні умови одержання густих екстрактів з трави і з коренів мильнянки лікарської, на які розроблено проекти МКЯ «Мильнянки лікарської трави екстракт густий» та «Мильнянки лікарської коренів екстракт густий».

Визначено оптимальні умови одержання сухого екстракту з трави чорнобривців золотистих. Розроблено проект МКЯ «Чорнобривців золотистих трави екстракт сухий».

Результати визначення гострої токсичності густих екстрактів з трави і з коренів мильнянки лікарської показали, що за класифікацією К. К. Сидорова їх віднесено до IV класу токсичності – малотоксичні речовини. Сухий екстракт чорнобривців золотистих трави за класифікацією К. К. Сидорова віднесено до V класу токсичності – практично нетоксичні речовини.

Проведено фармакологічне дослідження густих екстрактів мильнянки лікарської трави і коренів та чорнобривців золотистих трави, встановлено наявність діуретичної дії. У густих екстрактів мильнянки лікарської трави і коренів встановлено нефропротекторну активність, яка реалізується за рахунок протизапальних, антиоксидантних, антиапоптозних властивостей БАР екстракту (сполук фенольної природи і сапонінів), та співставна з активністю

препарату порівняння гідрохлортіазиду. In vitro доведено антиоксидантну активність сухого екстракту чорнобривців золотистих трави.

Фармакологічні дослідження проведено на базі науково-дослідної лабораторії доклінічного вивчення фармакологічних речовин Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова.

Ключові слова: мильнянка лікарська, чорнобривці золотисті, трава, корені, густий екстракт, сухий екстракт, гостра токсичність, фармакогностичне і фармакологічне дослідження, морфолого-анатомічний аналіз.

ABSTRACT

Kostyshyn L. V. Phytochemical and pharmacological rationale of the use of common soapwort (*Saponaria officinalis*) and marigolds (*Tagetes*) as diuretics. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 226 «Pharmacy, Industrial Pharmacy» (22 «Health care»). – Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, 2023.

Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, 2023.

The thesis is devoted to the study of common soapwort and marigolds, which, according to literature sources, are used in traditional medicine as diuretics. A comprehensive pharmacognostic analysis of herb and roots of common soapwort and herb of marigolds was conducted. The presence of amino and fatty acids, polysaccharides, flavonoids, hydroxycinnamic acids, tannins, organic acids, volatile compounds was determined in the studied raw materials, and their quantitative content was determined. Saponins were also studied in the raw material of common soapwort. The quantitative content of macro- and microelements was found and determined in herb and roots of common soapwort and herb of marigolds.

Using the HPLC method, 16 free and bound amino acids were detected in the herb and roots of common soapwort. Among free amino acids, L-arginine and L-proline prevail in the roots of common soapwort, the content of which was 0.42 $\mu\text{g}/\text{mg}$ and 0.34 $\mu\text{g}/\text{mg}$, respectively; among bound – L-arginine (2.02 $\mu\text{g}/\text{mg}$) and glycine (1.65 $\mu\text{g}/\text{mg}$). L-alanine, L-valine, and L-leucine were the dominant free amino acids in common soapwort, the content of which was 1.35 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 0.90 $\mu\text{g}/\text{mg}$, and 0.76 $\mu\text{g}/\text{mg}$, respectively; bound – glycine, L-glutamic acid and L-arginine (4.26 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 3.37 $\mu\text{g}/\text{mg}$ and 2.64 $\mu\text{g}/\text{mg}$, respectively).

11 bound and 5 free amino acids were detected in marigolds by GC-MS. L-proline dominated in the content of marigolds. The content of free L-proline was 6.44 $\mu\text{g}/\text{mg}$, bound – 18.82 $\mu\text{g}/\text{mg}$.

The presence and quantitative content of individual organic acids were detected by the GC-MS method in the herb of marigolds and by HPLC – in the herb and roots of common soapwort. Marigolds herb contained oxalic, malonic, fumaric, succinic, malic, citric, vanillic, isolimonic, syringic, and ferulic acids. The most detected citric acid, the content of which was 4315.5 mg/kg. Tartaric, pyruvic, isolimic, succinic and fumaric acids were identified and quantified in the herb of common soapwort, and pyruvic, isolimic, citric, succinic and fumaric acids in the roots. Isolimic acid (120.83 mg/g) and pyruvic acid (25.14 mg/g) dominated in the herb of common soapwort; in the roots – succinic acid (0.79 mg/g).

The highest content of the total amount of organic acids was observed in the herb of marigolds (1.67 ± 0.12) %, slightly lower in the herb of common soapwort – (1.10 ± 0.10) %. The lowest amount of the sum of organic acids was found in the roots of soapwort – (0.89 ± 0.10) %.

The spectrophotometric method determined the quantitative content of ascorbic acid in the herb of marigolds and the herb and roots of common soapwort, which was (0.64 ± 0.02) %, (0.41 ± 0.01) % and (0.34 ± 0.02) % respectively.

An analysis of the fatty acid composition of the raw materials of soapwort and marigolds was carried out. 9 fatty acids were identified in the lipophilic fraction of

the marigolds, 11 in the lipophilic fraction in the herb of soapwort, and 8 – in the roots.

It was found that the amount of unsaturated fatty acids in marigolds was 53.12 %, the amount of saturated – 46.88 %. Marigold herb contained a significant amount of linoleic (34.86 %) and linolenic (18.26 %) acids. Palmitic acid dominated – 31.11 % among saturated fatty acids in the raw material of marigolds.

The dominance of unsaturated fatty acids, the content of which was 59.94 % of the total content of acids, was also observed in the herb of common soapwort. Linoleic (23.06 %) and α -linolenic acids (36.28 %) predominated. Saturated fatty acids dominated in the roots of common soapwort – 65.28 % of the total acid content. Of the saturated fatty acids, palmitic acid prevailed, the content of which was 52.78 %, which was not detected in the herb of common soapwort.

Fractions of water-soluble polysaccharides (WPS) and pectin substances (PS) were isolated from the herb and roots of common soapwort and the herb of marigolds, the quantitative content of which was (8.64 ± 0.22) %, (10.75 ± 0.20) %, (12.36 ± 0.17) % and (5.15 ± 0.05) %, (5.70 ± 0.15) % and (7.12 ± 0.10) %, respectively. By the method of gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS), the monomer composition of the polysaccharide complexes of the studied raw materials was established. After acid hydrolysis, 9 monosugars were found in the herb and roots of common soapwort, 7 were identified each, 8 free sugars were identified each, 3 components and sucrose disugar were identified; 10 monosugars were found after acid hydrolysis in the herb of marigolds, 7 were identified, 10 free sugars were found, 5 were identified, and sucrose disugar.

The quantitative content of compounds of a phenolic nature was determined in the herb and roots of common soapwort and the herb of marigolds: the amount of phenolic compounds in terms of gallic acid, the amount of hydroxycinnamic acids in terms of chlorogenic acid, the amount of flavonoids in terms of rutin – (7.48 ± 0.12) %, (0.64 ± 0.05) %, (7.88 ± 0.15) %; (3.88 ± 0.04) %, (0.52 ± 0.03) % (4.22 ± 0.10) % and (2.86 ± 0.11) %, (0.69 ± 0.02) %, (4.18 ± 0.57) %, respectively.

The highest content of phenolic compounds was observed in the raw material of marigolds.

High-performance liquid chromatography (HPLC) was used to identify and quantify the content of individual hydroxycinnamic acids: chlorogenic (480.41 $\mu\text{g/g}$ and 129.90 $\mu\text{g/g}$), caffeic (149.13 $\mu\text{g/g}$ and 60.40 $\mu\text{g/g}$), syringic (70.44 $\mu\text{g/g}$ and 64.27 $\mu\text{g/g}$), *p*-coumaric (4420.20 $\mu\text{g/g}$ and 34.33 $\mu\text{g/g}$), trans-ferulic (75.55 $\mu\text{g/g}$ and 54.36 $\mu\text{g/g}$), sinapic (41.39 $\mu\text{g/g}$ and 29.98 $\mu\text{g/g}$), trans-cinnamic (42.54 $\mu\text{g/g}$ and 16.58 $\mu\text{g/g}$), quinic (8840.74 $\mu\text{g/g}$ and 3760.45 $\mu\text{g/g}$), hydroxyphenylacetic (124.49 $\mu\text{g/g}$ and 13.13 $\mu\text{g/g}$); individual compounds of flavonoid nature: isoquercitrin (62.93 $\mu\text{g/g}$) and kaempferol (4.85 $\mu\text{g/g}$) in the herb; quercetin (109.98 $\mu\text{g/g}$) – in the roots, respectively. No gallic acid was detected in the herb of common soapwort, the content of which in the roots of the plant was 45.05 $\mu\text{g/g}$. A high content of quinic acid was observed in the studied raw materials.

A significant quantitative content of quinic acid (2604.21 $\mu\text{g/g}$) and chlorogenic acid (666.02 $\mu\text{g/g}$) was detected, identified and established in marigolds by the HPLC method. In addition, caffeic, syringic, *p*-coumaric, sinapic, trans-ferulic, and trans-cinnamic hydroxycinnamic acids were found in the herb of marigolds and their quantitative content was determined – 159.59 $\mu\text{g/g}$, 45.23 $\mu\text{g/g}$, 103.49 $\mu\text{g/g}$, 184.33 $\mu\text{g/g}$, 217.89 $\mu\text{g/g}$ and 47.69 $\mu\text{g/g}$, respectively. Gallic and hydroxyphenylacetic acids were not found in marigolds.

The results of HPLC analysis showed the presence of isoquercitrin (68.32 $\mu\text{g/g}$), naringin (2560.38 $\mu\text{g/g}$), kaempferol (136.71 $\mu\text{g/g}$) and a significant content of quercetin (787.05 $\mu\text{g/g}$) in marigolds.

The content of the components of condensed tannins – halocatechin (5838.14 $\mu\text{g/g}$) and epicatechin (155.75 $\mu\text{g/g}$) was detected and determined in the herb of common soapwort; in the roots – only a small amount of halocatechin – 174.77 $\mu\text{g/g}$. In the herb of marigolds, in addition to gallocatechin (6169.00 $\mu\text{g/g}$) and epicatechin (307.46 $\mu\text{g/g}$), the quantitative content of epicatechin gallate (56.66 $\mu\text{g/g}$) was detected and determined.

No catechin and pyrocatechin were detected in all the studied objects, epicatechin gallate was found in the herb of soapwort, epicatechin gallate and epicatechin were found in the roots of this species.

GC-MS method was used to determine the qualitative and quantitative content of the components of volatile compounds in the investigated raw materials of common soapwort and marigolds. 20 components of volatile compounds were found in the herb of soapwort, 7 were identified, the percentage of which was 80–98 %; 13 components were found in the roots, 6 were identified, the percentage of which was 90–98 %. The component composition of both studied objects is mainly represented by paraffin hydrocarbons, fatty acid esters, and fatty acids.

28 components of volatile compounds were found in the herb of marigolds, 14 of which were identified. The predominant components of the studied herb are n-pentacosane (62.70 mg/kg), spatulenon (35.76 mg/kg), estragole (29.76 mg/kg), veratrol (28.60 mg/kg), valeranone (17.95 mg/kg).

Triterpene saponins were found in the herb and roots of common soapwort. Using the method of ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS), 23 saponins were identified in the investigated samples of soapwort, 19 of which were previously identified. The quantitative content of saponins in the roots was $(4.3 \pm 0.01) \%$, in the herb – $(4.0 \pm 0.01) \%$.

The elemental composition of the studied raw materials of common soapwort and marigolds was investigated. 12 elements were found in the common soapwort herb: 4 macro- (Ca, Mg, K, Na) and 8 micro-elements (Fe, Zn, Cu, Cr, Mn, Ni, Se, Si), no cadmium was found; in the roots – 11 elements – 4 macro- and 7 micro-elements; silicon and cadmium were not detected. 10 elements were found in the herb of marigolds: 4 macro- (Ca, Mg, K, Na) and 6 micro-elements (Fe, Zn, Cu, Mn, Cd, Se, Si); no chromium, nickel and silicon were detected. A significant amount of potassium accumulates in the herb and roots of common soapwort, the content of which was 37,646 mg/kg in the herb, and 8,170 mg/kg in the roots. The potassium content in the herb of marigolds was 12254 mg/kg.

Morphological-anatomical analysis of the herb and roots of common soapwort was carried out, the main diagnostic macro- and microscopic signs were determined. Projects of quality control methods (QCM) for new medicinal plant raw materials "Common soapwort herb" were developed. The main indicators of the quality of the herb of common soapwort were determined.

Optimum conditions for obtaining thick extracts from herb and roots of common soapwort have been determined, for which the projects of the Ministry of Education "Common soapwort thick extract" and "Common soapwort root thick extract" were developed.

The optimal conditions for obtaining a dry extract from the herb of marigolds have been determined. The QCM project "Marigolds herb dry extract" was developed.

The results of determining the acute toxicity of thick extracts from the herb and roots of common soapwort showed that, according to the classification by K.K. Sydorov, they were assigned to the toxicity class IV – low-toxic substances. The dry extract of marigolds according to the classification by K. K. Sydorov is assigned to the toxicity class V – practically non-toxic substances.

A pharmacological study of thick extracts of the herb and roots of common soapwort and the herb of marigolds was conducted, and the presence of a diuretic effect was established. Nephroprotective activity was established in thick extracts of the herb and roots of common soapwort, which is realized due to the anti-inflammatory, antioxidant, anti-apoptotic properties of BAS extract (compounds of phenolic nature and saponins), and is comparable to the activity of the comparison drug hydrochlorothiazide.

Pharmacological studies were carried out on the basis of the research laboratory of preclinical study of pharmacological substances of M. Pyrohov Vinnytsia National Medical University.

Key words: common soapwort; marigolds, herb, roots, thick extract, dry extract, acute toxicity, pharmacognostic and pharmacological research, morphological and anatomical analysis.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації:

1. Дослідження органічних кислот у траві та підземних органах *Saponaria officinalis* L. / Л. В. Костишин, Л. В. Слободянюк, С. М. Марчишин, О. Л. Демидяк, Л. Ю. Ляшенко. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 4. С. 77–82. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, в обробці результатів та написанні статті).

2. Determination of composition of fatty acids in *Saponaria officinalis* / L. L. Budniak, L. Slobodianiuk, S. Marchyshyn, L. Kostyshyn, O. Horoshko. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2021. № 1 (29). P. 25–30. (SCOPUS) (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, в обробці результатів та написанні статті).

3. Analysis of carbohydrates in *Saponaria officinalis* L. using GC/MS method / L. Slobodianiuk, L. Budniak, S. Marchyshyn, L. Kostyshyn, O. Zakharchuk. *Pharmacia*. 2021. № 68 (2). P. 339–345. (SCOPUS) (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, в обробці результатів та написанні статті).

4. Determination of amino acids content of the *Tagetes lucida* Cav. by GC/MS / L. Slobodianiuk, L. Budniak, S. Marchyshyn, L. Kostyshyn, M. Ezhne. *Pharmacia*. 2021. № 68 (4). P. 859–867. (SCOPUS) (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, в обробці результатів та написанні статті).

5. Дослідження флавоноїдів чорнобривців золотистих (*Tagetes lucida* Cav.) / С. М. Марчишин, Л. В. Костишин, Т. В. Валько, В. М. Кішук, Е. А. Паращук. *Медична та клінічна хімія*. 2021. Т. 23, № 4. С. 95–102.

(Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, в обробці результатів та написанні статті).

6. Дослідження впливу природи екстрагенту на вилучення комплексу біологічно активних речовин із мильнянки лікарської трави та коренів / Л. Костишин, С. Чолач, С. Марчишин, М. Васенда, О. Демидяк, Н. Горлачук. *Фітотерапія. Часопис*. 2022. № 3. С. 86–92. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, в обробці результатів та написанні статті).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

7. Костишин Л. В., Марчишин С. М., Горошко О. М. Макро- та мікроелементний склад трави та підземних органів мильнянки лікарської. *Актуальні питання фармакології та фармакотерапії* : матеріали Всеукраїнської наук.-практ. конф., 26-27 вересня 2019 р. Тернопіль : ТНМУ, 2019. С. 33–34. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні тез).

8. Вміст органічних кислот у лікарських рослинах / О. В. Скринчук, І. М. Івасюк, Л. В. Костишин, С. М. Марчишин. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 23-24 вересня 2020 р. Тернопіль : ТНМУ, 2020. С. 50–51. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні тез).

9. Дослідження флавоноїдів мильнянки лікарської / Л. В. Костишин, М. А. Ежнед, А. Р. Бабин, Н. М. Михайлюк. *VIMCO* : матеріали Буковинського міжнар. медико-фармацевтичного конгресу студентів та молодих вчених, 7–8 квітня 2020 р. Чернівці, 2020 р. С. 182. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні тез).

10. Перспективи використання сапонінів в медичній практиці / Л. В. Костишин, С. М. Марчишин, О. І. Захарчук, О. М. Горошко,

І. М. Сахацька, М. А. Ежнед, М. Р. Матушак. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали V міжнародної наук.-практ. інтернет-конф., 26 листопада 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 251–255. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні тез).

11. Костишин Л. В., Марчишин С. М., Ляшенко Л. Ю. Порівняльний аналіз якісного складу та кількісного вмісту речовин первинного синтезу у надземних і підземних органах мильнянки лікарської. *PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА* : матеріали Міжнародної наук.-практ. конф., 19 лютого 2021 р. Київ : ПАЛИВОДА А. В., 2021. С. 113–114. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні тез).

12. Flavonoids as important biocomponents in some plant species and their mixtures with a wide range of pharmacological properties / A. Savych, S. Marchyshyn, O. Scrynychuk, L. Kostushyn, T. Lemishka, M. Kohut, L. Liashenko. *Scientific Collection «InterConf»*, (45) : with the Proceedings of the 3th International Scientific and Practical Conference «Scientific Community: Interdisciplinary Research», March 16-18, 2021. Hamburg : Busse Verlag GmbH, 2021. С. 269–273. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні тез).

13. Application of HPLC method in the determination of amino acids in the some medicinal plants / L. V. Slobodianiuk, L. I. Budniak, S. M. Marchyshyn, L. V. Kostyshyn, O. Ya. Skrynychuk. *Current trends in pharmaceutical chemistry and standardization of medicines* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 25-26 травня 2021 р. Тернопіль : ТНМУ, 2021. С. 58–59. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні тез).

14. Essential oils of herbs of some species of marigold genus (*Tagetes* L.) / L. Kostyshyn, T. Valko, S. Marchyshyn, S. Mashkovska. *1st Natural Cosmetics*

International, September 22nd-24th 2021. Rzeszów, 2021. P. 61. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні тез).

15. Спектрофотометричне визначення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у сировині чорнобривців золотистих (*Tagetes lucida* SAV.) / Л. В. Костишин, С. М. Марчишин, В. В. Валько, Л. В. Слободянюк, С. П. Машковська. *PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА* : матеріали III наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 180-річчю Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, 18 лютого 2022 р. Київ, 2022. Т. 2. С. 66–68. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні тез).

16. Валько Т., Костишин Л. Порівняльний аналіз якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот у сировині чорнобривців золотистих. *Матеріали XXVI Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених*, 13-15 квітня 2022 р. Тернопіль, 2022. С. 130–131. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні тез).

17. Визначення кількісного вмісту суми фенольних сполук у сировині чорнобривців золотистих / Л. В. Костишин, С. М. Марчишин, В. В. Валько, Л. В. Слободянюк. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали IV Міжнародної наук.-практ. інтернет-конф., 8 квітня 2022 р. Х. : НФаУ, 2022. С. 51. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні тез).

18. Determination of carboxylic acids of *Tagetes lucida* Cav. / S. M. Marchyshyn, L. V. Slobodianiuk, I. S. Dakhym, L. V. Kostyshyn. *Contemporary Pharmacy: Issues Challenges and Expectations 2022 autumn* : the 12th International Pharmacy Conference, 21 October 2022. Kaunas : Lithuanian

University of Health Sciences, 2022. P. 37. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні тез).

19. Костишин Л. В., Валько Т. В., Марчишин С. М. Вивчення гострої токсичності сухого екстракту з трави чорнобривців золотистих (*Tagetes lucida* Cav.). *Хімія природних сполук* : матеріали VI Всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 27-28 жовтня 2022 р. Тернопіль : ТНМУ, 2022. С. 115–117. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні тез).

ЗМІСТ

Перелік умовних скорочень	23
Вступ	25
Розділ 1 Ботанічна характеристика, розповсюдження, хімічний склад і використання мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих (огляд літератури)	33
1.1 Ботанічна характеристика та особливості біології мильнянки лікарської (<i>Saponaria officinalis</i> L.)	33
1.2 Хімічний склад і фармакологічна дія мильнянки лікарської	36
1.3 Застосування мильнянки лікарської в традиційній та доказовій медицині, інших галузях	38
1.4 Ботанічна характеристика та особливості біології чорнобривців золотистих (<i>Tagetes lucida</i> Cav.)	41
1.5 Хімічний склад рослин роду Чорнобривці та їх біологічна активність	43
1.6 Застосування рослин роду <i>Tagetes</i> L. у традиційній та доказовій медицині, в косметології та різних галузях господарства	47
Розділ 2 Об'єкти та методи дослідження	54
2.1 Виявлення біологічно активних речовин первинного синтезу	54
2.1.1 Полісахариди	54
2.1.2 Органічні кислоти	55
2.1.3 Аскорбінова кислота	57
2.1.4 Жирні кислоти	58
2.1.5 Амінокислоти	59
2.2 Біологічно активні речовин вторинного синтезу	61
2.2.1 Сума фенольних сполук	61
2.2.2 Визначення флавоноїдів	62
2.2.3 Визначення гідроксикоричних кислот	63

2.2.4	Визначення сполук фенольної природи методом ВЕРХ	64
2.2.5	Визначення летких сполук	67
2.2.6	Дослідження сапонінів	68
2.2.7	Визначення показників якості сировини мильнянки лікарської та чорнобривців золотистих	70
2.3	Вивчення елементного складу сировини досліджуваних рослин	71
2.4	Макро- і мікроскопічний методи дослідження мильнянки лікарської трави	71
2.5	Фармакологічні дослідження	72
2.5.1	Дослідження гострої токсичності екстрактів з трави і з коренів мильнянки лікарської і з трави чорнобривців золотистих при внутрішньошлунковому введенні білим мишам	72
2.5.2	Дослідження діуретичної дії екстрактів мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих за умов водного навантаження в умовно здорових щурів	73
2.5.3	Дослідження біохімічних показників роботи гломерулярного та тубулярного апарату нирок умовно здорових щурів на тлі одноразового введення найактивніших екстрактів мильнянки	74
2.6	Дослідження антиоксидантної активності екстрактів з трави і з коренів мильнянки лікарської та з трави чорнобривців золотистих <i>in vitro</i>	75
2.7	Статистична обробка результатів досліджень	75
Розділ 3 Стандартизація лікарської рослинної сировини мильнянки лікарської та чорнобривців золотистих		77
3.1	Речовини первинного синтезу	77
3.1.1	Визначення амінокислот	77
3.1.2	Визначення органічних кислот	85

3.1.3	Визначення аскорбінової кислоти	89
3.1.4	Виявлення жирних кислот	90
3.1.5	Визначення вуглеводів	95
3.2	Речовини вторинного синтезу	103
3.2.1	Дослідження фенольних сполук	103
3.2.1.1	Визначення суми фенольних сполук	103
3.2.1.2	Визначення гідроксикоричних кислот	104
3.2.1.3	Визначення флавоноїдів	109
3.2.1.4	Визначення дубильних речовин методом ВЕРХ	113
3.2.1.5	Визначення летких сполук	115
3.2.1.6	Визначення сапонінів	118
3.3	Визначення елементного складу сировини мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих	126
3.4	Визначення показників якості сировини мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих	129
3.5	Морфолого-анатомічні дослідження мильнянки лікарської трави	129
3.5.1	Макроскопічні ознаки мильнянки лікарської трави	129
3.5.2	Анатомічні діагностичні ознаки мильнянки лікарської трави	130
3.6	Стандартизація мильнянки лікарської трави	134
Розділ 4 Одержання субстанцій з мильнянки лікарської трави і коренів та чорнобривців золотистих трави. Вивчення фармакологічної дії одержаних субстанцій		144
4.1	Одержання субстанції з сировини мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих та дослідження її хімічного складу	144
4.2	Вивчення гострої токсичності екстрактів з сировини мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих	154

4.3 Дослідження діуретичної дії екстрактів за умов водного навантаження в умовно здорових щурів	157
4.4 Дослідження біохімічних показників роботи гломерулярного та тубулярного апарату нирок умовно здорових щурів на тлі одноразового введення екстрактів мильнянки лікарської	160
4.5 Результати дослідження антиоксидантної активності сухого екстракту з трави чорнобривців золотистих <i>in vitro</i>	164
Висновки	166
Список використаних джерел	171
Додатки	204

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- ААС – атомно-абсорбційна спектрофотометрія
БАР – біологічно активні речовини
ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія
ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я
ВРПС – водорозчинні полісахариди
ГЕМК – густий екстракт мильнянки лікарської коренів
ГЕМТ – густий екстракт мильнянки лікарської трави
ГКК – гідроксикоричні кислоти
ГХ/МС – газова хроматографія з мас-спектрометриєю
год – година
ДФУ – Державна фармакопея України
ЕБ – екскреція білка з сечею
ІК – інтактний контроль
КРВ – коефіцієнт реабсорбції води в нирках
ЛЗ – лікарський засіб
ЛРС – лікарська рослинна сировина
МДА – малоновий діальдегід
МКЯ – методи контролю якості
МЛК – мильнянки лікарської корені
МЛТ – мильнянки лікарської трави
МОЗ України – Міністерство охорони здоров'я України
МС, % – відсоток співпадіння
НАН України – Національна академія наук України
ПР – пектинові речовини
ПХ – хроматографія на папері
СЕЧТ – сухий екстракт чорнобривців золотистих трави
ТШХ – тонкошарова хроматографія

УВЕРХ-МС – надвисокоєфективна рідинна хромато-мас-спектрометрія

УФ – ультрафіолетова спектроскопія

ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок

хв – хвилина

ЦНДЛ – Центральна науково-дослідна лабораторія

ЦНС – центральна нервова система

ШКФ – швидкість клубочкової фільтрації

ДРРН – 2,2-дифеніл-1- пікрилгідрозил

ЛД₅₀ – середня летальна доза

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Останнім часом значно виріс інтерес до вивчення, впровадження в практику та застосування лікарської рослинної сировини (ЛРС) й одержаних на її основі препаратів як в Україні, так і за кордоном. Встановлено, що серед загальної кількості лікарських призначень засоби рослинного походження в різних країнах становлять від 20 % до 60 % [22, 66]. Результати досліджень ВООЗ показують, що 25 % зареєстрованих ліків, які використовуються в умовах сьогодення, мають рослинне походження. Окрім того, нині у світовій фармацевтичній галузі застосовується більше 120 біологічно активних речовин (БАР) і понад 250 лікарських препаратів, які були визнані ВООЗ як основні й життєво необхідні ліки, що мають рослинне походження [87].

Враховуючи те, що хвороби нирок і сечовивідних шляхів є однією з важливих проблем сьогодення, розробка ефективних і безпечних лікарських засобів (ЛЗ), які посилюють видільну функцію нирок і мають нефропротекторні властивості, є актуальним завданням сучасної фармації і медицини [57]. Такі ЛЗ, в тому числі рослинного походження, застосовуються не лише при захворюваннях нирок і сечовивідних шляхів, а й при хворобах серцево-судинної, ендокринної та інших систем [49, 57, 64, 117].

Препарати лікарських рослин (ЛР) завдяки наявності протизапальних, антиоксидантних, антигіпертензивних, ендотеліопротекторних, гіпоазотемічних властивостей здатні впливати на різні ланки патогенезу, що лежать в основі прогресуючого ушкодження нирок [118]. Одним з шляхів збільшення кількості препаратів рослинного походження з діуретичною і нефропротекторною активністю є детальне вивчення ЛР, які широко використовуються у традиційній медицині та є потенційними джерелами цінних БАР [48, 57, 64]. Традиційна медицина наділяє сечогінними властивостями більше 1000 видів ЛР [64, 117].

Одними з таких рослин є мильнянка лікарська (*Saponaria officinalis* L.) – сапоніновмісний вид, який в емпіричній медицині застосовують при хворобах нирок та сечового міхура, подагрі, ревматизмі [101, 283], та, інтродукований в Україні мексиканський вид роду Чорнобривці – чорнобривці золотисті (*Tagetes lucida* Cav.), настій або відвар надземних частин якого рекомендують як болезаспокійливий та протизапальний, сечогінний, противиразковий та гіпотензивний засоби [138, 175, 262].

В Україні чорнобривці золотисті вирощують у Національному ботанічному саду ім. М. М. Гришка НАН України та Донецькому ботанічному саду НАН України [76].

Аналіз доступних джерел літератури показав, що фармакогностичне вивчення мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих є недостатнім, тому ЛРС даних видів потребує поглибленого фітохімічного дослідження з використанням сучасних методів фармакогностичного аналізу. Отже, дослідження мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих як видів з діуретичними властивостями є сьогодні актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертація виконана в рамках планової науково-дослідної роботи кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України «Фармакогностичне та фармакологічне дослідження перспективної рослинної сировини та фітосубстанцій на її основі» (номер державної реєстрації 0121U100664). Дисертант – співвиконавець названої теми.

Мета дослідження: комплексне фармакогностичне дослідження мильнянки лікарської трави і коренів та чорнобривців золотистих трави, одержання субстанцій на їх основі та вивчення сечогінної активності одержаних субстанцій.

Завдання дослідження:

- проаналізувати джерела літератури щодо ботанічної характеристики, розповсюдження, хімічного складу та застосування мильнянки лікарської та чорнобривців золотистих;
- встановити методами фітохімічного аналізу якісний склад і визначити кількісний вміст основних біологічно активних речовин мильнянки лікарської трави і коренів та чорнобривців золотистих трави;
- здійснити морфолого-анатомічний аналіз мильнянки лікарської трави;
- визначити оптимальні умови одержання фармакологічно активних субстанцій з мильнянки лікарської трави і коренів та чорнобривців золотистих трави; провести їх стандартизацію;
- дослідити гостру токсичність та діуретичну дію субстанцій, одержаних із мильнянки лікарської трави і коренів та чорнобривців золотистих трави;
- вивчити нефропротекторну активність субстанцій мильнянки лікарської та антиоксидантну дію субстанції чорнобривців золотистих трави;
- розробити проекти методів контролю якості (МКЯ) на мильнянки лікарської трави та субстанції, одержані з трави і з коренів мильнянки лікарської та з трави чорнобривців золотистих.

Об'єкт дослідження – комплексне фармакогностичне вивчення мильнянки лікарської трави і коренів та чорнобривців золотистих трави, фармакологічна активність субстанцій, одержаних з досліджуваної сировини.

Предмет дослідження – ідентифікація основних БАР мильнянки лікарської трави і коренів та чорнобривців золотистих трави, їх кількісне визначення; морфолого-анатомічний аналіз мильнянки лікарської трави; розробка субстанцій з мильнянки лікарської трави і коренів та чорнобривців золотистих трави, їх стандартизація, вивчення гострої токсичності та діуретичної дії, нефропротекторної активності субстанцій мильнянки лікарської та антиоксидантної активності субстанції з трави чорнобривців золотистих.

Методи дослідження. Використано фармакопейні методи ідентифікації і кількісного визначення основних БАР; методи хроматографічного аналізу – тонкошарову і паперову хроматографію (ТШХ, ПХ), ультрависокоєфективну рідинну хромато-мас-спектрометрію (УВЕРХ-МС), високоєфективну рідинну хроматографію (ВЕРХ), газову хроматографію з мас-спектрометрією (ГХ/МС), титриметрії, гравіметрії, спектрофотометрії. Елементний склад сировини визначали методом – атомно-абсорбційної спектрофотометрії (ААС).

Для вивчення морфологічної будови сировини використовували лупу, анатомічної – світловий мікроскоп «БІОЛАМ ЛОМО» при збільшенні у 80, 120, 160, 400, 600 та 800 разів. Отримані дані фіксували цифровою фотокамерою «OLYMPUS SH – 21». Фотографії обробляли за допомогою комп'ютерної програми «Adobe Photoshop CS3».

Використовували фармакологічні методи дослідження *in vivo* та *in vitro*. Обробку результатів експериментальних досліджень здійснювали за допомогою програми Microsoft Excel 12,0 (STATISTICA 6.1). Використовували методи математичної статистики (обробка цифрових даних методом варіаційної статистики Ньюмана-Кейлса, непараметричного критерію Манна-Уїтні).

Наукова новизна одержаних результатів. Проведено комплексне фармакогностичне вивчення мильнянки лікарської трави і коренів та чорнобривців золотистих трави. У досліджуваній сировині встановлено наявність та визначено кількісний вміст вуглеводів, карбонових та амінокислот, летких сполук, сапонінів, сполук фенольної природи – гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, дубильних речовин, а також визначено їх мінеральний склад.

Уперше у мильнянки лікарської трави і коренях та у чорнобривців золотистих трави досліджено полісахаридні комплекси, виділено фракції водорозчинних полісахаридів (ВРПС) і пектинових речовин (ПР), встановлено їх мономерний склад.

Встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст суми органічних кислот та кількісний вміст аскорбінової кислоти у сировині досліджуваних видів. Уперше методом ВЕРХ у мильнянки лікарської трави і коренях та методом ГХ/МС у чорнобривців золотистих трави виявлено і встановлено кількісний вміст індивідуальних органічних кислот. Уперше проаналізовано жирнокислотний склад ліпофільних фракцій досліджуваної сировини.

У досліджуваних об'єктах уперше проведено визначення амінокислотного та елементного складу. Проведено дослідження якісного складу та кількісного вмісту летких сполук і сапонінів.

Методом ВЕРХ у мильнянки лікарської трави і коренях та чорнобривців золотистих трави ідентифіковано та встановлено кількісний вміст індивідуальних речовин фенольної природи: з гідроксикоричних кислот – хлорогенової, кофейної, сирінгової, *p*-кумарової, транс-ферулової, синапової, транс-цинамової, хінної і гідроксифенілацетатної гідроксикоричних кислот; з флавоноїдів у мильнянки трави – ізокверцитрин і кемпферол; у коренях – кверцетин, у трави чорнобривців – ізокверцитрин, нарингін, кемпферол і кверцетин; з компонентів конденсованих дубильних речовин – галокатехіну та епікатехіну у мильнянки лікарської трави, у коренях – галокатехіну, у чорнобривців золотистих трави – галокатехіну, епікатехінут та епікатехін галату. У мильнянки лікарської трави і коренях ідентифіковано 13 і 12 фенольних сполук, у чорнобривців золотистих трави – 15.

Вивчено морфолого-анатомічні особливості будови мильнянки лікарської трави, визначено її основні діагностичні ознаки та запропоновано параметри стандартизації. Уперше визначено числові показники якості досліджуваних видів сировини згідно з вимогами ДФУ.

Уперше визначено оптимальні умови одержання густих екстрактів з мильнянки лікарської трави і коренів та сухого екстракту з чорнобривців золотистих трави, визначено їх гостру токсичність і встановлено сечогінну дію. Доведено нефропротекторну активність густих екстрактів з трави і з коренів

мільнянки лікарської та антиоксидантну дію сухого екстракту з трави чорнобривців золотистих *in vitro*.

Практичне значення одержаних результатів. Розроблено проєкт МКЯ на нову лікарську рослинну сировину «Мільнянки лікарської трава».

Визначено оптимальні умови одержання густих екстрактів з досліджуваної сировини мільнянки лікарської і сухого екстракту чорнобривців золотистих трави, на які розроблено проєкти МКЯ «Мільнянки лікарської трави екстракт густий», «Мільнянки лікарської коренів екстракт густий» та «Чорнобривців золотистих трави екстракт сухий».

Результати фармакогностичних досліджень впроваджено у науково-дослідну роботу та навчальний процес кафедри фармацевтичного управління, технології ліків та фармакогнозії Івано-Франківського національного медичного університету, кафедри фармації Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, кафедри фармацевтичної ботаніки та фармакогнозії Буковинського державного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Автором безпосередньо проведено: патентно-інформаційний пошук, аналіз та узагальнення сучасного стану досліджень за темою дисертаційної роботи; встановлено якісний склад та визначено кількісний вміст БАР у сировині мільнянки лікарської і чорнобривців золотистих; розроблено оптимальні умови одержання густих екстрактів з трави і з коренів мільнянки лікарської і сухого екстракту з трави чорнобривців золотистих; проведено фітохімічне вивчення одержаних екстрактів з досліджуваної сировини; запропоновано параметри стандартизації та розроблено проєкти МКЯ «Мільнянки лікарської трава», «Мільнянки лікарської трави екстракт густий», «Мільнянки лікарської коренів екстракт густий» та «Чорнобривців золотистих трави екстракт сухий»; узагальнено дані, отримані при дослідженні фармакологічної активності субстанцій, одержаних з досліджуваної сировини мільнянки лікарської і чорнобривців золотистих.

Вивчення морфолого-анатомічних особливостей будови мильнянки лікарської трави проведено за консультативної допомоги д. фармац. наук професора Журавель І. О.

Фармакологічні дослідження проведено автором на базі науково-дослідної лабораторії доклінічного вивчення фармакологічних речовин Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова під керівництвом професора Н. І. Волощук.

Співавторами наукових праць є науковий керівник проф. С. М. Марчишин та науковці, спільно з якими було проведено ряд досліджень – Л. В. Слободянюк, Л. І. Будняк, О. І. Захарчук, О. Л. Демидяк, Т. В. Валько, В. М. Кіщук, Е. А. Паращук, О. М. Горошко, Л. Ю. Ляшенко, С. М. Машковська, А. О. Савич, О. Я. Скринчук, Т. І. Лемішка, І. М. Сахацька, М. А. Ежнед, М. Р. Матушак, І. М. Івасюк, І. С. Дахим, А. Р. Бабин, Н. М. Михайлюк, М. М. Васенда, С. Ю. Чолач, Н. В. Горлачук. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

Постановка мети та завдань, обговорення результатів проведені разом із науковим керівником.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи оприлюднено на Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання фармакології та фармакотерапії» (Тернопіль, 26-27 вересня 2019 р.); VIII науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 23-24 вересня 2020 р.); Буковинському міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів та молодих вчених «ВІМСО» (Чернівці, 7-8 квітня 2020 р.); V міжнародній науково-практичній конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 26 листопада 2020 р.); Міжнародній науково-практичній конференції PLANTA+ НАУКА, ПРАКТИКА

ТА ОСВІТА (Київ, 19 лютого 2021 р.); 3th International Scientific and Practical Conference «Scientific Community: Interdisciplinary Research» (Hamburg, March 16-18, 2021); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Current trends in pharmaceutical chemistry and standardization of medicines» (Тернопіль, 25-26 травня 2021 р.); 1st Natural Cosmetics International (Rzeszów, September 22nd-24th 2021); III науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 180-річчю Національного медичного університету імені О. О. Богомольця PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА (Київ, 18 лютого 2022 р.); IV Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (Харків, 8 квітня 2022 р.), XXVI Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 13-15 квітня 2022 р.); 12th International Pharmacy Conference. «Contemporary Pharmacy: Issues Challenges and Expectations» Lithuanian University of Health Sciences, Faculty of Pharmacy (Kaunas, 21 October 2022); VI Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 27-28 жовтня 2022 р.).

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 223 сторінках і складається зі вступу, огляду літератури, трьох розділів власних досліджень, висновків, списку використаних джерел літератури, що містить 287 найменувань, та додатків. Робота ілюстрована 28 таблицями і 54 рисунками. Список використаних джерел і додатки викладено на 52 сторінках.

РОЗДІЛ 1

БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, РОЗПОВСЮДЖЕННЯ, ХІМІЧНИЙ СКЛАД І ВИКОРИСТАННЯ МИЛЬНЯНКИ ЛІКАРСЬКОЇ І ЧОРНОБРИВЦІВ ЗОЛОТИСТИХ (огляд літератури)

1.1 Ботанічна характеристика та особливості біології мильнянки лікарської (*Saponaria officinalis* L.)

Рід Мильнянка (*Saponaria* L.) належить до рослин підродини *Caryophylloideae*, триби *Caryophylleae* родини *Caryophyllaceae* (гвоздикові) [150, 192]. Це трав'янисті однорічні, дворічні або багаторічні голі, іноді розсіяно-опушені, рослини з суцільнокраїми супротивно-сидячими еліптичними або овально-ланцетоподібними листками без прилистків. Стебла заввишки від 30 до 90 см. Суцвіття щиткоподібне-волотисте, не густе. Квітки великі білі, рожеві або червоні. З привіночком. Чашечка циліндрична з п'ятьма трикутними зубчиками. Пелюсток 5, вони в 1,5 раза довші за чашечку, з майже суцільною пластинкою і довгим лінійним нігтиком. Плід – багатонасінна продовгувато-яйцеподібна коробочка, розкривається 4 зубчиками. Насінина ниркоподібна, сплюснута, з боковим зубцем [96, 125]. Цвіте мильнянка з червня по вересень.

Родова назва *Saponaria* належить Ліннею і походить від грецького слова «sapon», що означає «мило», оскільки корені деяких видів роду використовувалися як заміник мила.

Рід налічує від 30 до 40 видів, в Україні поширені 2 види – мильнянка клейка (*Saponaria glutinosa* M. Bich.) і мильнянка лікарська (*Saponaria officinalis* L.) [86].

Рослини роду Мильнянка поширені по всій Євразії, ростуть на кам'янистих схилах в Криму, на Кавказі, по всьому Середземноморського узбережжі і в більш північних широтах [96, 123, 125].

Saponaria officinalis L. – один із поширених видів роду. Синонімами *Saponaria officinalis* є *Lychnis saponaria* Jess., *Saponaria hybrida* Mill., *Saponaria officinarum* Rupr. і *Saponaria vulgaris* Pall. [150].

Народні назви мильнянки – білі зірки, мутозиння, мильний корінь, собаче мило, чистець, мило татарське, мильна трава, мильник, мутлиця, частуха, червоний мильний корінь, чистуха [78, 108].

Мильнянка лікарська (*Saponaria officinalis* L.) – багаторічна трав'яниста рослина, з повзучими і досить довгими (до 35-40 см), розгалуженими і достатньо тонкими кореневищами та тонкими коренями, зовні червонувато-бурими (іноді червоні або коричневі). Стебло у мильнянки прямостояче, 30-90 см заввишки, просте, внизу голе, вгорі короткопухнате [125]. У його верхній частині (іноді і на середині) округле і гіллясте. Листя супротивне, довгасте, овально-ланцетне або еліптичне, з 3-5 добре помітними жилками, при основі звужене у коротенький черешок. Краї листків – з шерстистим опушенням. Листя на поверхні голе або трохи опушене. Квітки правильні, двостатеві, білі або блідо-рожеві, зібрані у щиткоподібно-волотисті суцвіття. Квітки у суцвітті сидять по 3 на коротких квітконіжках. Пелюстки великі, відгин суцільний або нагорі виїмчастий (рис. 1.1).



Рисунок 1.1 – Мильнянка лікарська (*Saponaria officinalis* L.)

Цвіте мильнянка лікарська у червні-вересні, має приємний запах. У сутінках квітки більш ароматні, ніж удень. Плід – коробочка [108, 150].

Мильнянка лікарська росте по всій території України на піскуватих луках, узліссях і пустирях, серед чагарників, особливо в долинах річок, біля будинків і шляхів [78, 108]; розсіяно – на відкритих сухих слабозадернованих місцях [86].

Мильнянка лікарська поширена по всій території Європи, в Іспанії, Франції, Італії, північній Африці та на заході до Середньої Азії [150, 154, 197, 246]. Декоративна рослина [86]. Крім декоративного призначення, мильнянка лікарська традиційно культивується і заготовляється для лікувальних і косметичних цілей.

У Західній Європі мильнянка лікарська входить до Фармакопеї Франції, Німеччини, Голландії, Фінляндії та Португалії [108].

Мильнянка клейка (*Saponaria glutinosa* M. Bich.) – однорічна або дворічна залозисто-опушена трав'яниста рослина з стеблами заввишки 30–50 см. Листки продовгувато-яйцеподібні. Квітки з червоними, дволопатовими пелюстками; чашечка завдовжки 20–25 мм, із загостреними ланцетними зубцями. Цвіте у червні-липні (рис. 1.2).



Рисунок 1.2 – Мильнянка клейка (*Saponaria glutinosa* M. Bich.)

Вид поширений у Євразії, в Україні зустрічається у Криму, росте на відкритих сухих схилах [45, 86, 96, 113].

1.2 Хімічний склад і фармакологічна дія мильнянки лікарської

Хімічний склад мильнянки лікарської досить різноманітний.

У джерелах літератури є інформація, що *Saponaria officinalis* містить значну кількість тритерпенових сапонінів, агліконом яких є сполука β-аміринового типу. Це, в основному, бідесмозиди, де цукри знаходяться в позиціях C₃ і C₂₈ [150, 192, 236]. Агліконами сапонінів мильнянки є гедерагенін, гідроксигедерагенін, гіпсогенін і квиллова кислота [150, 233].

Сапоніни, які присутні в мильнянці лікарській є похідними гіпсогенової, гідроксигіпсогенової та квиллової кислот, а також гіпсогеніну [190, 213]. Проте Moniuszko-Szajwaj B. et al. [233] заперечують наявність гіпсогеніну у сировині мильнянки лікарської.

Talluri M. R. et al. [279] досліджували метанольний, етилацетатний і хлороформний екстракти мильнянки лікарської коренів і показали наявність у досліджуваних об'єктах стеринів, терпеноїдів, глікозидів, вуглеводів, білків, флаваноїдів, алкалоїдів, фенолів, дубильних речовин. Не виявлено амінокислот і хінонів. Найбільший вміст фенолів спостерігали в метанольному екстракті, алкалоїдів – в етилацетатному. Досліджувані екстракти показали виражену гепатопротекторну активність на моделі токсичного ураження печінки щурів парацетамолом [279].

Польськими вченими методом ГХ були виділені з коренів мильнянки лікарської такі фракції сполук: полісахариди (69,5 мг/г), сапоніни (21,4 мг/г), поліфеноли (3,65 мг/г) та інші сполуки, в основному катехіни. Хроматографія сапонінової фракції показала ряд сполук з масою *m/z* 795–1905. На основі МС/МС аналізу деякі з піків даної фракції були ідентифіковані як

сапонаріозиди А, В, С, D, F, G, I, K, L, вакаріозид D, дианхінозид В та як глікозиди квілеїнової, гіпсогенної і α -гідроксигіпсогенової кислот [264].

Takahashi N. et al. [236] методом ЯМР-спектроскопії, хроматографічного і спектроскопічного аналізів у насінні мильнянки лікарської (у метанольних екстрактах) встановлено і визначено кількісний вміст 17 тритерпенових сапонінів олеананового типу, у яких встановлено цитотоксичну активність.

Крім сапонінів, мильнянка містить також флавоноїди, інші фенольні сполуки та жирні кислоти [143]. У листках знайдено алкалоїди, аскорбінову кислоту, флавоноїди: вітексин, сапонарин, сапонаретин [86, 100, 101].

Було встановлено, що мильнянка лікарська містить апігенін 6-C-b-D-глюкозид (ізовітексин) та апігенін 8-C-b-D-глюкозид (вітексин) [210].

З коренів *Saponaria officinalis* L. (*Caryophyllaceae*) Lu Y. et al. [143] виділено дев'ять квілаїнових кислот та п'ять бісдесмозидів гіпсогеніну. Сім сапонінів квілаєвої кислоти містять 3-ObD-галактопіранозил-(1 \times 2)-[bD-ксилопіранозил-(1 \times 3)]-bD-глюкуронопіранозилу, але відрізняються один від одного олігосахаридними ланками, пов'язаними з C-28. Всі п'ять гіпсогенінових сапонінів, виділених з коренів, містили 3-ObD-галактопіранозил-(1 \times 2)-[bD-ксилопіранозил-(1 \times 3)]-bD-глюкуронопіранозил, а їх олігосахаридні ланки були пов'язані з C-28. Структури були з'ясовані за допомогою одномірної і двомірної ЯМР-спектроскопії та мас-спектрометрії.

У науковій праці Budan A., Bellenot D. et al. [252] є інформація про те, що різними можуть бути профілі сапонінів у підземній і надземній частинах мильнянки. Проте сьогодні дуже мало відомостей про мінливість вмісту сапоніну в різних органах рослини та на різних стадіях її розвитку.

Petrović G. M. et al. [246] зі свіжих пагонів і квіток мильнянки лікарської використовуючи апарат типу Клевенджера, вперше отримали ефірну олію, вміст якої був не менше 0,01 %. Хімічний склад ефірних олій визначали методом ГХ і ГХ/МС. Авторами встановлено, що склад ефірної олії з пагонів і з квіток був різним. Ефірна олія пагонів містила у 2 рази менше сесквітерпенів

порівняно з ефірною олією квіток. У ефірній олії пагонів мильнянки лікарської було виявлено 87 компонентів, де переважали за кількісним вмістом нетерпеноїдні сполуки (53,7 %). Основним компонентом ефірної олії пагонів був фітол (14,1 %).

В ефірній олії квіток мильнянки лікарської виділено та ідентифіковано 66 компонентів. Одним із основних компонентів був генейкозан (11,5 %) [246].

1.3 Застосування мильнянки лікарської в традиційній та доказовій медицині, інших галузях

За даними джерел літератури, корені мильнянки лікарської використовують у традиційній (народній) медицині як відхаркувальний і протикашльовий засіб при бронхітах, пневмонії, коклюші; як сечогінний засіб при набряках ниркового і печінкового походження, при водянці; при лікуванні сифілісу, при захворюваннях печінки, порушенні обміну речовин (подагри, ексудативному діатезі), ревматичних захворюваннях; зовнішньо (у вигляді ванн і примочок) – при корості, виразках, екземі, дерматитах, фурункулах і зубному болю [86, 101, 236, 282, 287]. Відваром трави рекомендують полоскати горло під час ангіни.

З давніх часів у традиційній медицині при різних захворюваннях використовуються різні частини *S. officinalis*: корені – як кровоочисний, сечогінний, потогінний, жовчогінний засіб; корені і листки – при золотусі і захворюваннях шкіри; сік – при корості, різних висипках, що пов'язані із порушенням функції печінки, трави – для респіраторних захворюваннях [231]. Листям мильнянки лікарської натирають шкіру, використовуючи її як репелент, а також як дезинфікуючий засіб [150].

Сапоніни, виділені з мильнянки, мають акарицидну [239, 240] та протиракову активність [143], тому що вони є інгібіторами рибосом і мають важливі протипухлинні властивості [150, 267, 268].

Lu Y. et al. [143] встановлено протипухлинну дію сапонінів, виділених із *S. officinalis*, на двох лініях ракових клітин людини, MDAMB-231 (молочна залоза) та PC-3 (передміхурова залоза), та досліджено їх гемолітичну активність з використанням еритроцитів овець.

У джерелах наукової літератури є дані про те, що сапонінова фракція *S. officinalis* проявляє протизапальну активність в експерименті *in vitro* на моделі карагенінового набряку лапи щурів, яка пов'язана із пригніченням простагландинсинтетази [108, 197, 233].

Крім фармакологічних властивостей сапонінів *S. officinalis*, як протипухлинних, імуномодулюючих та цитотоксичних засобів [148], Czaban J. et al. [177] у своїх дослідженнях показали протигрибкову активність фракції сапонінів проти *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* і *Fusarium culmorum*, які викликають хвороби зернових культур.

Дослідження індійських вчених показали наявність в екстрактів з коренів мильнянки лікарської антибактеріальної [285] та антиоксидантної активності [286].

Автори довели, що екстракти мильнянки показали більшу активність щодо грамнегативних організмів порівняно з грампозитивними. Активність щодо *E. coli* та *S. typhimurium* була більш виражена, а щодо *C. sporogenes* та *S. pneumoniae* – менше [286].

Sengul M. et al. [142] встановлено, що метаноловий екстракт *S. officinalis* виявляє антимікробні властивості проти *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Candida albicans*, *Streptococcus thermophilus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* subsp. пневмонія, *Staphylococcus hominis*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *ozanae*, *Providencia alcaliicens*, *Acinetobacter lwoffii*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Yersinia enterocolitica* та *Penicillium brevicompactum*, у той час як водний екстракт рослини виявляє антимікробну дію лише проти *Flavobacterium indologenes*. Екстракт коренів *S. officinalis*

виявляє протигрибкову дію проти *Candida albicans* [232]. Вважають, що екстракти мильнянки лікарської можна використовувати як натуральні консерванти у фармацевтичній і харчовій промисловості.

Sengul M. et al. [142] також вивчали антиоксидантні властивості метанольних екстрактів *Saponaria officinalis*. Результати досліджень показали, що антиоксидантна активність рослинного екстракту складає 70,00 %, що на 23,21 % менше від стандартного зразка (ВНА), антиоксидантна активність якого становила 93,21 %. Відомо, що антиоксидантна активність рослин залежить від вмісту в них сполук фенольної природи. У *Saponaria officinalis* вміст фенольних сполук становив 6,57 мкг галової кислоти [142].

Антиоксидантну активність екстрактів коренів мильнянки лікарської на щурах, опромінених рентгенівськими променями, вивчали Kucukkurt I. et al. [253]. Виявили, що 100 мг/кг екстракту помітно пригнічували окислювальні концентрації на 20,8 % на 21 день досліджень і на 30,6 % на 42 день. Рослинний екстракт продемонстрував пряме зменшення базального утворення МДА та виявив антиоксидантні властивості щодо пошкодження клітин, викликаного іонізуючим випромінюванням.

Досліджено на мишах гепатопротекторну дію коренів *S. officinalis*. Показало, що екстракт мильнянки лікарської зменшував шкідливий вплив чотирехлористого вуглецю (CCl_4) на печінку. Вчені вважають, екстракт коренів *S. officinalis* може детоксикувати вироблені вільні радикали, які утворюються через посилення перекисного окислення ліпідів після інтоксикації CCl_4 , та покращує функцію печінки [150].

Через високу спорідненість до мембранних ліпідів, особливо до холестерину, сапоніни виявляють різні рівні гемолітичної активності [239, 272]. *In vitro* встановлено, що очищені сапоніни *Saponaria officinalis* мають гіпохолестеринемічний ефект, який, як вважають, зумовлений їх здатністю утворювати нерозчинний комплекс з холестерином [154, 246].

Окрім корисних властивостей, *S. officinalis* є токсичною для жуйних тварин. Це призводить до фотосенсибілізації, а також до дегенеративних змін печінки та нирок та проблем з кишечником [233].

S. officinalis продукує велику кількість сапонінів, які здатні знижувати поверхневий натяг аналогічно як і синтетичні поверхнево-активні речовини [176, 190, 191, 268]. Застосовують для миття шовкових тканин [125]. Протягом століть водні екстракти коренів мильнянки використовувалися не тільки як натуральний миючий засіб, але як емульгатор і як відхаркувальний засіб при кашлі [125, 143, 198]. Екстракт мильнянки використовують в дієтології для поліпшення метаболізму і виведення шкідливих токсинів з організму.

Лікування мильнянкою протипоказано вагітним, жінкам, які годують груддю, дітям до восьми років, особам з важкими захворюваннями серця і нирок, а також особам, у яких індивідуальна непереносимість до речовин, що містяться в рослині.

З давніх часів мильнянку використовували замість мила. У наш час її використовують для виробництва шампунів, мила і миючих засобів для миття посуду.

У ветеринарії рослину використовують як блювотний засіб та як ліки від паразитів. У кулінарії мильнянку лікарську застосовують при виготовленні кремів, вин, пива, безалкогольних напоїв, халви. Мильнянку широко використовують у харчовій промисловості та в декоративному квітникарстві [83, 125, 219].

1.4 Ботанічна характеристика та особливості біології чорнобривців золотистих (*Tagetes lucida Cav.*)

Tagetes L. – рід трав'янистих, однорічних і багаторічних рослин родини айстрові (*Asteraceae*), який включає до 56 видів і біля 600 сортів. Назву цей рід отримав на честь персонажа грецької міфології, онука бога Юпітера – бога

Тагетеса (Тагеса), який славився своєю красою і вмінням передбачати майбутнє. Батьківщиною рослин є Мексика, де зростає близько 22 видів роду, Північна та Південна Америка [221, 241, 278].

Це однорічні теплолюбні рослини, з прямими розгалуженими стеблами. У залежності від виду і сорту вони бувають заввишки від 15 до 100 см. Квітки чорнобривців поодинокі, на циліндричних і дещо роздутих на верхівці квітконосах. Забарвлення суцвіть жовте, оранжеве, червоно-буре та коричнево-буре. Для рослин роду Чорнобривці властивий сильний специфічний запах [68, 70].

Види *Tagetes* L. зростають у дикому стані в помірних лісах і гірських районах. У даний час види роду *Tagetes* L. вирощують в країнах Африки, Азії та Європи [152, 153, 278]. Види *Tagetes* L. культивуються як декоративні рослини та зустрічаються як дикі види [278]. На європейському континенті чорнобривці відомі з 1542 року. Багато видів цього роду, наприклад *T. minuta*, *T. erecta*, *T. patula*, *T. tenuifolia*, культивують як декоративні рослини і вивчають їх лікувальні властивості на основі використання в традиційній медицині [205].

Останніми роками значну увагу приділяють вивченню чорнобривців золотистих (*Tagetes lucida* Cav.), які вирощують у Національному ботанічному саду ім. М. М. Гришка НАН України та Донецькому ботанічному саду НАН України [76].

Усі види культивованих чорнобривців є рослинами неофіціальними.

Чорнобривці золотисті (*Tagetes lucida* Cav.) (рис. 1.3) (син. чорнобривці анісові (*Tagetes anisala*), *Tagetes florida* Sweet, *Tagetes schiedeana* Less., чорнобривці мексиканські, мексиканський естрагон) – це багаторічна трав'яниста рослина 45-75 см заввишки. Стебла прямостоячі, у верхній частині гіллясті, щільні, ребристі, голі, з пурпуровим відтінком. Листки блискучі, світло-зеленого кольору, сидячі, голі, супротивні, 5-10 см завдовжки, від ланцетних до вузьколанцетних, до верхівки завужені, зазвичай тупі, край тонкопилчастий. На кінцях стебел розташовані численні суцвіття – кошики,

зібрані в плоскі, верхівкові напівзонтики, на дуже коротких квітконіжках. Діаметр кошиків – 1,3-1,5 см [194, 195, 209]. Крайові квітки язичкові, звичайно їх 3-5 штук, широко-ниркоподібні, зі зрізаною, виїмчасто-зубчастою верхівкою, яскраві, світло-золотисто-жовтого кольору. Трубчасті квітки темно-жовті. Цвіте рослина з серпня до заморозків.



Рисунок 1.3 – Чорнобривці золотисті (*Tagetes lucida Cav.*)

У межах роду *Tagetes* ця рослина належить до підроду *Lucida* [158].

Tagetes lucida зростає у дикому стані вздовж гірських хребтів від Мексики до Гондурасу на висоті 1000-2000 м [159]. Вид культивується в США, Франції та Англії як квіткова рослина [128].

1.5 Хімічний склад рослин роду Чорнобривці та їх біологічна активність

Останніми роками науковці ряду країн інтенсивно вивчають хімічний склад і біологічну активність рослин роду Чорнобривці [7, 128, 162, 245]. Чорнобривці містять більше ніж 100 БАР: фенілпропаноїди, похідні тіофену та бензофурану, тритерпеноїди, стероїди, алкалоїди, флавоноїди, каротиноїди, кумарини тощо [70, 204, 278].

У джерелах наукової літератури найбільше інформації є про дослідження в усіх видах роду Чорнобривці ефірної олії [278]. Встановлено, що ефірна олія надземної частини чорнобривців містить до 50 % о-цимену, який має виражену антисептичну та антимікробну дію, лімонен, терпінен, мірцен з монотерпенових вуглеводнів, тагетон, дигідротагетон, тагетенон з ациклічних монотерпенових кетонів. Лише у складі ефірної олії чорнобривців золотистих і ч. тонколистих переважають фенілпропаноїди – метилевгенол, метилхавікол, анетол, що відрізняє дані види від інших видів роду *Tagetes* L. Ефірна олія різних видів роду Чорнобривці містить також сесквітерпени, сесквітерпенові спирти, складні естери, монотерпеноїди та ароматичні сполуки [278].

Дослідження китайських вчених показали, що найбільше накопичується ефірної олії у фазі цвітіння рослин (надземна частина – 0,30-0,55 %, листки – 0,5-0,7 %, суцвіття – 0,1-0,2 %, стебла – 0,05 %) і фазі бутонізації (надземна частина – 0,22-0,30 %) [249].

На кафедрі фармакогнозії з медичною ТНМУ дослідження ефірних олій трьох видів роду Чорнобривці (*Tagetes erecta* L., *Tagetes patula* L. та *Tagetes tenuifolia* L.) проведено Бердей Т. С. [7], яка показала, що ефірна олія *Tagetes erecta* L. трави містить 50 компонентів, з яких ідентифіковано 37, серед яких у значних кількостях виявлено каріофілен (22,38 %), піперитон (8,18 %), каріофіленоксид (6,33 %); ефірна олія *Tagetes patula* L. трави – 49 компонентів, з яких ідентифіковано 33, домінуючими є каріофілен (25,54 %), докозен-1 (8,62 %), гермакрен D (5,95 %), спатуленол (5,58 %); ефірна олія *Tagetes tenuifolia* L. трави – 53 компоненти, з яких ідентифіковано 31, де домінують транс-о-цименон (16,88 %), цис-оцименон (16,49 %), дигідротагетон (14,12 %), цис-тагетон (9,25 %), цис-оцимен (7,54 %) [7].

У видах роду *Tagetes* L. виявлено також гідроксикоричні кислоти, флавоноїди та їх глікозиди (апигенін, гіперозид, ізокверцетин), кумарини, полісахариди, жирні кислоти, амінокислоти тощо [7, 68, 80, 95, 265].

У траві видів роду *Tagetes* виявлено 15 елементів: 6 макро- і 9 мікроелементів. В усіх видів спостерігається значний вміст Ca, Mg, K, Na, P і Si [6].

Впродовж останніх років за кордоном значного поширення набуло вивчення одного з предствників роду *Tagetes* L. – чорнобривців золотистих (*Tagetes lucida*) [138, 159, 194, 244, 265, 274].

Ще у 1938 році французькі хіміки в траві чорнобривців золотистих ідентифікували у високих концентраціях фенілпропаноїди [128].

Ряд дослідників встановили, що *T. lucida* містить поліфенольні сполуки [194], флавоноїди, кумарини та ефірні олії [209]. Патулетин, кверцетин і кверцетагетин є основними флавоноїдними сполуками його надземних частин [137]. Окрім того, Сея Spedes C. I. et al. [137] з етанольних екстрактів з надземних частин *T. lucida* виділили 7 кумаринів, 7,8-дигідроксикумарин, умбеліферон (7-гідроксикумарин), скопарон (6,7-диметоксикумарин), ескулетин (6,7-дигідроксикумарин), 6-гідрокси- 7-метоксикумарин, герніарин (7-метоксикумарин) і скополетин (6-метокси-7-гідроксикумарин). Усі виділені сполуки досліджували на антибактеріальну і антигрибкову активність, яку визначали на штаммах бактерій *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Salmonella sp.*, *Shigella boydii*, *Shigella sp.*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans*, *Sarcina lutea*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae* та грибів *Aspergillus niger*, *Penicillium notatum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium sporotrichum*, *Rhizoctonia solani* та *Trichophyton mentagrophytes*. Було встановлено, що найактивнішими сполуками проти грампозитивних і грамнегативних бактерій були дигідроксильовані кумарини. Кумарини були найефективнішими сполуками проти грамнегативних бактерій. Диметоксисполуки показали сильну активність проти штамів грибів, особливо *T. mentagrophytes* і *R. Solani*.

El-Newary S. Ali et al. [194] в етанольному екстракті з трави *T. lucida*, виявили такі флавоноїди як гесперидин і нарингін.

Estrada-Soto S. et al. [138] було встановлено, що етанольний екстракт *T. lucida* багатий на кумарини. Це, в основному, 6,7,8-триметоксикумарин, 6,7-диметоксикумарин і 7-метоксикумарин, які, за даними авторів, продемонстрували виражену вазорелаксуючу активність.

Методами хроматографічного аналізу у *T. lucida* було виявлено 5,6,7-триметоксикумарин, 6,7-диметоксикумарин і 6-метоксикумарин, структуру яких з'ясовано за допомогою ядерного магнітного резонансу (ЯМР) [138, 204, 277].

У працях Salvaña F. R. [265] є інформація, що *T. lucida* Cav. містить такі вторинні метаболіти як алкалоїди.

Фітохімічні дослідження, проведені Perez-Ortega G. et al. [277], методами ТШХ та УВЕРХ дозволили ідентифікувати у водному екстракті чорнобривців золотистих кумарові компоненти. Інші дослідження визначили присутність умбеліферону, герніарину та скопарону серед інших кумаринів [137]. Були виявлені деякі флавоноїди – кверцетин, патулетин, рутин, ізорамнетин, кверцетагетин і нарингенін [249].

У гексановому екстракті *T. lucida* Cav. виділено і встановлено структуру 5 кумаринів – 7-О-пренілскополетину, скопарону, диметилфраксетину, герніарину і 7-О-пренілумбеліферон, і рутину, які вважаються потенційними протинейрозапальні сполуками [242].

Науковці різних країн, досліджуючи ефірні олії чорнобривців золотистих, що зростають у різних кліматичних зонах, показали, що вони мають різний компонентний склад. В ефірній олії, що одержано з надземної частини *T. lucida*, культивованої в Коста Ріка, було ідентифіковано тридцять сполук, з яких основним компонентом, що становило 95–97 %, був метилхавікол, відомий як естрагон [156]. Також було ідентифіковано анетол, ліналоол, метилевгенол і евгенол. Аналогічні результати отримано при дослідженні ефірної олії *T. lucida*,

зібраної в Колумбії та на Кубі [151, 181]. Vicchi C. et al. [158] повідомили, що в ефірній олії, яку одержали з надземної частини *T. lucida*, культивованої в Перу, ідентифіковано 53 сполуки, основними з яких є анетол (23,8 %), метилевгенол (24,3 %) і естрагол (33,9 %).

Науковці Єгипту, досліджуючи ефірні олії двох зразків чорнобривців золотистих, вирощених в різних кліматичних умовах, методом ГХ/МС встановили, що основним компонентом даних ефірних олій був метилхавікол (естрагон), що становило 93,2 % і 94,3% від суми ідентифікованих сполук, вміст яких становив 96,6 % і 96,4 % [130]. Відомо, що сполуки з фенольними або ароматичними фрагментами, такими як естрагол, є потужними антиоксидантами [284].

Методом ГХ/МС виявлено в ефірній олії *Tagetes lucida* наявність геранілацетату, гераніолу і β -кариофілену та встановлено їх кількісний вміст – 49,89 %, 7,92 %, 6,27 % відповідно [262].

Чорнобривці золотисті містять тіофени, інозит, дубильні речовини [159, 265].

1.6 Застосування рослин роду *Tagetes* L. у традиційній та доказовій медицині, в косметології та різних галузях господарства

Чорнобривці здавна вирощує в Україні практично все населення, в першу чергу як декоративні рослини. Сьогодні їх вирощують і в спеціалізованих господарствах. Ефірну олію чорнобривців застосовують у харчовій промисловості для приготування кондитерських виробів, у лікєро-горілчаному виробництві. Особливо широко використовують ефірну олію в парфумерній та косметичній промисловості.

Види чорнобривців мають різну фармакологічну дію: антибактеріальну, антимікробну, патопротекторну, інсектицидну, москітоцидну, нематоцидну,

ранозагоювальну, протизапальну, антиоксидантну, гепатопротекторну, гіпоглікемічну, знеболювальну тощо [7, 56, 174].

Традиційно, багато видів роду *Tagetes* L. використовуються для лікування різних захворювань по всьому світу: при захворюваннях нирок, болях у м'язах, при геморої [258, 278], як жарознижувальний [238], протикашльовий [208], тонізуючий, заспокійливий засіб [276]. Екстракти квіток чорнобривців розлогих виявляють гепатозахисну, холеретичну, знеболювальну, бактерицидну, ранозагоювальну, протизапальну дії [279].

Найчастіше у медичній практиці застосовують ефірну олію чорнобривців – у складі кремів і мазей для спортивного масажу, оскільки вона є хорошим знеболювальним засобом; для зниження артеріального тиску, загоювання ран, порізів на шкірі, розм'якшення затвердіння і мозолів, при лікуванні грибкових захворювань. В аромалампах ефірну олію чорнобривців рекомендують використовувати при лікуванні неврозів, депресій, невпевненості, розсіяності, циститів, уретритів, затримці сечовипускання, гельмінтозів. Ефірна олія чорнобривців є сильним снодійним засобом. Вона має виражену антибактеріальну та антиоксидантну дію [153, 262, 265].

Широко використовують у традиційній медицині мексиканський вид роду *Tagetes* L. – *Tagetes lucida*. У різних регіонах Мексики *Tagetes lucida* здавна відомий ацтекам як засіб від гарячки та епілепсії.

В Індії соком з квіток лікують екзему. *Tagetes lucida* також рекомендують як стимулятор імунної системи, при інфекціях, викликаних гельмінтами і найпростішими [278]. Маврикійці рекомендують відвар квіток *Tagetes lucida* як знеболювальний засіб при болях в животі, при лікуванні захворювань системи кровообігу, при жовтяниці новонароджених [266]. Населення Латинської Америки використовує чорнобривці для лікування розладів шлунково-кишкового тракту [265].

У традиційній медицині відвар трави *T. lucida* у Мексиці використовується як протималярійний засіб. Відвар рекомендують вживати

внутрішньо проти кровохаркання та діареї. Рослина також згадується в мексиканській традиційній медицині як засіб для лікування різних захворювань ЦНС, включаючи тривогу, дратівливість і депресію [136, 221]. *T. lucida* використовується для лікування божевілля та епілепсії [128].

Традиційно *T. lucida* призначали для лікування лихоманки, пухлин, діареї, астми, ревматизму та грипу [195].

Настій або відвар з надземних частин *T. lucida* рекомендується як болезаспокійливий та протизапальний, сечогінний, стимулюючий менструацію, абортивний, протидіарейний, противиразковий та гіпотензивний засоби [138, 175]. Настоем з листків і квіток чорнобривців золотистих лікують ревматизм, астму та застуду [149, 251].

У доказовій медицині рослини роду Чорнобривці використовують рідко, проте в останні роки у джерелах наукової літератури є багато повідомлень про фармакологічні дослідження БАР різних видів чорнобривців, в тому числі і чорнобривців золотистих [58, 137, 138, 139, 140, 194, 195, 262, 274, 277].

Дослідження Ali El-Newary S. et al. [195] показали, що етанольний екстракт листків *T. lucida* має потужний антиоксидантний, мембраностабілізуючий і гепатопротекторний ефект, який полягав у нормалізації функції печінки на моделі парацетамолового її ушкодження. Механізми лікувальних та гепатопротекторних властивостей екстракту: пригнічення перекисного окислення ліпідів, полегшення окисного стресу та підвищення ферментативної захисної системи. Показано, що ефект екстракту *T. lucida* був майже таким же, як і в референт-препараті силімарину. Вчені вважають, що гепатопротекторну та антиоксидантну активність екстракту з листків чорнобривців золотистих забезпечує достатньо високий вміст у ньому поліфенолів і флавоноїдів (гесперидину, нарингіну).

Ali El-Newary S. et al. [194] також доказали потужну гепатопротекторну активність етанольного екстракту коренів *T. lucida* на моделі тетрахлорметанового гепатиту. Автори вважають, що гепатопротекторна

активність досліджуваного екстракту зумовлена його антиоксидантною дією, протизапальними властивостями, які, у свою чергу, обумовлені наявністю в екстракті поліфенолів, флавоноїдів, кумаринів та алкалоїдів.

Досліджено, що ефірна олії *T. lucida* має протизапальну дію, механізм якої полягає в інгібуванні вироблення як оксиду азоту, так і простагландину E2 [139].

У багатьох джерелах наукової літератури є повідомлення про біологічну активність *T. lucida* як антиагреганта тромбоцитів, нематодоцидного та антимікробного [137], антидепресивного [135, 136], анксиолітичного, седативного [278], антипсихотичного [196], протизапального [139] та антигіперглікемічного засобу, а також засобу, що поглинає вільні радикали [209].

Єгипетські вчені дослідили, що етанольний екстракт трави *T. lucida* викликав значне зниження рівня глюкози одночасно з помітним підвищенням концентрації інсуліну у щурів на експериментальній моделі цукрового діабету, індукованого стрептозотоцином. Екстракт показав гіпоглікемічні, гіполіпідемічні та гепатопротекторні властивості у щурів з діабетом завдяки здатності поглинати вільні радикали та інгібувати перекисне окиснення ліпідів. Екстракт *T. lucida* запобігав окислювальному стресу, викликаному стрептозотоцином, захищав β -клітини, що призводило до збільшення секреції інсуліну та зниження підвищеного рівня глюкози в крові. Гіпоглікемічну дію екстракту *T. lucida* вчені пов'язують з його антиоксидантними властивостями та наявністю в екстракті поліфенолів і флавоноїдів, особливо гесперидину, нарингеніну, розмаринової і ферулової кислот, кверцетину та рутину [209].

Останнім часом фармакологічні дослідження підтвердили антиспазмолітичний ефект [276] і антиноцицептивну [204] активність екстрактів чорнобривців золотистих, їх інсектицидну дію.

Антидепресантну дію водного екстракту *Tagetes lucida* встановили Guadarrama-Cruz G. et al. [135]. Науковцями було доведено, що при

пероральному введенні щурам метанольного, гексанового, дихлорметанового і водного екстрактів чорнобривців золотистих у дозах 10 і 50 мг/кг у тесті на примусове плавання, водний екстракт *T. lucida* виявляв найвираженішу антидепресивну дію, опосередковану серотонінергічною системою.

Мексиканські вчені дослідили, що водний екстракт надземних частин *T. lucida* проявляє спазмолітичну дію, опосередковану через антагонізм гістамінергічних і серотонінергічних рецепторів, а також блокування кальцієвих каналів. Це разом із зниженням перистальтики кишечника, яку викликав екстракт чорнобривців золотистих у мишей, підтверджує використання надземних частин *T. lucida* в традиційній мексиканській медицині для лікування кольок і діареї, спричинених шлунково-кишковими розладами. Дослідники вважають, що забезпечують спазмолітичний ефект екстракту *T. lucida*, умбеліферон і герніарин, – БАР, які містяться в рослині [276].

Estrada-Soto S. et al. [138] дослідили антигіпертензивну дію етанольного екстракту *T. lucida* і продемонстрували значний антигіпертензивний ефект завдяки релаксуючій дії, яка пов'язана з системою NO/cGMP та блокадою кальцієвих каналів. Вчені вважають, що даний ефект забезпечують такі БАР рослини як 5,6,7-триметоксикумарин і 6,7-диметоксикумарин.

Своїми лікувальними властивостями чорнобривці завдячують ефірним оліям, каротиноїдам, флавоноїдам, гідроксикоричним кислотам, вітамінам та полісахаридам, що містяться в них [136, 179].

Досліджено антимікробну активність різних екстрактів *Tagetes lucida* Cav. (*Asteraceae*) проти 11 штамів бактерій і 1 штаму дріжджів (*Candida albicans*). Науковцями було встановлено, що етилацетатний екстракт виявляв антибактеріальну активність проти *Shigella boydii*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea*. Гексановий екстракт виявляв активність лише проти *S. aureus*, *S. epidermidis* і *B. Subtilis*; хлороформний – був єдиний екстракт, який

пригнічував ріст *C. albicans*. Антимікробну активність забезпечувала сполука 5,7,40-триметоксифлавонон [140].

T. lucida також можна використовувати як натуральний інсектицид, оскільки він відлякує багато видів нематод і діє як ларвіцид для деяких комарів, таких як *Aedes aegypti* [277].

Vega-Avila E. et al. [160] продемонстрували, що корені *T. lucida* є цитотоксичними для ракоподібних через високий вміст у коренях кумаринів.

Цей вид також набуває все більшого економічного значення, його продають народні цілителі на мексиканських ринках і вирощують комерційно в Коста-Ріці як заміник пряної трави естрагону. *T. lucida* також вирощується в садах на Кубі як прикраса.

T. lucida – пряна трава, що містить ефірну олію з анісовим запахом; свіжі надземні частини рослини продаються в супермаркетах як заміник естрагону, *Artemisia dracuncululus* L. [155].

Висновок до розділу 1

Аналіз джерел літератури показав, що види родини *Caryophyllaceae* (гвоздикові) роду Мильнянка (*Saponaria* L.) і родини *Asteraceae* (айстрові) роду *Tagetes* L. – *Saponaria officinalis* L. і *Tagetes lucida* Cav – цінні лікарські рослини, що містять комплекс важливих біологічно активних речовин і здавна використовуються у традиційній медицині різних країн світу. Проте аналіз української та світової наукової літератури щодо досліджень хімічного складу і фармакологічних ефектів даних видів, показав, що вони досліджені недостатньо. Дані експериментальних фітохімічних і фармакологічних досліджень також свідчать про необхідність проведення подальшого поглибленого фармакогностичного і фармакологічного вивчення даних видів, оскільки їх сировинний потенціал наразі не використовується у достатній мірі у фармацевтичній і медичній практиці.

Мильнянка лікарська і чорнобривці золотисті в Україні є неофіційними. Вони мають достатню сировинну базу, оскільки можуть успішно культивуватися на території України. Достатніми є і сировинні запаси дикорослої мильнянки лікарської.

Отже, комплексне фармакогностичне вивчення мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих з метою створення на основі їх біологічно активних речовин нових лікарських засобів є актуальним. Одержані рослинні субстанції після комплексного дослідження можуть бути використані для розширення асортименту сечогінних лікарських препаратів.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Матеріалом для досліджень було обрано траву і підземні органи мильнянки лікарської (траву заготовляли у фазу масового цвітіння рослини (липень-серпень) на території Чернівецької області, підземні органи – після відмирання надземної частини – восени) і траву чорнобривців золотистих, яку заготовляли на дослідних ділянках відділу квітниково-декоративних рослин Національного ботанічного саду імені М. М. Гришка НАН України в м. Києві (траву заготовляли у фазу масового цвітіння рослини – серпень). Сировину сушили повітряно-тіньовим способом або в тепло-конвекційній сушарці за температури 40 °С; підземні органи перед сушінням промивали в проточній холодній воді.

З використанням реакцій ідентифікації та методів хроматографічного аналізу (ПХ, ТШХ, ВЕРХ, УВЕРХ-МС, ГХ/МС) визначено наявність основних груп БАР (первинних метаболітів – вуглеводів, аміно-, жирних та органічних кислот; вторинних метаболітів – флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, дубильних речовин, летких сполук, сапонінів) у досліджуваній сировині [28, 30, 31, 32, 81, 82, 114].

2.1 Виявлення біологічно активних речовин первинного синтезу

2.1.1 Полісахариди

Полісахариди виявляли у водній витяжці з досліджуваної сировини.

Наявність полісахаридів у досліджуваних зразках підтверджували такими реакціями:

- з 95 % етанолом Р: до 10 мл витяжки додавали 30 мл 95 % етанолу Р;
- з реактивом Фелінга після кислотного гідролізу [114].

Вміст моноцукрів, похідних моноцукрів та сахарози визначали методом ГХ/МС [38, 132, 168].

Ідентифікацію моноцукрів проводили шляхом порівняння часів утримування стандартних похідних моноцукрів із використанням бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Внутрішнім стандартом був обраний сорбітол. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання його розчину до досліджуваних проб [38, 131, 134, 167].

Масу моноцукрів, їх похідних та сахарози у мкг/г, розраховували за формулою 2.1:

$$X = \frac{S_x \times M_{\text{вн.ст.}} \times 1000}{S_{\text{вн.ст.}} \times m}, \quad (2.1)$$

де S_x – площа піку моноцукру;

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

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

m – наважка препарату.

Кількісний вміст полісахаридів у відсотках (X) у сировині досліджуваних видів визначали гравіметричним методом за ДФУ 2.0 (“Подорожника великого листя” [23, 31]) у перерахунку на абсолютно суху сировину за формулою 2.2:

$$X = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 500 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 25 \cdot (100 - W)}, \quad (2.2)$$

де m_2 – маса фільтра з осадом, г;

m_1 – маса фільтра, г;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

2.1.2 Органічні кислоти

Органічні кислоти визначали у водних витяжках досліджуваної сировини за методикою ДФУ 2.1 (монографія «Шипшини плоди N »).

Метод ТШХ. Використовуючи рухому фазу – 95 % етанол Р-хлороформ-концентрований розчин аміаку-вода очищена Р (70:40:20:2), фармакопейні стандартні зразки (ФСЗ) бурштинової, лимонної, ацетатної, винної, яблучної, саліцилової, щавлевої, бензойної кислот та хроматографічні пластинки «Sorbifol»-ПТСХ-А-УФ, виявляли органічні кислоти у сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих. Після хроматографування хроматограми висушували, обробляли 0,1 % розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолу у 95 % етанолі Р і нагрівали до появи рожевих плям на блакитному тлі у сушильній шафі [55, 111].

Кількісний вміст органічних кислот (X) визначали титриметричним методом [31, 55, 255] у перерахунку на яблучну кислоту в абсолютно сухій сировині за формулою 2.3:

$$X = \frac{V \times 0,0067 \times 250 \times 100 \times 100}{m \times 10 \times (100 - W)}, \quad (2.3)$$

де V - об'єм розчину натрію гідроксиду, який пішов на титрування;

0,0067 – кількість яблучної кислоти, що відповідає 1 мл натрію гідроксиду;

m – маса сировини;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Методом ВЕРХ на хроматографі Agilent Technologies 1200 визначено у сировині мильнянки лікарської якісний склад і кількісний вміст органічних кислот. Як рухому фазу використовували ацетонітрил (А) та 0,1 % розчин H_3PO_4 у воді (В) (1:99) [255].

Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили з використанням стандартних зразків дикарбонових сполук (винної, пірвіноградної, ізолімонної, лимонної, бурштинової, яблучної, щавлевої кислот).

Вміст органічних кислот (X) (мкг/г) визначали за формулою 2.4:

$$X = c \cdot V / m, \quad (2.4)$$

де c – концентрація сполуки, визначена хроматографічним методом, мкг/мл;

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини, з якої проводили екстракцію, г.

Визначення індивідуальних органічних кислот у чорнобривців золотистих траві проводили методом ГХ/МС.

Для ідентифікації компонентів використовували бібліотеку мас-спектрів NIST 05 і WILEY 2007 із загальним числом спектрів більше 470 000 в поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS і NIST.

Кількісне визначення проводили з використанням методу внутрішнього стандарту. Розрахунок вмісту компонентів здійснювали за формулою 2.5:

$$C=K_1 \cdot K_2 \cdot 1000, \quad (2.5)$$

де $K_1 = \Pi_1 / \Pi_2$ (Π_1 – площа піку досліджуваної речовини, Π_2 – площа піку стандарту).

$K_2 = 50/m$ (50 – маса внутрішнього стандарту (мкг), введеного в зразок, m – наважка зразка (міліграм)).

2.1.3 Аскорбінова кислота

Наявність аскорбінової кислоти підтверджували реакцією з розчином натрію 2,6-діхлорфеноліндофеноляту.

Кількісний вміст аскорбінової кислоти визначали спектрофотометричним методом за ДФУ 2.0 (спектрофотометр UV-1800 Shimadzu (Japan)) (рис. 2.1) [31].

Вміст аскорбінової кислоти у відсотках (X) обчислювали за формулою 2.6:

$$X = \frac{2,5 \times A_1 \times m_2}{A_2 \times m_1} \quad (2.6)$$

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 [31].

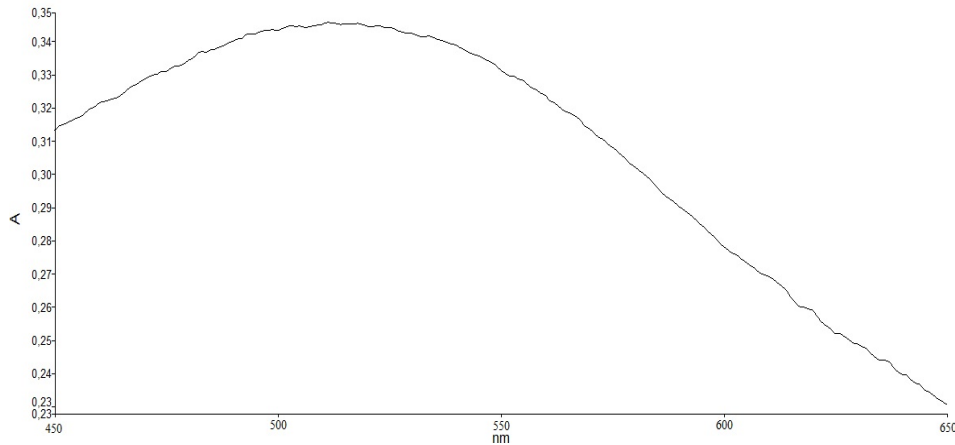


Рисунок 2.1 – Стандартний зразок аскорбінової кислоти

2.1.4 Жирні кислоти

Якісний склад і кількісний вміст жирних кислот мильнянки лікарської трави і підземних органів та чорнобривців золотистих трави визначали методом ГХ/МС метилових естерів жирних кислот (Agilent Technologies, США) [13, 53, 84, 85, 132, 166, 182, 183, 193, 225].

При визначенні жирних кислот у досліджуваній сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих як внутрішній стандарт використовували розчин нонадеканової кислоти.

Ідентифікацію метилових естерів жирних кислот проводили з використання бібліотеки мас-спектрів Національного інституту стандартів і технологій (NIST, 2008).

Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту (10 мкг/зразок) у досліджувані проби.

Вміст жирних кислот (X) у відсотках обчислювали за формулою 2.7:

$$X = \frac{S_X \times M_{\text{вн.ст.}} \times 1000}{S_{\text{вн.ст.}} \times m}, \quad (2.7)$$

де S_x – площа піку жирної кислоти;

$M_{вн.ст.}$ – маса внутрішнього стандарту на пробу, г;

$S_{вн.ст.}$ – площа піка внутрішнього стандарту, г;

m – наважка сировини, г [183].

2.1.5 Амінокислоти

Амінокислоти виявляли у водних витяжках.

Реакція ідентифікації: у пробірці змішували 2 мл досліджуваної витяжки і 4 мл 0,1 % розчину нінгідрину Р, обережно нагрівали [1, 2].

Дослідження амінокислотного складу мильнянки лікарської трави і коренів проводили методом ВЕРХ [107, 164, 165, 211, 280] з передколонковою дериватизацією 9-флуоренілметоксикарбонілхлоридом (ФМОС) та о-фталеvim альдегідом (ОРА) з наступною детекцією флуорисцентним детектором. Метод заснований на екстракції вільних амінокислот із рослинної сировини та їх кислотному гідролізі з наступним аналізом гідролізатів. Хроматографічне розділення проводили на хроматографі Agilent 1200 (Agilent Technologies, США).

Ідентифікацію амінокислот проводили шляхом порівняння часів утримання (RT) з сумішшю стандартів амінокислот (Agilent 5061-3334) Кількісний вміст амінокислоти розраховували за площею її хроматографічного піку (рис. 2.2).

Визначення амінокислотного складу чорнобривців золотистих трави проводили методом ГХ/МС [161, 162], використовуючи газову хромато-мас-спектрометричну систему Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA).

Ідентифікацію амінокислот проводили шляхом порівняння часів утримання стандартів амінокислот та за наявності репрезентативних молекулярних та фрагментарних іонів (табл. 2.1). Кількісний вміст визначали шляхом додавання внутрішнього стандарту – нор-валіну (75 мкг/зразок) [234, 283].

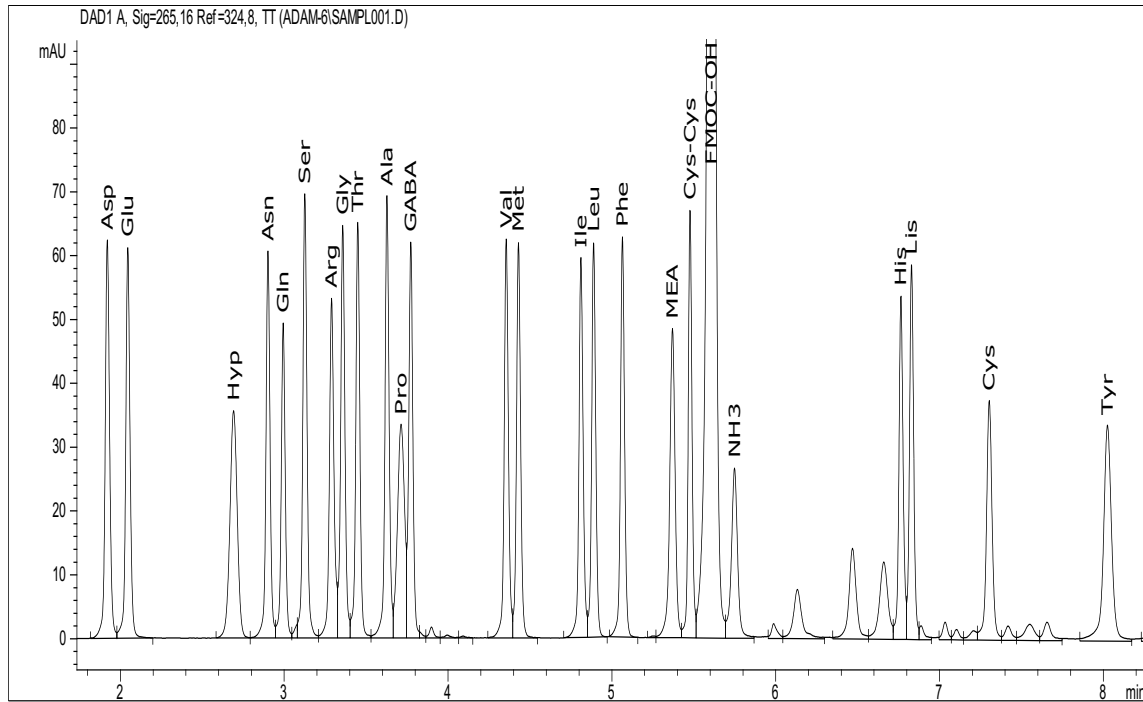


Рисунок 2.2 – Хроматограма стандартів амінокислот : Asp – аспарагінова кислота, Glu – глютамінова кислота, Hyp – 4-гідроксипролін, Asn – аспарагін, Gln – глютамін, Ser – серин, Arg – аргінін, Gly – гліцин, Thr – треонін, Ala – аланін, Pro – пролін, GABA – гамма-аміномасляна кислота, Val – валін, Met – метіонін, Ile – ізолейцин, Leu – лейцин, Phe – фенілаланін, Cys-cys – цистин, His – гістидин, Lis – лізин, Cys – цистеїн, Tyr – тирозин.

Таблиця 2.1 – Час утримання стандартів амінокислот, наявність репрезентативних молекулярних та фрагментарних іонів

Амінокислота	Час виходу, хв	Молекулярний іон (m/z)	Головні фрагментарні іони (m/z)
1	2	3	4
Гліцин	14,75	147	88
Аланін	14,75	161	102, 88
Валін	18,54	189	146, 130, 115, 98
Лейцин	20,75	203	144, 115, 102, 88
Ізолейцин	21,87	203	144, 115, 101, 88

Продовження таблиці 2.1

1	2	3	4
Треонін	21,28	205	147, 115, 100, 88
Пролін	21,97	187	128, 84
Аспарагін	22,09	262	146, 127, 95
Аспарагінова кислота	23,97	219	160, 128, 118, 101
Серин	21,04	191	176, 144, 114, 100, 88
Глутамін	31,9	276	141, 109, 82
Глутамінова кислота	26,88	233	201, 174, 142, 114
Метіонін	27,14	221	147, 128, 115
Цистеїн	29,18	192	192, 176, 158, 146, 132
Фенілаланін	29,73	237	178, 162, 146, 131, 103, 91
Лізин	35,93	276	244, 212, 142, 88
Гістидин	37,08	285	254, 226, 210, 194, 140, 81
Тирозин	38,91	296	252, 236, 220, 192, 165, 146, 121
Триптофан	42,09	276	130

Вміст зв'язаних амінокислот визначали шляхом віднімання від їх загального вмісту вміст вільних амінокислот

2.2 Біологічно активні речовини вторинного синтезу

2.2.1 Сума фенольних сполук

Визначення кількісного вмісту суми фенольних сполук у мильнянки лікарської трави і коренях та чорнобривців золотистих трави проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на кислоту галову на спектрофотометрі UV-1800 Shimadzu (Japan) [88, 121].

Вміст суми фенольних сполук (X) в перерахунку на кислоту галову та абсолютно суху сировину у відсотках обчислювали за формулою 2.8:

$$X = \frac{A \times m_0 \times 1 \times 30 \times 50 \times 100 \times 100}{A_0 \times m \times 50 \times 1 \times 100 \times (100 - W)}, \quad (2.8)$$

де A – оптична густина досліджуваного розчину;

m – маса сировини, г;

A_0 – оптична густина ФСЗДФУ галової кислоти;

m_0 – маса наважки ФСЗДФУ галової кислоти, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

2.2.2 Визначення флавоноїдів

В етанольно-водній витяжці сировини досліджуваних рослини виявляли наявність флавоноїдів та визначали їх кількісний вміст.

Реакції ідентифікації флавоноїдів:

1. Ціанідінова проба: до 1 мл очищеного екстракту додавали по 2-3 краплі хлористоводневої кислоти і щіпку порошку металічного магнію.
2. Реакція з лугом: до 1 мл екстракту додавали 1-2 краплі 10 % етанольно-водного розчину калій гідроксиду.
3. Реакція з ферум (III) хлоридом: до 1 мл екстракту додавали 1-2 краплі 10 % розчину ферум (III) хлориду.
4. Реакція з плюмбум ацетатом: до 1 мл екстракту додавали 3-5 крапель 10 % розчину плюмбум ацетату [114].

Ідентифікацію флавоноїдів проводили також методом ТШХ, використовуючи рухому фазу н-бутанол – ацетатна кислота – вода очищена Р (4:1:2). Для хроматографування використовували хроматографічні пластинки “Сорбфіл” (*Sorbfil peates* 10x15) та такі стандартні зразки флавоноїдів: рутин, апігенін,

кемпферол, кверцетин, лютеолін та гіперозид. Хроматограми висушували та розглядали при денному і УФ-світлі до та після обробки парами аміаку [77].

Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на рутин методикою ДФУ 2.1 (монографія «Софори бутони») [30].

Оптичну густину випробовуваного розчину вимірювали через 40 хв за довжини хвилі 415 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм.

Паралельно вимірювали оптичну густину розчину ФСЗ рутину, приготовленому аналогічно як досліджуваний розчин.

Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на рутин і абсолютно суху сировину, у відсотках, обчислювали за формулою 2.9:

$$X = \frac{A \times m_0 \times 30 \times 100 \times 100}{A_0 \times m \times (100 - W) \times 100}, \quad (2.9)$$

де A – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина ФСЗ рутину;

m – маса наважки сировини, г;

m_0 – маса наважки ФСЗ рутину, г;

W – втрати в масі при висушуванні сировини, %.

2.2.3 Визначення гідроксикоричних кислот

Гідроксикоричні кислоти виявляли в етанольно-водній витяжці мильнянки лікарської трави і коренів та чорнобривців золотистих трави.

Реакція з ферум (III) хлоридом: до 1 мл екстракту додавали 2 краплі 1 % розчину ферум (III) хлориду [15].

Для виявлення гідроксикоричних кислот також використовували метод ТШХ (хроматографічні пластинки “Сорбфіл” (*Sorbfil peates* 10x15), ФСЗ хлорогенової, неохлорогенової, кофейної, ферулової, розмаринової, *p*-

кумарової та хінної кислот; рухома фаза – н-бутанол – ацетатна кислота – вода очищена Р (4:1:2) [72]. Хроматограми висушували у витяжній шафі і розглядали при денному та УФ-світлі до і після обробки парами аміаку або 3 % розчином ферум (III) хлориду.

Кількісне визначення гідроксикоричних кислот у траві ґрунтується на спектофотометричному методі. Використовували методу ДФУ 2.0 (монографія «Кропиви листя») [27, 74, 124]. Оптичну густину розчину вимірювали на спектрофотометрі UV-1800 Shimadzu (Japan) за довжини хвилі 327 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Розчином порівняння був 20 % етанол Р.

Вміст гідроксикоричних кислот у перерахунку на абсолютно суху сировину у відсотках (X) обчислювали за формулою 2.10:

$$X = \frac{A \times 250 \times 50 \times 100}{E_{1\text{cm}}^{1\%} \times m \times 1 \times (100 - W)}, \quad (2.10)$$

де A – оптична густина досліджуваного розчину;

250 – об'єм розчину, мл;

m – маса сировини, г;

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

W – втрата в масі при висушуванні, %.

2.2.4 Визначення сполук фенольної природи методом ВЕРХ

Якісний склад і кількісний вміст індивідуальних сполук фенольної природи (флавоноїдів і гідроксикоричних кислот) у досліджуваній сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих визначали методом ВЕРХ [71, 170, 199-201, 243] на хроматографі “Agilent 1200” (“Agilent Technologies”, США).

Флавоноїди. Екстрагували 0,2–0,6 г сировини кожної проби в 10 мл 70 % етанолу на ультразвуковій бані за температури 80 °С впродовж 5 год у скляних

герметичних віалах із тефлоновою кришкою. Одержаний екстракт центрифугували при 3000 об./хв та фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм. Як рухому фазу використовували ацетонітрил (А) та 0,1 % розчин мурашиної кислоти у воді (В). Елюювали в градієнтному режимі: 0 хв – А (30 %) : В (70 %); 20 хв – А (70 %) : В (30 %); 22 хв – А (100 %) : В (0 %); 30 хв – А (100 %) : В (0 %). Розділення здійснювали на хроматографічній колонці Zorbax SB-C18 (3,5 мкм, 150×4,6 мм) (“Agilent Technologies”, США), швидкість потоку через колонку – 0,25 мл/хв, температура термостата – 30 °С, об’єм інжекції – 4 мкл. Детекцію проводили з використанням діодноматричного детектора з реєстрацією сигналу при 280 і 365 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210–700 нм [207, 254].

Ідентифікацію та кількісний аналіз здійснювали із застосуванням стандартних розчинів флавоноїдів (рутину, ізокверцитрину, нарингіну, неогесперидину, кверцетину, нарингеніну, кемпферолу, лютеоліну, апігеніну).

Кількість флавоноїдів (X) (мкг/г) визначали за формулою 2.11:

$$X = C \times V / m, \quad (2.11)$$

де C – концентрація сполуки, визначена хроматографічним методом, мкг/мл;

V – об’єм екстракту, мл;

m – маса сировини, г.

Гідроксикоричні кислоти. 0,1-1,0 г сировини кожної проби екстрагувалася 5-10 мл 60 % розчину метанолу на ультразвуковій бані при 80 °С впродовж 4 год у скляних герметичних віалах із тефлоновою кришкою. Одержаний екстракт центрифугували при 3 тис об/хв та фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм.

Як рухому фазу використовували метанол (А) та 0,1 % розчин мурашиної кислоти у воді Р (В). Елюювали в градієнтному режимі: 0 хв – А (25 %) : В (75 %); 25 хв – А (75 %) : В (25 %); 27 хв – А (100 %) : В (0 %); 35 хв – А (100 %) : В

(0 %). Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 250 нм та 275 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм.

Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-C18 (3,5 мкм, 150 x 4,6 мм) (Agilent Technologies, USA) [39, 203].

Використовували стандартні розчини фенольних сполук (галової, гідроксифенілацетатної, хлорогенової, кофєїної, сирінгової, *p*-кумарової, транс-ферулової, синапової, транс-цинамової та хінної кислот.

Кількісний вміст індивідуальних кислот (X) (мкг/г) визначали за формулою 2.12:

$$X = \frac{C \times V}{m}, \quad (2.12)$$

де C – концентрація сполуки, визначена хроматографічним методом, мкг/мл;

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини, г.

Компоненти дубильних речовин. Наважку сировини кожної проби 0,2-0,6 г екстрагували 10 мл 70 % розчину етанолу на ультразвуковій бані за температури 80 °C впродовж 5 год у скляних герметичних віалах із тефлоновою кришкою. Отриманий екстракт центрифугували при 3000 об/хв та фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм.

Хроматографування здійснювали на хроматографі Agilent Technologies 1200. Використовували рухому фалу – метанол (A) та 0,1 % розчин мурашиної кислоти в воді очищеній (B). Елюювання проводили в градієнтному режимі: 0 хв – A (20 %) : B (80 %); 25 хв – A (75 %) : B (25 %); 27 хв – A (100 %) : B (0 %); 35 хв – A (100 %) : B (0 %). Розділяли на хроматографічній колонці Zorbax SB-C18 (3,5 мкм, 150 x 4,6 мм) (Agilent Technologies, USA), швидкість потоку через колонку 0,25 мл/хв, температура термостата – 35 °C, об'єм інжекції – 4 мкл. Детекцію проводили з використанням діодно-матричного

детектора з реєстрацією сигналу при 250 нм і 275 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм [51, 206, 247, 271].

Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили з використанням стандартних зразків катехінів (пірокатехіну, катехіну, епікатехіну, епікатехінгалату та галокатехіну).

Кількісний вміст катехінів (X) у мкг/г визначали за формулою 2.13:

$$X = c \cdot V / m, \quad (2.13)$$

де c – концентрація сполуки, визначена хроматографічним методом, мкг/мл;

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини, з якої проводили екстракцію, г [40, 133, 226].

2.2.5 Визначення летких сполук

Наважку рослинної сировини (0,2-1,5 г) поміщали до віали об'ємом 20 мл, з додаванням внутрішнього стандарту – тридекану – із розрахунку 10 мкг на наважку з наступним розрахунком одержаної концентрації внутрішнього стандарту для проведення подальших розрахунків. До віали додавали 10 мл води очищеної Р та відганяли леткі сполуки з водяною парою протягом 2 год. Після перегонки леткі речовини, адсорбовані на внутрішній поверхні зворотного холодильника, змивали, повільно додаючи 3 мл особливо чистого пентану, в суху віалу ємністю 10 мл. Змив концентрували у потоці (100 мл/хв) чистого нітрогену до залишкового об'єму екстракту 100 мкл, який повністю відбирали хроматографічним шприцом.

Встановлення якісного складу та кількісного вмісту летких сполук проводили методом газової хроматографії на хроматографі Agilent Technologies 6890 з мас-спектрометричним детектором та капілярною колонкою HP-5ms (внутрішній діаметр – 0,25 мм, довжина – 30 м).

Для ідентифікації компонентів отримані спектри розглядали на основі загальних закономірностей фрагментації молекул органічних сполук під дією

електронного удару, а також шляхом порівняння отриманих результатів з даними бібліотек мас-спектрів NIST02 із загальною кількістю спектрів більш 470000 у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS и NIST 02.

Кількісний вміст (X , мкг/г) визначали з використанням методу внутрішніх стандартів за формулою 2.14:

$$X = \frac{P_1 \times 20}{P_2 \times m} \quad (2.14)$$

де P_1 – площа піка речовини, що вивчалася;

20 – маса внутрішнього стандарту, що вводився в зразок, мкг;

P_2 – площа піка стандарту;

m – наважка сировини, г [73, 103, 110].

2.2.6 Дослідження сапонінів

Пробопідготовка. А. Метод ультрависокоєфективної рідинної хроматографії-мас-спектрометрії (УВЕРХ-МС). Рослинний матеріал (корені та надземні частини) подрібнювали на млинку Retsch ZM200 до розмірів 0,5 мм. Порошкоподібну сировину (приблизно 50 мг) екстрагували 2,5 мл 80 % MeOH (об./об.) за допомогою ультразвукової ванни (Polsonic) протягом 25 хв за температури 5 °С у центрифужній пробірці Eppendorf на 5 мл. Частину отриманого розчину центрифугували (Sigma 3-16 KL) і використовували безпосередньо або розводили в 10 разів для хроматографічного аналізу УВЕРХ-МС та аналізували в 5 технічних повторностях ($n=5$). Хроматографічний аналіз проводили в одній технічній повторності.

В. Гравіметричний метод Приблизно 15 г порошкоподібного рослинного матеріалу екстрагували на водяній бані зі зворотним холодильником, використовуючи 375 мл киплячої води, протягом 5 хв у круглодонній колбі. Після охолодження, центрифугування та фільтрування розчин підкислювали мурашиною кислотою до рН 3,0 (0,2 %, об./об.). Потім додавали ацетонітрил,

щоб отримати 1 % (об./об.) розчин, і кожен екстракт завантажували окремо в колонку 160×44 мм, наповнену наповнювачем Cosmosil 75C18-PREP із зворотною фазою (75 мкм). Потім його елюювали ступінчастим градієнтом підкисленим водно-ацетонітрильним розчином (0,1 % мурашиної кислоти, об'єм/об'єм) – 1 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 % ацетонітрилом і, в кінці, 100 % MeOH. Елюат контролювали за допомогою UHPLC-UV-MS і фракції, що містять сапоніни, об'єднували. Згодом органічний розчинник видаляли у вакуумі, а об'єднані фракції сушили методом сублімації (Christ Gamma 2-16 LSC). Гравіметричний аналіз проводили в одній технічній повторності [259].

А. Метод UHPLC-PDA-MS проводили на системі Waters ACQUITY UPLC (Waters Corp., Milford, MA, USA), що складається з бінарної насосної системи, менеджера зразків, диспетчера колонок і детектора PDA (Waters Corp., Milford, MA, USA). Експеримент виконано за допомогою програмного забезпечення Waters MassLynx v. 4.1, а обробку даних – за допомогою Waters QuanLynx v. 4.1. Зразки хроматографували на колонці BEH C18 (100 мм × 2,1 мм внутрішній діаметр, 1,7 мкм, Waters Corp., Milford, MA, USA), яку підтримували за температури 50 °С. Швидкість потоку доводили до 500 мкл/хв. Застосовували наступну систему розчинників: рухома фаза А (0,1 % розчин мурашиної кислоти у воді Milli-Q, об./об.) і рухома фаза В (0,1 % розчин мурашиної кислоти в MeCN, об./об.). Програма градієнта була наступною: 0–25,9 хв, 5 %–60 % В; 25,9–26,0 хв, 60–99 % В; 26,0–28,0 хв, 99 % В; 28,0–28,1 хв, 99–5 % В; 28,1–30,0 хв, 5 % В. Зразки термостатували за температури 8 °С у диспетчері зразків. Об'єм впорскуваного зразка становив 3,0 мкл (часткова петля з режимом переповнення голки). Використовували розчин для промивання голки (1:1:1, MeOH-MeCN-iPrOH, об./об./об.) і слабкий розчин для промивання голки (5:95, MeCN-H₂O, об./об.). Дані PDA були отримані в діапазо ні 190–480 нм.

МС-аналіз проводили на мас-спектрометрі TQD (Waters Corp., Milford, MA, USA), обладнаному інтерфейсом електророзпилення Z-spray. Для ESI-MS

аналізу сполук (режим негативної іонізації) використовували наступні інструментальні параметри: капілярна напруга – 2,8 кВ; напруга конуса – 60 V; газ десольватації, N₂ 900 л год⁻¹; конусний газ, N₂ 100 л год⁻¹; температура джерела – 150 °С, температура десольватації – 450 °С. Сполуки аналізували в режимі повного сканування (m/z 120-2000). ГерніаріасAPONIN 6 (HS6) і герніаріасAPONIN 10 (HS10) використовувалися як групові стандарти для визначення сапонінів. Останній використовувався лише для визначення сапонінів, що містять глюкуронову кислоту в С-3 положенні. Ці сполуки були отримані з іншої рослини родини *Caryophyllaceae*, *Herniaria glabra* L., і були обрані через їх структурну подібність до сапонінів *Saponaria* [176].

Калібрувальні криві були побудовані з 5 точок у діапазоні 0,8501-85,01 мкМ (HS6) і 0,7482-74,82 мкМ (HS10). Калібрувальні криві (log-log) були виражені як $y = - 6,27 \cdot 10^{-2} x^2 + 1,21 x + 11,12$ і $y = - 11,81 \cdot 10^{-2} x^2 + 1,42 x + 10,80$ для HS6 і HS10 відповідно. Коефіцієнти кореляції для цих кривих становили R² = 0,9987 і R² = 0,9978 відповідно.

2.2.7 Визначення показників якості сировини мильнянки лікарської та чорнобривців золотистих

Для встановлення параметрів стандартизації серій сировини мильнянки лікарської та чорнобривців золотистих, відповідно до вимог ДФУ, визначили втрату в масі при висушуванні, вміст золи загальної та золи, нерозчинної у 10 % розчині хлористоводневої кислоти, вміст екстрактивних речовин [32, 104, 114].

Визначення *втрати в масі при висушуванні* проводили гравіметричним методом за методикою ДФУ 2.0, Т.1, загальна стаття 2.2.32 «Втрата в масі при висушуванні» [32].

Визначення *вмісту загальної золи* здійснювали гравіметричним методом за методикою, наведеною в ДФУ 2.0, Т. 1, загальна стаття 2.4.16 «Загальна зола», *вмісту золи, нерозчинної в хлористоводневій кислоті*, – за методикою

ДФУ 2.0, Т. 1, загальна стаття 2.8.1 «Зола, не розчинна в хлористоводневій кислоті», вміст екстрактивних речовини – за методикою, наведеною у ДФУ 2.1 (монографія «Полин гіркий») [32].

2.3 Вивчення елементного складу сировини досліджуваних рослин

Вміст макро- і мікроелементів визначали методом ААС. Лікарську рослину сировину подрібнювали, висушували до сухого стану, рослинні об'єкти озолювали парами нітратної кислоти з наступним розчиненням золи у хлористоводневій кислоті. Досліди виконували на атомно-абсорбційному спектрофотометрі марки С-115-М1, виготовленому ПО “Електрон”. Вміст елементів К і Na вимірювали в емісійному режимі. Для кожного із елементів будували свій калібрувальний графік в межах лінійної залежності $D \rightarrow C$ [47].

2.4 Макро- і мікроскопічний методи дослідження мильнянки лікарської трави

Морфологічну будову сировини мильнянки лікарської вивчали, використовуючи лупу та бінокулярний мікроскоп. Вивчення анатомічних ознак здійснювали відповідно до вимог монографії Державної Фармакопеї України «2.8.23. Мікроскопічне дослідження лікарської рослинної сировини» [32]. Використовували свіжу і висушену сировину. Для анатомічного вивчення виготовляли тимчасові мікропрепарати поверхневих препаратів листка, стебла, чашолистиків і пелюсток мильнянки лікарської.

Дослідження проводили використовуючи світловий мікроскоп «БІОЛАМ ЛОМО» при збільшенні у 80, 120, 160, 400, 600 та 800 разів. Отримані дані фіксували цифровою фотокамерою «OLYMPUS SH – 21». Фотографії обробляли за допомогою комп'ютерної програми «Adobe Photoshop CS3».

2.5 Фармакологічні дослідження

2.5.1 Дослідження гострої токсичності екстрактів з трави і з коренів мильнянки лікарської і з трави чорнобривців золотистих при внутрішньошлунковому введенні білим мишам

Дослідження проводили на 168 білих нелінійних самцях та самицях мишей масою 20-25 г віварію Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова. Тварин було розділено на групи по 6 особин у кожній (3 самці та 3 самиці), яким внутрішньошлунково вводили екстракти з досліджуваної сировини у діапазоні доз 2000, 3000, 4000 та 5000 мг/кг. Екстракти розчиняли у воді для ін'єкцій, вводили одноразово внутрішньошлунково. Контрольна група мишей отримувала еквів'ємні кількості води очищеної.

Під час експериментів тварин утримували на звичайному раціоні з вільним доступом до води та їжі.

Протягом усього дослідження проводили спостереження за виживанням тварин, споживанням їжі та води, а також за клінічними проявами інтоксикації (у разі їх виникнення): за загальним станом, змінами положення тіла, станом шкіри, кольором слизових оболонок та окремими симптомами (міоз, слезоточивість, діарея, зміни кольору сечі та фекалій, сонливість, судоми та ін.). Спостерігали також за станом ЦНС.

Для розрахунку середньої летальної дози (LD_{50}) через 14 днів визначали відсоток летальності в кожній групі відповідно до методу пробіт-аналізу кривих летальностей за В. Б. Прозоровським [105, 127].

Дослідження безпечності екстрактів виконано з дотриманням принципів Директиви 2010/63/EU Європейського Парламенту і Ради ЄС "Про захист тварин, що використовуються з науковою метою" (Брюссель, 2010), Закону України "Про захист тварин від жорстокого поводження" № 3477-IV від 21.02.2006 р. зі змінами та Наказу МОНмолодьспорту України "Про

затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах" № 249 від 01.03.2012 р.

Комісією з біоетики Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова та комісією з біоетики Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України порушень етичних норм не виявлено (протокол № 8 від 19.12.2022 р. і протокол № 72 від 06.01.2023 р.).

2.5.2 Дослідження діуретичної дії екстрактів мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих за умов водного навантаження в умовно здорових щурів

Вивчення впливу досліджуваних екстрактів на функцію нирок проводили на білих нелінійних щурах масою 200-220 г за методом Є. Б. Берхіна [8]. До початку експерименту тварини знаходились на стандартному режимі харчування, доступ до води не обмежували [34]. За добу перед дослідженням тварин переносили до експериментальної лабораторії для адаптації. За 12 годин до введення екстрактів тварини були позбавлені їжі без обмеження до води.

Досліджувані екстракти вводили внутрішньошлунково в дозі 50 мг/кг (що приблизно відповідає 1/100 від ЛД₅₀), контрольні тварини отримували еквіоб'ємні кількості розчинника. Через 30 хв щурам вводили водогінну воду з розрахунку 3 мл на 100 г маси тіла тварини. Після введення субстанцій та водного навантаження щурів поміщали в індивідуальні клітки, пристосовані для збору сечі. Кількість сечі реєстрували погодинно протягом 6 год. У кожній групі було використано 7 щурів (усього 78 щурів). Препаратом порівняння обрано гіпотіазид у дозі 25,0 мг/кг (активна речовина гідрохлоротіазид; таблетки 25 мг блістер № 20, виробник "CHINOIN" Pharmaceutical and Chemical Works Co.Ltd., Угорщина) [79, 173].

2.5.3 Дослідження біохімічних показників роботи гломерулярного та тубулярного апарату нирок умовно здорових щурів на тлі одноразового введення найактивніших екстрактів мильнянки лікарської

Дослідження виконано в науково-дослідній клініко-діагностичній лабораторії ВНМУ ім. М. І. Пирогова, сертифікованої МОЗ України (свідоцтво про переатестацію № 049/15 від 02 березня 2015 р.).

Приготування матеріалу для досліджень.

ЕДТА-плазму отримували шляхом центрифугуванням крові при 1500 об/хв протягом 20 хв. Аліквоти плазми крові відбирали в мікропробірки Eppendorf і до проведення аналізу зберігали при -20°C .

Для отримання сечі щурам проводили водне навантаження із розрахунку 3 мл питної води на 100 г маси тварини, а потім розміщали в спеціальних клітках, збирали сечу упродовж 6 год, а потім її відфільтровували.

Досліджувані біохімічні показники:

1. Хвилинний діурез
2. Вміст креатиніну в плазмі крові та сечі
3. Швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ)
4. Коефіцієнт реабсорбції води в нирках (КРВ)
5. Екскреція йонів натрію з сечею (Na^+)
6. Екскреція йонів калію з сечею (K^+)
7. Екскреція білка з сечею (ЕБ)

Вміст креатиніну в сироватці крові та сечі визначали за методом Яффе з використанням стандартних наборів фірми Філісіт-Діагностика, Україна. Кліренс креатиніну та коефіцієнт реабсорбції води розраховували за відомими формулами [63].

Екскрецію йонів натрію та калію з сечею визначали спектрофотометричним методом за стандартним набором фірми Філісіт-Діагностика, Україна.

Вміст білка визначали мікробіуретовим методом з реактивом Бенедикта [61].

2.6 Дослідження антиоксидантної активності сухого екстракту з трави чорнобривців золотистих *in vitro*

Антиоксидантну активність вивчали методом антирадикальної активності, в основі якої лежить інгібування вільного радикала DPPH • (2,2-дифеніл-1-пікрилгідразил) [157].

Для дослідження було обрано водно-етанольні екстракти. 1 мкл досліджуваних екстрактів з діапазоном концентрацій (100 мкг/мл, 200 мкг/мл, 400 мкг/мл, 800 мкг/мл, 1000 мкг/мл) змішували з 2 мл 0,04 мкг/мл DPPH в етанолі. Отримані суміші енергійно струшували і залишали на 30 хв при 25 °С у темряві. Потім їх центрифугували при 1500 об/хв протягом 10 хв, після чого вимірювали поглинання супернатантів за довжини хвилі 517 нм на спектрофотометрі Shimadzu 1800-UV (Японія). Як препарат порівняння використовували стандартний зразок аскорбінової кислоти. Здатність поглинання вільного радикала DPPH • розраховували за такою формулою 2.15:

$$\% \text{ DPPH радикальна активність} = \frac{1 - (A1 - A2)}{A0} \times 100 \quad (2.15)$$

де A0 – поглинання контрольного зразка (без екстрактів);

A1 – поглинання зразка з екстрактами;

A2 – поглинання без радикала DPPH.

Антиоксидантну активність рослинних екстрактів виражали як IC50, який визначався як концентрація в мкг сухого матеріалу на мл (мкг/мл), що пригнічує утворення вільного радикала DPPH на 50 %.

2.7 Статистична обробка результатів досліджень

Статистичну обробку результатів досліджень проводили відповідно до вимог ДФУ 2.0 монографії 5.3 «Статистичний аналіз результатів біологічних

випробувань та тестів», 5.3.N.1 «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту^N»; а також за допомогою програм програм Excel-7.0 та «STATISTICA®v.13» (ліцензія №JPZ804I382130ARCN10-J).

Для оцінки статистичної значущості міжгрупових відмінностей використовували параметричний t-критерій Ст'юдента у випадку нормального розподілу та непараметричний U-критерій Манна-Уїтні за його відсутності. Відмінності між контрольними та дослідними групами вважали статистично достовірними при $p < 0,05$ [29].

РОЗДІЛ 3

СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЛІКАРСЬКОЇ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ МИЛЬНЯЯНКИ ЛІКАРСЬКОЇ ТА ЧОРНОБРИВЦІВ ЗОЛОТИСТИХ

Згідно з даними джерел літератури, мильнянка лікарська та чорнобривці золотисті здавна використовуються у традиційній медицині багатьох країн світу та проявляють різноманітну фармакологічну активність [86, 150, 175, 195, 236, 251, 265, 279, 2832, 287].

Враховуючи те, що природні ресурси та потенціал БАР досліджуваних нами видів сировини в науковій фармації і медицині використовуються недостатньо, комплексне фармакогностичне та фармакологічне вивчення досліджуваних об'єктів є актуальним.

Ми провели визначення якісного складу БАР мильнянки лікарської трави та коренів і чорнобривців золотистих трави, а також встановили кількісний вміст основних БАР: органічних кислот, в тому числі аскорбінової, вуглеводів, ліпофільних речовин, летких сполук, сапонінів, речовин фенольного характеру (гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, поліфенолів), амінокислот. Нами визначено вміст макро- і мікроелементів у досліджуваній сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих. Встановлено основні показники якості сировини – втрату в масі при висушуванні, вміст загальної золи, вміст золи, нерозчинної в 10 % розчині кислоти хлористоводневої.

3.1 Речовини первинного синтезу

3.1.1 Визначення амінокислот

Важливими БАР первинного синтезу є амінокислоти, які мають різну біологічну активність, а також є нутрієнтами [25, 50, 52, 120, 163, 164, 165, 280].

Визначення якісного складу і кількісного вмісту індивідуальних вільних і зв'язаних амінокислот проводили на газовій хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA).

Результати досліджень показали, що у чорнобривців траві ідентифіковано 11 зв'язаних амінокислот (рис. 3.1) і 5 вільних (рис. 3.2) (табл. 3.1) [162].

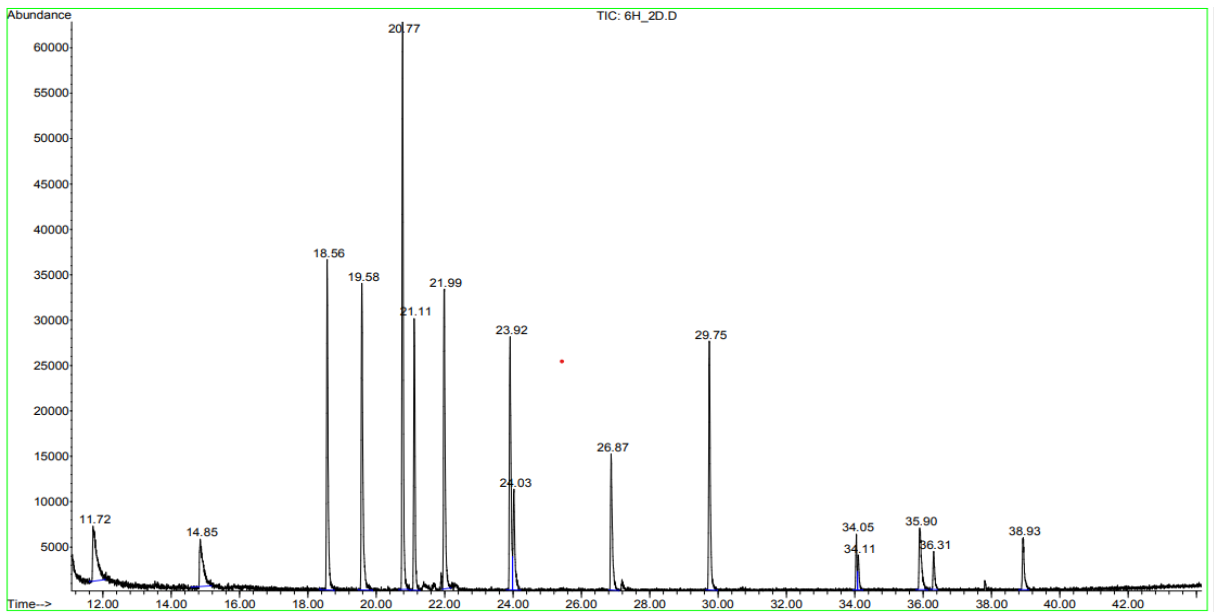


Рисунок 3.1 – Хроматограма (ГХ/МС) зв'язаних амінокислот у чорнобривців золотистих траві

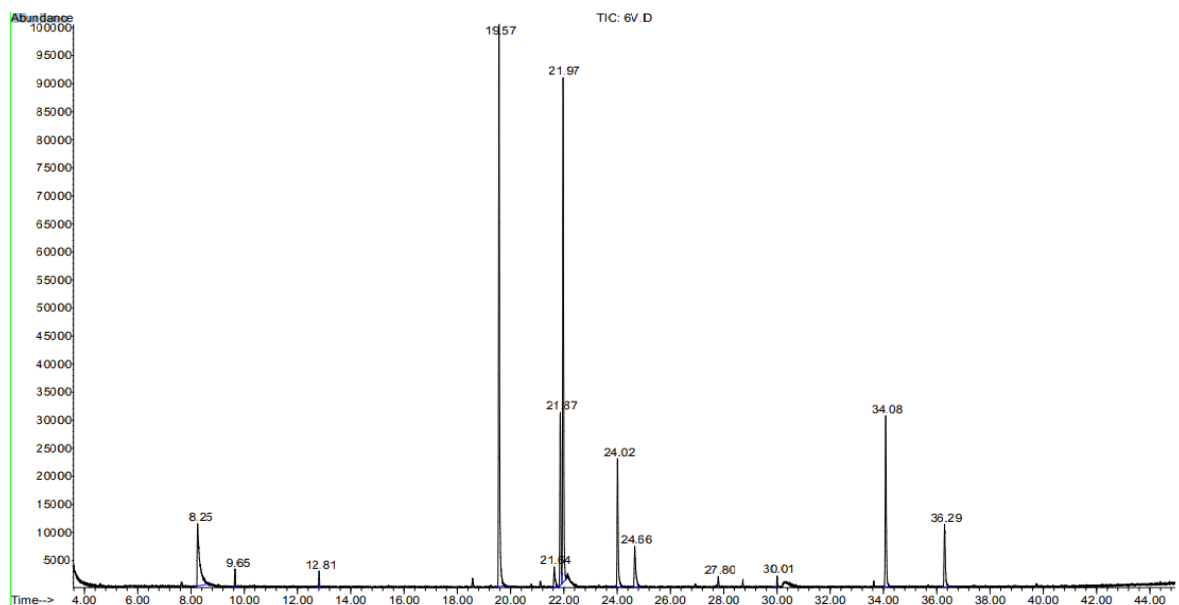


Рисунок 3.2 – Хроматограма (ГХ/МС) вільних амінокислот у чорнобривців золотистих траві

Таблиця 3.1 – Амінокислотний склад чорнобривців золотистих трави

Амінокислоти	Вміст амінокислот, мкг/мг		
	сума	вільні	зв'язані
Гліцин	0,66 ± 0,02	н/в	0,66 ± 0,02
L-аланін	н/в	н/в	н/в
L-валін*	1,94 ± 0,03	н/в	1,94 ± 0,03
Норвалін	Внутрішній стандарт		
L-лейцин*	2,99 ± 0,04	н/в	2,99 ± 0,04
L-серин	1,49 ± 0,02	н/в	1,49 ± 0,02
L-треонін*	н/в	н/в	н/в
L-ізолейцин*	0,47 ± 0,02	0,25 ± 0,02	0,22 ± 0,01
L-пролін	25,26 ± 0,04	6,44 ± 0,04	18,82 ± 0,07
L-аспарагін	н/в	н/в	н/в
L-аспарагінова кислота	3,40 ± 0,02	0,83 ± 0,03	2,57 ± 0,02
L-глутамінова кислота	0,95 ± 0,01	н/в	0,95 ± 0,01
L-метіонін*	н/в	н/в	н/в
L-цистеїн	н/в	н/в	н/в
L-фенілаланін*	1,58 ± 0,02	0,10 ± 0,03	1,48 ± 0,02
L-глутамін	н/в	н/в	н/в
L-лізин*	2,40 ± 0,04	1,02 ± 0,02	1,38 ± 0,02
L-гістидин	н/в	н/в	н/в
L-тирозин	0,40 ± 0,01	н/в	0,40 ± 0,01
L-триптофан	н/в	н/в	н/в
Примітка. * – незамінні амінокислоти; н/в – не виявлено.			

Аналіз вмісту амінокислот у чорнобривців золотистих трави показав, що сировина містить значну кількість проліну. Вміст вільного L-проліну становив 6,44 мкг/мг, зв'язаного – 18,82 мкг/мг. Пролін є осмотично активною захисною сполукою на засолення, що викликає осмотичний стрес у багатьох видів рослин [33, 145]. Дана амінокислота сприяє стабілізації субклітинних структур

(наприклад, мембран та білків), нейтралізації вільних радикалів та буферизації окисно-відновного потенціалу клітин в умовах стресу [270]. Також у *Tagetes lucida* з вільних амінокислот виявлено L-лізин (1,02 мкг/мг), L-аспарагінову кислоту (0,83 мкг/мг), L-ізолейцин (0,25 мкг/мг), L-фенілаланін (0,10 мкг/мг).

Окрім L-проліну, у чорнобривців золотистих траві зі зв'язаних амінокислот у значних кількостях виявлено L-лейцин (2,99 мкг/мг), L-аспарагінову кислоту (2,57 мкг/мг), L-валін (1,94 мкг/мг).

Не виявлено у досліджуваній сировині L-аланіну, L-треоніну, L-аспарагіну, L-метіоніну, L-цистеїну, L-глутаміну, L-гістидину, L-триптофану.

Дослідження амінокислотного складу мильнянки лікарської трави і коренів проводили методом ВЕРХ, який заснований на екстракції вільних амінокислот із рослинної сировини та їх кислотному гідролізі з наступним аналізом гідролізатів. Хроматографічне розділення проводили на хроматографі Agilent 1200 (Agilent Technologies, США).

Результати досліджень показали, що мильнянки лікарської трава і корені містять по 16 вільних і зв'язаних амінокислот (рис. 3.3-3.6; табл. 3.2)

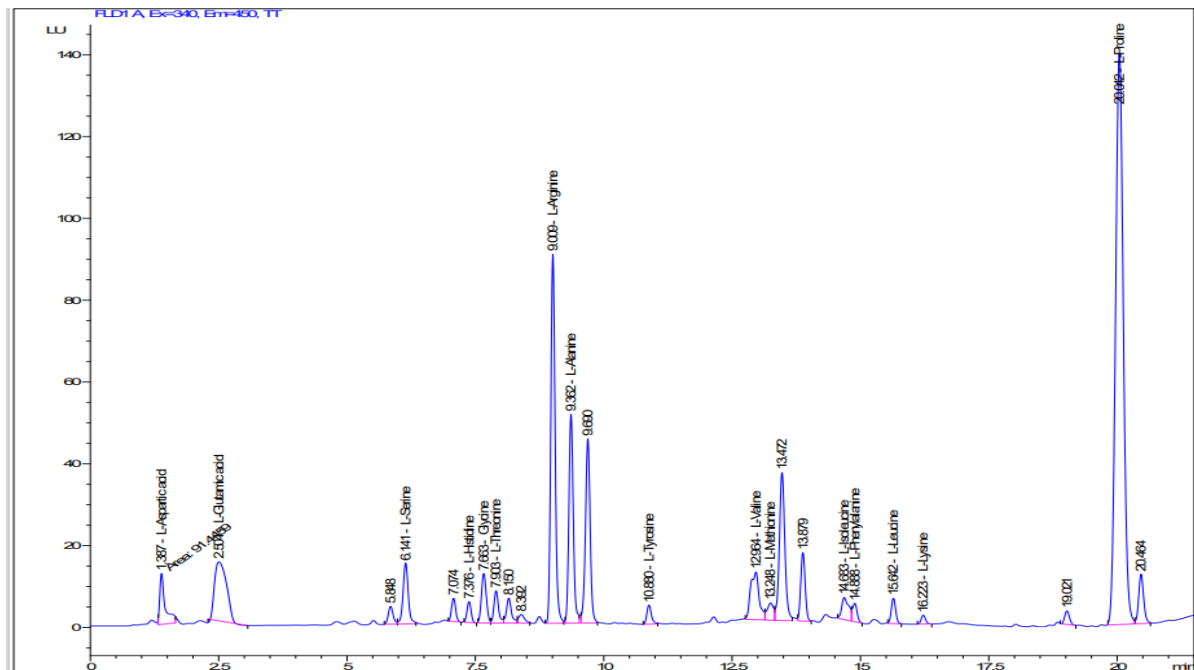


Рисунок 3.3 – Хроматограма (ВЕРХ) вільних амінокислот мильнянки лікарської коренів

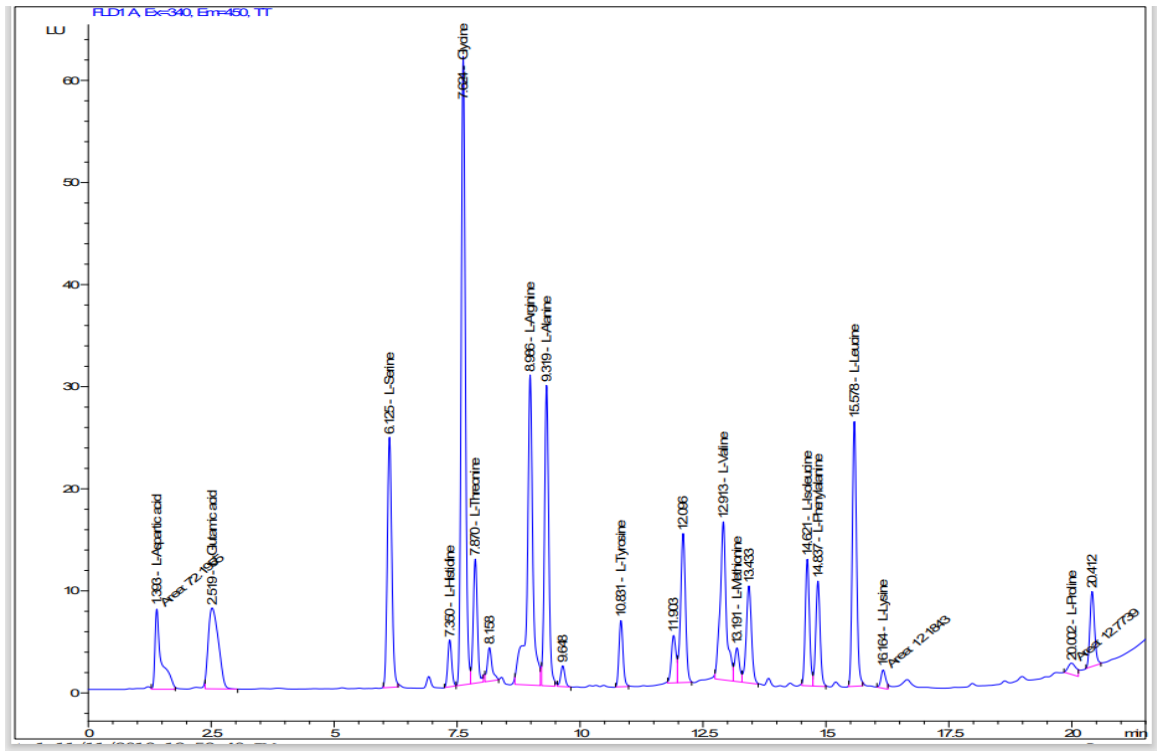


Рисунок 3.4 – Хроматограма (ВЕРХ) зв'язаних амінокислот мильнянки лікарської коренів

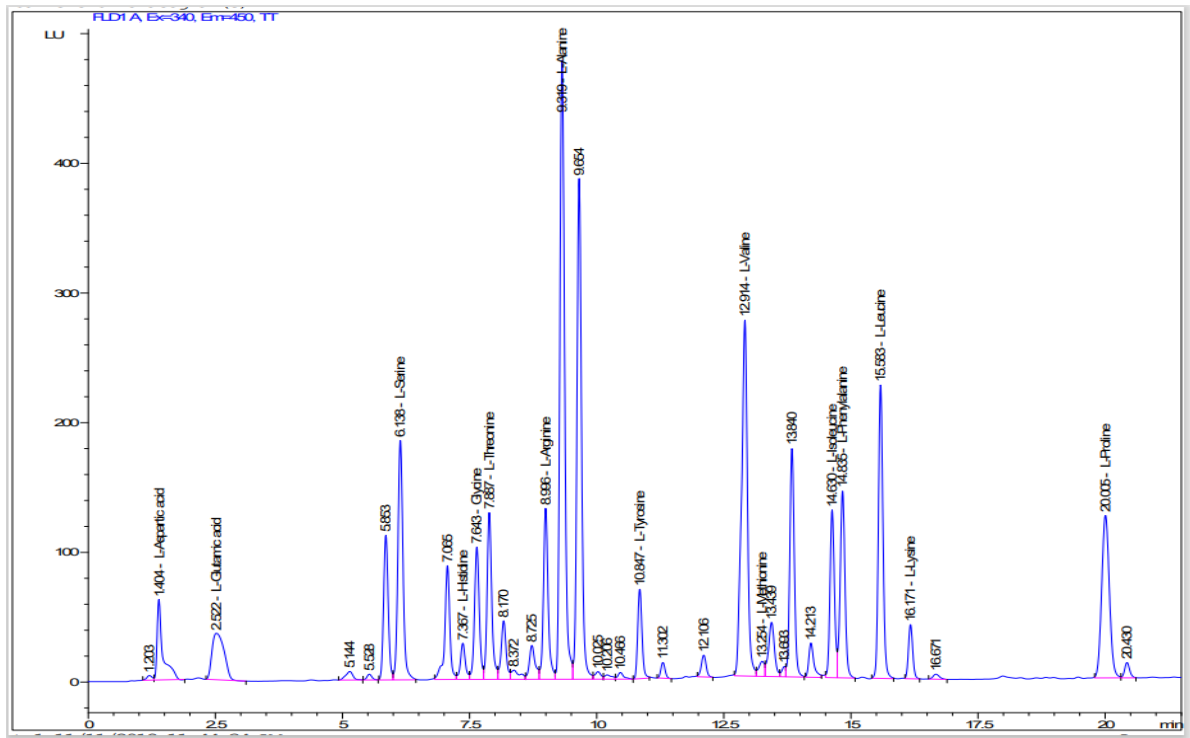


Рисунок 3.5 – Хроматограма (ВЕРХ) вільних амінокислот мильнянки лікарської трави

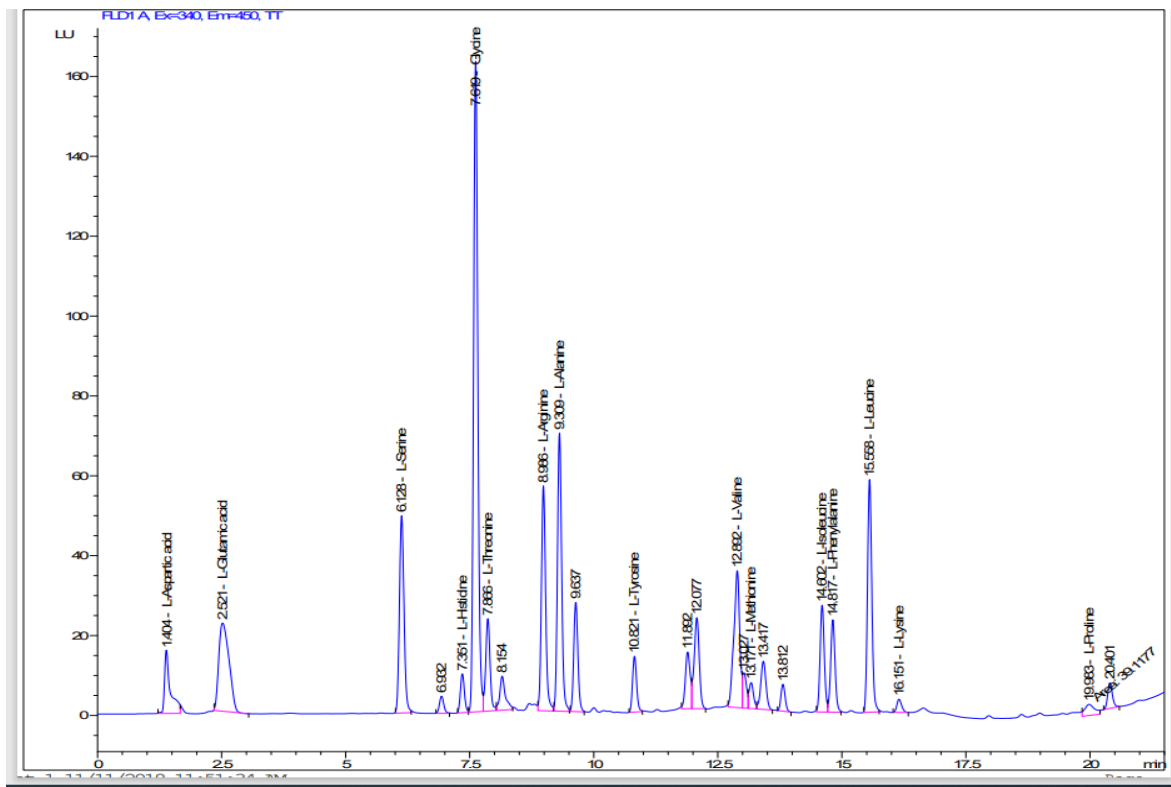


Рисунок 3.6 – Хроматограма (ВЕРХ) зв'язаних амінокислот мильнянки лікарської трави

У результаті досліджень встановлено, що з вільних амінокислот у мильнянки лікарської коренях переважає L-аргінін і L-пролін, вміст яких становив 0,42 мкг/мг і 0,34 мкг/мг відповідно [144]. У дещо менших кількостях виявлено у коренях L-глутамінової кислоти (0,23 мкг/мг) і L-аланіну (0,13 мкг/мг). Зі зв'язаних амінокислот у мильнянки лікарської коренях домінували L-аргінін (2,02 мкг/мг) і гліцин (1,65 мкг/мг). З джерел наукової літератури відомо, що введення L-аргініну зменшує зону некрозу при експериментальній ішемії/реперфузії, попереджує зрушення показників прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу та функціонування мітохондрій при циркуляторно-гемічній гіпоксії [21, 156]. L-аргінін є попередником низки біологічно активних молекул, включаючи оксид азоту (NO), креатинін, сечовину, поліаміни, L-пролін, L-орнітин, глутамат і агматин.

Таблиця 3.2 – Якісний склад та кількісний вміст амінокислот сировини мильнянки лікарської

Амінокислоти	Вміст амінокислот, мкг/мг					
	МЛК			МЛТ		
	сума	вільні	зв'язані	сума	Вільні	зв'язані
Гліцин	1,68	0,03	1,65	4,51	0,25	4,26
L-аланін	0,95	0,13	0,82	2,21	1,35	0,86
L-валін*	0,68	0,05	0,63	1,44	0,90	0,54
L-лейцин*	1,06	0,02	1,04	2,39	0,76	1,63
L-серин	0,94	0,05	0,89	1,92	0,62	1,30
L-треонін*	0,51	0,03	0,48	0,99	0,46	0,53
L-ізолейцин*	0,52	0,02	0,50	1,17	0,62	0,55
L-пролін	0,60	0,34	0,26	0,51	0,33	0,18
L-аспарагін	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в
L-аспарагінова кислота	0,62	0,06	0,56	1,12	0,34	0,78
L-глутамінова кислота	1,24	0,23	1,19	3,96	0,59	3,37
L-метіонін*	0,17	0,02	0,15	0,33	0,06	0,27
L-цистеїн	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в
L-фенілаланін*	0,54	0,03	0,51	1,15	0,45	0,70
L-глутамін	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в
L-лізин*	0,39	0,03	0,36	0,71	0,63	0,08
L-гістидин	0,47	0,04	0,42	1,00	0,27	0,73
L-тирозин	0,41	0,03	0,38	0,86	0,35	0,51
L-аргінін	2,44	0,42	2,02	3,32	0,68	2,64
L-триптофан	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в

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

У мильнянки лікарської трави вміст вільних амінокислот був дещо вищий ніж у коренях. Домінуючими з вільних амінокислот у мильнянки лікарської трави були L-аланін, L-валін, L-лейцин, вміст яких становив 1,35 мкг/мг, 0,90 мкг/мг і 0,76 мкг/мг відповідно.

Аналіз зв'язаних амінокислот показав, що в траві в найбільшій кількості виявлено гліцину, L-глутамінової кислоти і L-аргініну (4,26 мкг/мг, 3,37 мкг/мг і 2,64 мкг/мг відповідно). Відомо, що гліцин (амінооцтова кислота) – це проста аліфатична амінокислота, яка міститься в усіх тканинах організму. Особливо великий його вміст у тканинах головного та спинного мозку. Як специфічний регулятор активності нервових клітин, гліцин виконує роль природного гальмівного медіатора, що взаємодіє з гліцинергічними ГАМК-рецепторами і виявляє властивості $\alpha 1$ -аденолітика. Гліцин здатний захистити нейрони від збиткового впливу катехоламінів, різке збільшення вмісту яких, як правило, супроводжується стресом будь-якого генезу. Біологічне значення гліцину обумовлено також його участю в побудові білків і біосинтезі багатьох фізіологічно активних сполук: глутатіону, гіпурової та глікохолевої кислот, порфіринів [9, 102]. Гліцин виявляє стресопротекторну, антистресову і ноотропну дію. Глутамінова кислота стимулює окиснювальні процеси, бере участь у процесах утворення глікогену з глюкози, є сполучною ланкою між обміном вуглеводів і нуклеїнових кислот. Амінокислоти гліцин та глутамінову кислоту застосовують для лікування епілепсії, неврозів, неврозоподібних станів, також глутамінову кислоту призначають у період виснаження і в терапії реактивних станів з явищами депресії [12].

Результати аналізу свідчать, що мильнянки лікарської трава та корені характеризуються неоднаковим амінокислотним складом та відрізняються кількісним вмістом амінокислот.

3.1.2 Визначення органічних кислот

Органічні кислоти – важливі БАР первинного синтезу, які сьогодні широко застосовуються у фармацевтичній, косметичній, харчовій промисловості. Вони проявляють протизапальну, антиоксидантну, гепатозахисну, протимікробну активність, також беруть участь в обміні речовин та позитивно впливають на мікрофлору кишечника [97, 261].

Для виявлення органічних кислот використовували водні витяжки досліджуваної сировини. Методом ТШХ, використовуючи рухому фазу – 95 % етанол Р-хлороформ-концентрований розчин аміаку-вода очищена Р (70:40:20:2), у чорнобривців золотистих траві виявлено наявність лимонної, яблучної, бурштинової кислот і сліди щавлевої кислоти; у мильнянки лікарської траві – бурштинової і винної, у підземних органах – лимонної і бурштинової.

Методом ГХ/МС у чорнобривців золотистих траві і методом ВЕРХ у мильнянки лікарської траві і підземних органах виявлено наявність і встановлено кількісний вміст індивідуальних органічних кислот (рис. 3.7–3.9).

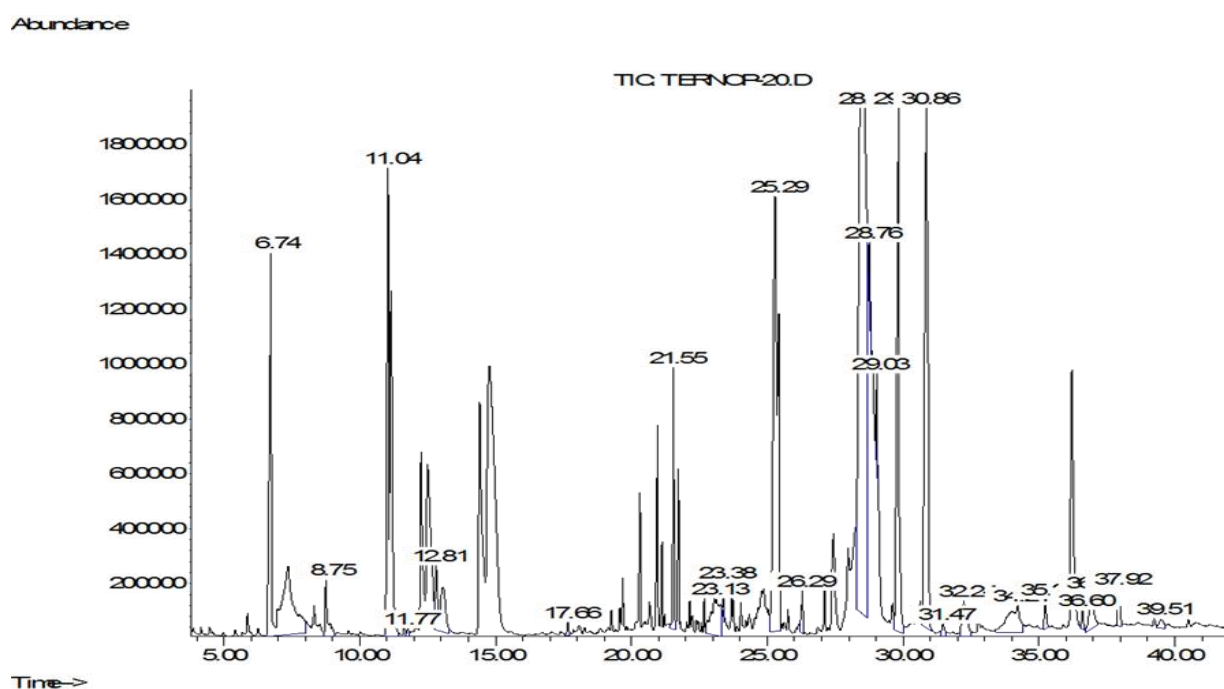


Рисунок 3.7 – ГХ/МС-хроматограма карбонових кислот чорнобривців золотистих траві

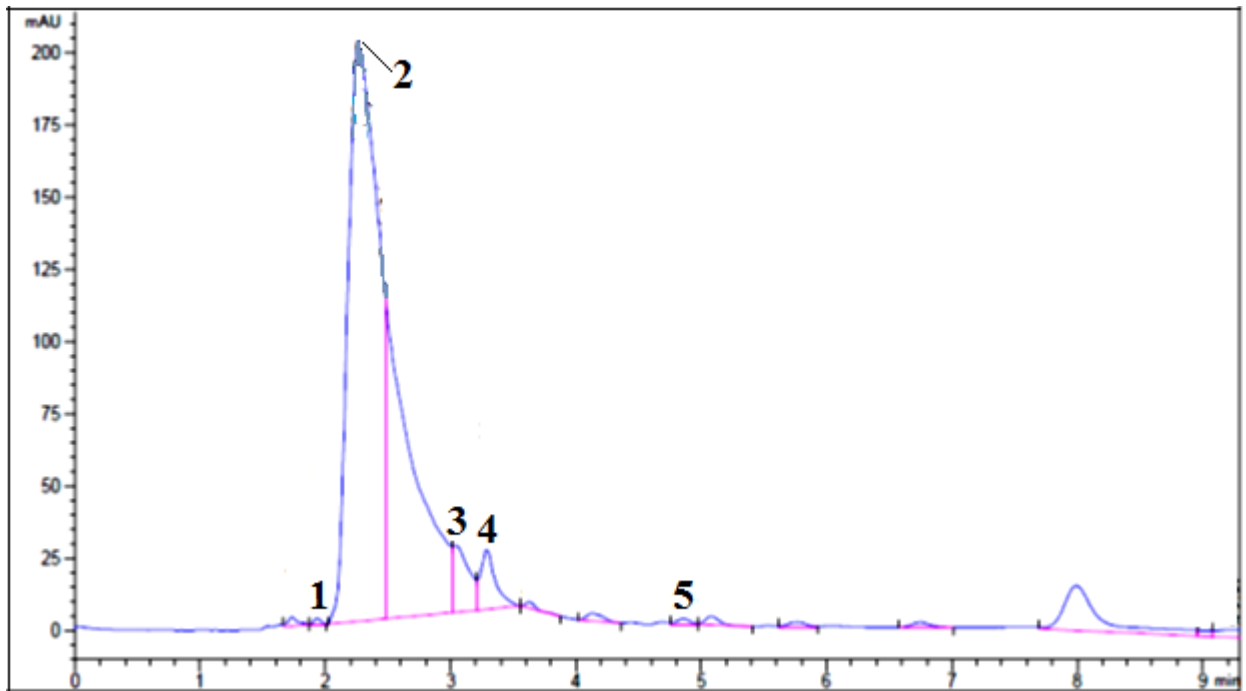


Рисунок 3.8 – ВЕРХ-хроматограма органічних кислот у траві *Saponaria officinalis* L.: 1 – винна, 2 – піровиноградна, 3 – ізолимонна, 4 – бурштинова, 5 – фумарова кислоти

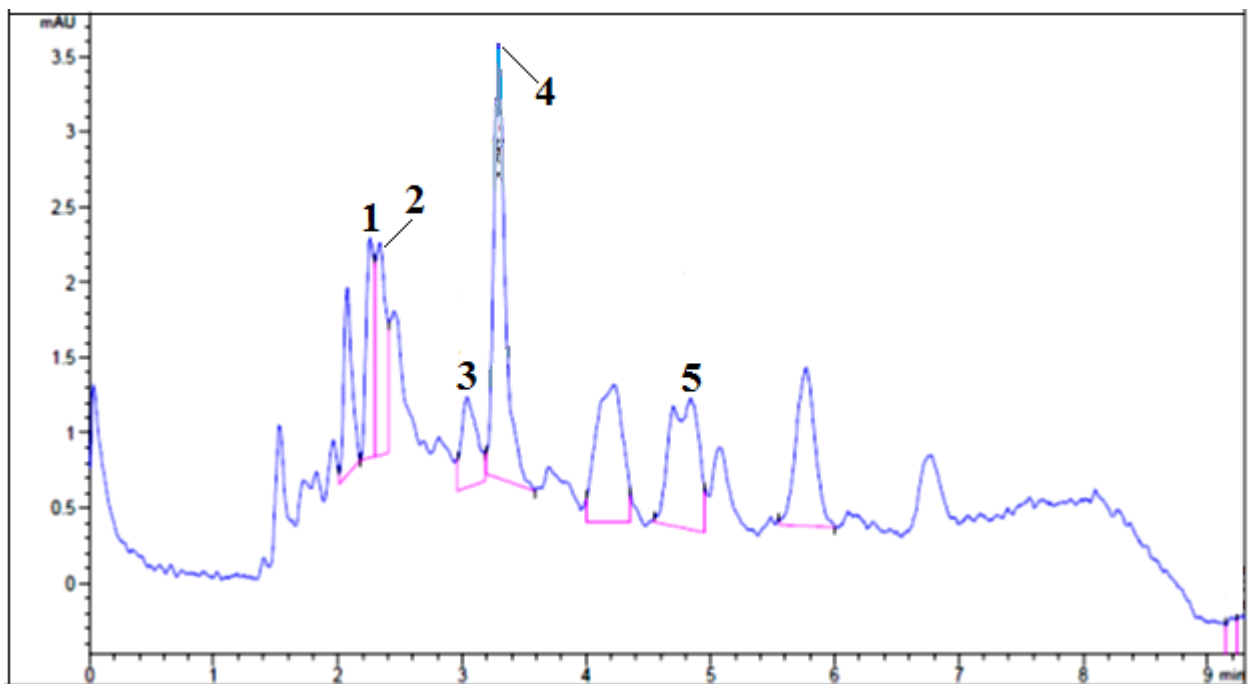


Рисунок 3.9 – ВЕРХ-хроматограма органічних кислот у підземних органах *Saponaria officinalis* L.: 1 – піровиноградна, 2 – ізолимонна, 3 – лимонна, 4 – бурштинова, 5 – фумарова кислоти

Встановлено, що чорнобривців золотистих трава містить щавлеву, малонову, фумарову, бурштинову, яблучну, лимонну, ванілінову, ізолимонну, сирінгову, ферулову кислоти. Найбільше виявлено лимонної (4315,5 мг/кг) та малонової (1367,2 мг/кг) органічних кислот [169]. У незначних кількостях міститься у досліджуваній сировині ванілінова (34,1 мг/кг) і фумарова (15,4 мг/кг) кислоти (табл. 3.3) [16].

Таблиця 3.3 – Якісний склад і кількісний вміст індивідуальних органічних кислот у траві чорнобривців золотистих (метод ГХ/МС)

№ з/п	Площа піку, mA*S	Кислоти	Вміст, мг/кг	Вміст, %
Карбонові кислоти				
1.	8,75	Щавлева	126,4	1,85
2.	11,04	Малонова	1367,2	20,0
3.	12,8	Бурштинова	314,9	4,60
4.	23,12	Яблучна	291,0	3,20
5.	28,51	Лимонна	4315,5	63,12
6.	34,21	Ізолимонна	270,0	3,95
Фенольні кислоти				
7.	11,77	Фумарова	15,4	0,22
8.	31,46	Ванілінова		0,50
9.	36,91	Сирінгова	138,2	2,02
10.	39,51	Ферулова	36,3	0,53

Методом ВЕРХ у траві мильнянки лікарської ідентифіковано та визначено кількісний вміст винної, піровиноградної, ізолимонної, бурштинової і фумарової кислот, у підземних органах – піровиноградної, ізолимонної, лимонної, бурштинової та фумарової (табл. 3.4). У траві мильнянки лікарської домінували ізолимонна (120,83 мг/г) та піровиноградна кислоти (25,14 мг/г); у підземних органах – бурштинова кислота (0,79 мг/г) (див. рис. 3.8, 3.9; рис. 3.10) [60].

Таблиця 3.4 – Кількісний вміст індивідуальних органічних кислот у траві та підземних органах мильнянки лікарської (метод ВЕРХ)

БАР	Час утримування, хв	Кількісний вміст у траві, мг/г	Кількісний вміст у коренях, мг/г
Винна кислота	1.930	0,26	н/в
Піровиноградна кислота	2.299	25,14	0,07
Ізолимонна кислота	2.436	120,83	0,02
Лимонна кислота	3.004	н/в	0,19
Бурштинова кислота	3.198	10,95	0,79
Фумарова кислота	4.631	0,04	0,02

Примітка. н/в – не виявлено.

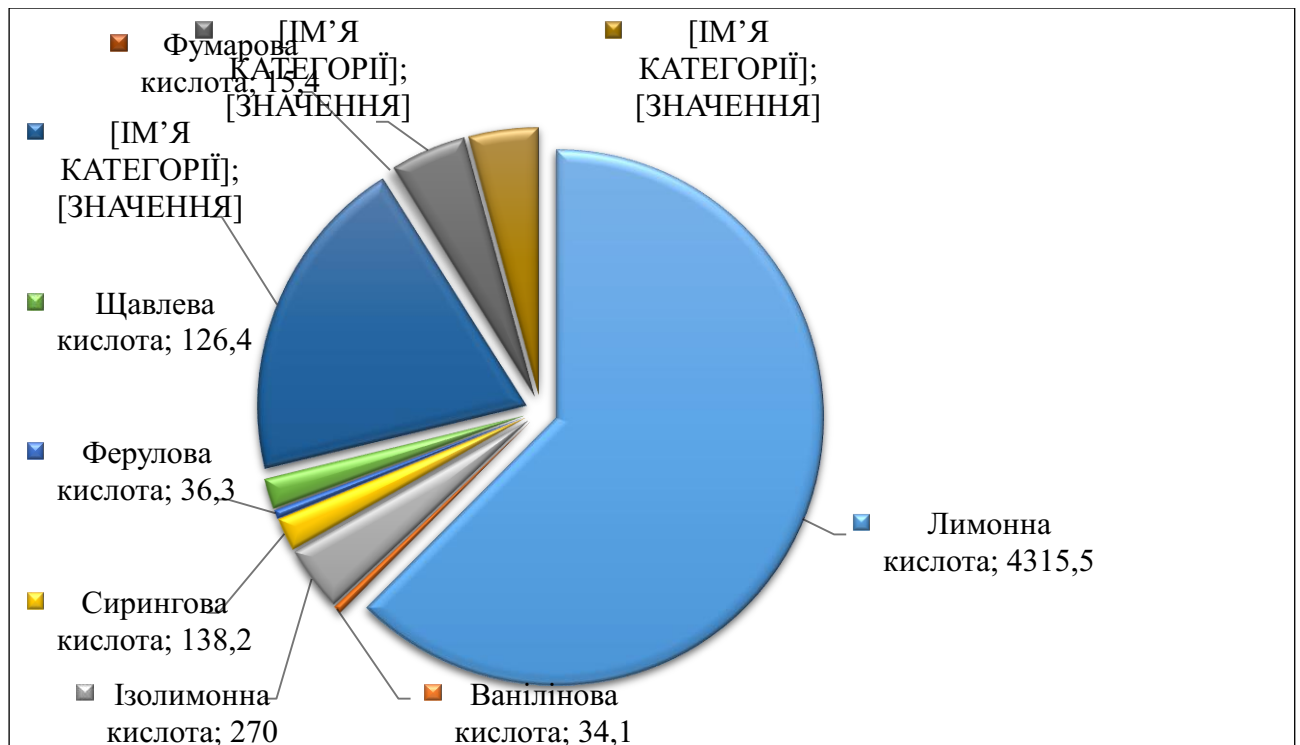


Рисунок 3.10 – Кількісний вміст індивідуальних карбонових кислот (мг/кг, метод ГХ/МС) у траві чорнобривців золотистих

У траві мильнянки лікарської не виявлено лимонної кислоти, а у кореневищах – винної. У досліджуваній сировині не виявлено також шавлевої кислоти.

Як видно із таблиці 3.4, мильнянка лікарська синтезує винну, піровиноградну, ізолимонну, лимонну, фумарову та бурштинову кислоти, які є каталізаторами біохімічних процесів і активаторами тканинного дихання як в рослинних, так і в тваринних організмах [42, 60].

Результати визначення кількісного вмісту суми органічних кислот, визначених титриметричним методом, у чорнобривців золотистих траві і мильнянки лікарської траві та коренях наведено у таблиці 3.5.

Таблиця 3.5 – Кількісний вміст суми органічних кислот у сировині чорнобривців золотистих і мильнянки лікарської (титриметричний метод)

Назва сировини	Кількісний вміст, %, n=5
ЧЗТ	1,67 ± 0,12
МЛТ	1,10 ± 0,10
МЛК	0,89 ± 0,08

Результати досліджень показали, що найвищий вміст суми органічних кислот міститься у чорнобривців золотистих траві і складає (1,67 ± 0,12) %, дещо менший, що становить (1,10 ± 0,10) %, – у мильнянки лікарської траві. Найменша кількість суми органічних кислот спостерігається у мильнянки лікарської коренях і становить (0,89 ± 0,10) % (див. табл. 3.5).

3.1.3 Визначення аскорбінової кислоти

Аскорбінова кислота (вітамін С) міститься у тканинах усіх вищих рослин. Вона займає домінуюче місце у позаклітинному антиоксидантному захисті організму людини, бере активну участь у процесах біосинтезу тетрагідрофолієвої кислоти, стероїдних гормонів, колагену і проколагену,

регенерації тканин, сприяє підтриманню колоїдного стану міжклітинної рідини та нормалізує проникність капілярів, підвищує детоксикаційну функцію і білоксинтезуючу функцію печінки (в результаті активації дихальних ферментів), проліферацію імунних клітин, стимулює імунітет [69, 75].

Нами спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст аскорбінової кислоти у сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих. Результати досліджень наведено в таблиці 3.6.

Таблиця 3.6 – Кількісний вміст аскорбінової кислоти у сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих

Назва сировини	Вміст аскорбінової кислоти, %, n=5
МЛТ	0,41 ± 0,02
МЛК	0,34 ± 0,01
ЧЗТ	0,64 ± 0,03

Результати досліджень показали, що найбільше містила аскорбінової кислоти чорнобривців золотистих трава (0,64 ± 0,03) %, найменше – мильнянки лікарської корені (0,34 ± 0,01) %.

3.1.4 Виявлення жирних кислот

У чорнобривців золотистих траві і мильнянки лікарської траві та коренях встановлено наявність насичених та ненасичених кислот жирних, низькомолекулярних кислот органічних, високомолекулярних алканів.

Профілі жирних кислот чорнобривців золотистих трави і мильнянки лікарської трави та коренів визначали методом ГХ/МС на хроматографі Agilent Technologies, (США).

Було встановлено якісний склад і кількісний вміст жирних кислот чорнобривців золотистих трави (рис. 3.11 і табл. 3.7), з яких сім належить до

насичених (міристинова, пальмітинова, маргарінова, стеаринова, арахінова, бегенова, лігноцеринова) і дві – до ненасичених (лінолева і ліноленова).

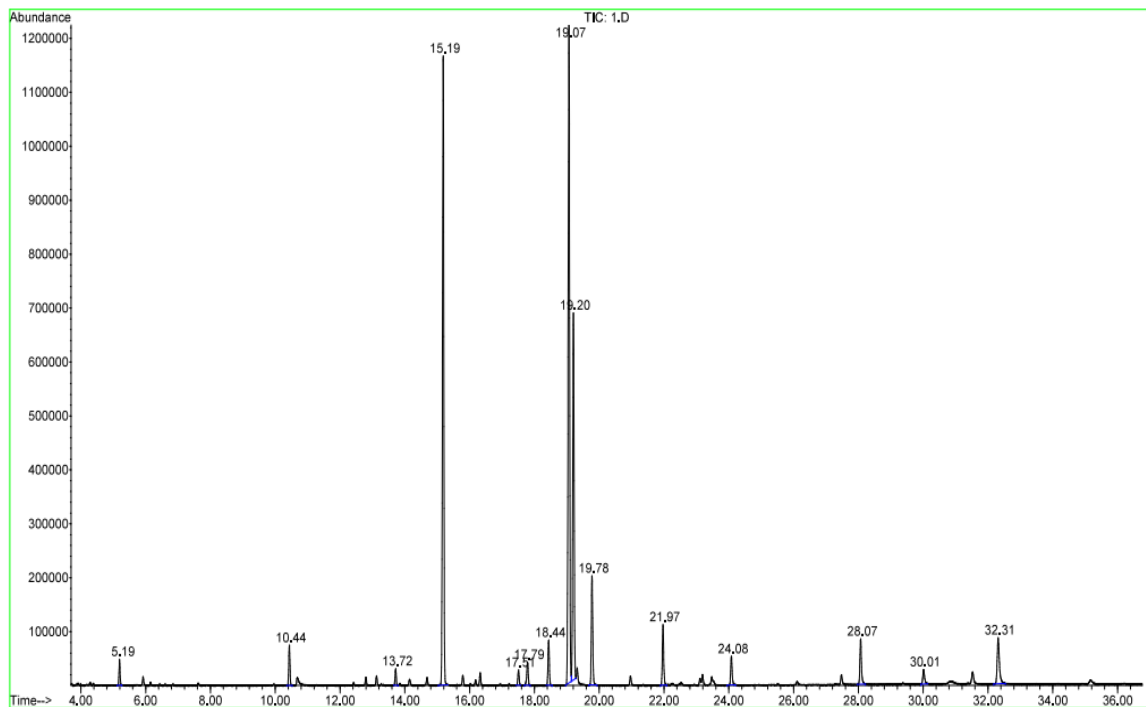


Рисунок 3.11 – Хроматограма ГХ-МС аналізу метилових естерів жирних кислот чорнобривців золотистих трави

Таблиця 3.7 – Якісний склад і кількісний вміст жирних кислот у чорнобривців золотистих траві

Час утримування, хв	Назва кислот	Чорнобривці золотисті	
		Вміст (мг/г)	Вміст, %
1	2	3	4
10.44	Міристинова (тетрадеканова)	0,04	1,66
15.19	Пальмітинова (гексадеканова)	0,75	31,11
17.51	Маргарінова (гептадеканова)	0,02	0,83
19.07	Лінолева* (цис, цис-9,12-октадекадієнова)	0,84	34,86
19.20	α-ліноленова* (цис, цис, цис-9,12,15-октадекатрієнова)	0,44	18,26

Продовження таблиці 3.7

1	2	3	4
18,88	Стеаринова (октадеканова)	0,13	5,40
21,97	Нонадеканова	Внутрішній стандарт	
24,08	Арахінова (ейкозанова)	0,04	1,66
28,07	Бегенова (декозанова)	0,06	2,49
32,33	Лігноцеринова (тетракозанова)	0,09	3,73
Кількість насичених жирних кислот		1,13	46,88
Кількість ненасичених жирних кислот		1,28	53,12
Загалом		2,41	100
Примітка. * – ненасичені жирні кислоти.			

Відсоток збігу виявлених сполук із тими, що є в бібліотеці мас-спектрів NIST 02, для чорнобривців золотистих трави становив 98-99 %.

Встановлено, що сума ненасичених жирних кислот у чорнобривців золотистих траві становила 53,12 %, сума насичених – 46,88 %.

Чорнобривців золотистих трава містила значну кількість лінолевої кислоти (34,86 %), яка входить до складу омега-6 жирних кислот і забезпечує нормалізацію обмінних процесів, вироблення жовчних кислот у печінці, впливає на гормональний баланс і продукцію простагландинів, а також ліноленової кислоти (18,26 %), яка входить до складу омега-3 жирних кислот. Дана поліненасичена жирна кислота перетворюється на простагландин E1, підвищує імунітет, знижує рівень холестерину в крові, а також знижує артеріальний тиск [24, 130, 166, 223, 237, 269].

З насичених жирних кислот у чорнобривців золотистих траві домінувала пальмітинова кислота, вміст якої становив 31,11%.

Встановлено у мильнянки лікарської траві одинадцять жирних кислот: міристинову, маргаринову, стеаринову, арахінову, бегенову, генейкозилову, трикозилову, лігноцеринову, церинову з насичених і лінолеву та α -ліноленову з ненасичених; у мильнянки лікарської коренях – вісім жирних кислот:

пентадецилову, пальмітинову, стеаринову, арахінову, бегенову, лігноцеринову з насичених і лінолеву та α -ліноленову з ненасичених) (рис. 3.12; табл. 3.8).

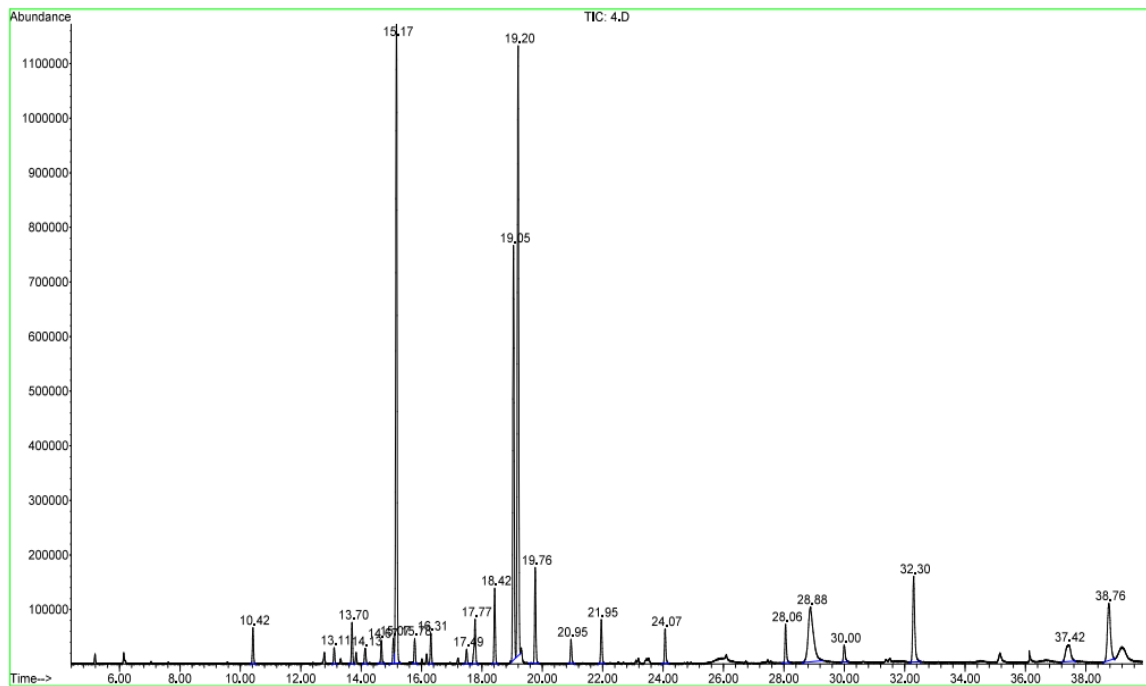


Рисунок 3.12 – Хроматограма ГХ-МС аналізу метилових естерів жирних кислот мильнянки лікарської трави

Сума ненасичених жирних кислот у мильнянки лікарської трави була більша, ніж сума насичених і становила 59,94 % та 40,06 % відповідно [169].

У мильнянки лікарської коренях спостерігали більший вміст насичених жирних кислот, що становив 65,28 % (рис. 3.13; табл. 3.8). З джерел літератури відомо, що насичені жирні кислоти є джерелом енергії для організму людини і беруть участь у формуванні клітинної мембрани, синтезі гормонів, сприяють всмоктуванню мікроелементів і вітамінів [24, 281].

Вміст таких насичених жирних кислот як генейкозилової, церинової, лігноцеринової і стеаринової спостерігали найбільше у мильнянки лікарської трави, що становило 0,38 мг/г (11,99 %), 0,24 мг/г (7,57 %), 0,23 мг/г (7,25 %) і 0,16 мг/г (5,05 %) відповідно. Трава *Saponaria officinalis* не містила пентадецилової і пальмітинової кислот.

Таблиця 3.8 – Якісний склад і кількісний вміст жирних кислот у мильнянки лікарської траві і коренях (метод ГХ/МС)

Час утримування	Назва кислот		Кількісний вміст			
			Трава		Корені	
			мг/г	%	мг/г	%
Насичені жирні кислоти						
10.42	Міристинова (тетрадеканова)	C 14:0	0,06 ± 0,002	1,89	-	-
12.78	Пентадецилова (пентадеканова)	C 15:0	-	-	0,01 ± 0,0001	1,39
15.16	Пальмітинова (гексадеканова)	C 16:0	-	-	0,38 ± 0,01	52,78
17.40	Маргарінова (гептадеканова)	C 17:0	0,03 ± 0,001	9,95	-	-
19.76	Стеаринова (октадеканова)	C 18:0	0,16 ± 0,004	5,05	0,02 ± 0,0006	2,78
21.95	Нонадеканова	C 19:0	Внутрішній стандарт			
24.07	Арахінова (ейкозанова)	C 20:0	0,06 ± 0,001	1,89	0,01 ± 0,0002	1,39
28.06	Бегенова (декозанова)	C 22:0	0,07 ± 0,001	2,21	0,04 ± 0,001	5,55
28.88	Генейкозилова (генейкозанова)	C 21:0	0,38 ± 0,01	11,99	-	-
30.00	Трикозилова (трикозанова)	C 23:0	0,04 ± 0,001	1,26	-	-
32.30	Лігноцеринова (тетракозанова)	C 24:0	0,23 ± 0,01	7,25	0,01 ± 0,0003	1,39
38.76	Церинова (гексакозанова)	C 26:0	0,24 ± 0,01	7,57	-	-
Ненасичені жирні кислоти (ω-3 and ω-6)						
19.05	Лінолева (октадекадієнова, ω-6)	C 18:2	0,75 ± 0,02	23,06	0,16 ± 0,005	22,22
19.20	α-ліноленова (октадекатрієнова, ω-3)	C 18:3	1,15 ± 0,03	36,28	0,09 ± 0,003	12,50
Кількість насичених жирних кислот			1,27	40,06	0,47	65,28
Кількість ненасичених жирних кислот			1,9	59,94	0,25	34,72
Загалом			3,17	100	0,72	100

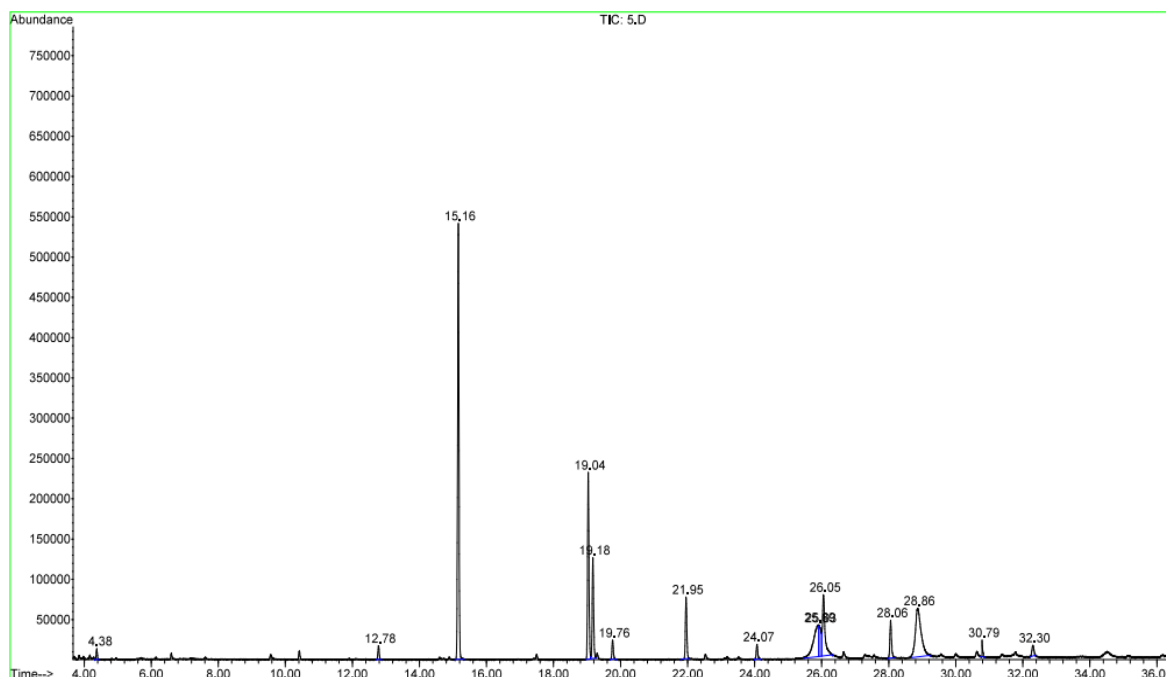


Рисунок 3.13 – Хроматограма ГХ-МС аналізу метилових естерів жирних кислот мильнянки лікарської коренів

Корені *Saponaria officinalis* L. містили у значній кількості насичену пальмітинову жирну кислоту, що становило 0,38 мг/г (52,78 % від загального вмісту жирних кислот). У коренях не виявлено міристинової, маргаринової, генейкосилової, трикозилової та церотинової кислот.

Ненасичені жирні кислоти представлені лінолевою та ліноленою кислотами, їх вміст у траві досліджуваного виду становив 0,75 мг/г (23,06 %) і 1,15 мг/г (36,28 %), у коренях – 0,16 мг/г (22,22 %) і 0,09 мг/г (12,50 %) відповідно. Полінасичені жирні кислоти в організмі людини не синтезуються, але відіграють важливу роль у життєдіяльності організму.

3.1.5 Визначення вуглеводів

Вуглеводи – найпоширеніший на Землі клас органічних сполук, що є первинними продуктами фотосинтезу. Вони містяться головним чином у рослинних продуктах і є найважливішою групою харчових речовин [89, 119]. Вуглеводи відіграють ключову роль у формуванні питомої маси рослинного організму.

У рослинах найбільшу кількість вуглеводів складають полісахариди [3]. Полісахариди рослинного походження виявляють високу біологічну активність, потенціюють фармакологічну активність біологічно активних речовин, пролонгують дію та підвищують ефективність застосування лікарських засобів, мають протизапальну, противиразкову, ранозагоювальну, протипухлинну, анаболічну, муколітичну, обволікаючу, імуномодулюючу, протипухлинну дію, а також мають здатність знижувати побічні ефекти антибіотиків, цитостатиків, глюкокортикоїдів [3, 43, 119].

Внаслідок реакції водних витяжок мильнянки лікарської трави і коренів та чорнобривців золотистих трави з мідно-тартратним реактивом (реактив Фелінга) утворюються цегельно-червоні осаді купруму (I) оксиду, при взаємодії витяжок із 96 % етанолом з'являлися пластівчасті згустки, що випадали в осад при відстоюванні. Отримані результати реакцій свідчать про наявність вільних цукрів та водорозчинних полісахаридів у досліджуваних зразках сировини.

З мильнянки лікарської трави і коренів та чорнобривців золотистих трави було виділено водорозчинні полісахариди (ВРПС) і пектинові речовини (ПР).

ВРПС – це аморфні порошки світло коричневого кольору, що добре розчиняються у воді (рН 1 % водних розчинів знаходиться в межах 5-6), нерозчинні в органічних розчинниках, дають позитивні реакції осадження з 96 % етанолом Р та з реактивом Фелінга після проведення кислотного гідролізу.

ПР – це аморфні порошки коричневого кольору, у очищеній воді Р розчиняються з утворенням колоїдних в'язких мутних розчинів (рН 4-5). Водні розчини ПР осаджуються 1 % розчином алюмінію сульфату з утворенням пектатів.

Результати кількісного визначення ВРПС і ПР у досліджуваних об'єктах наведено у таблиці 3.9.

Результати дослідження свідчать про високий вміст ВРПС і ПР у чорнобривців золотистих трави, що становило 12,36 % і 7,12 % відповідно.

Дещо нижчий вміст ВРПС і ПР спостерігали у сировині мильнянки лікарської: у траві – 8,64 % і 5,15 %, у коренях – 10,75 % і 5,70 % відповідно.

Таблиця 3.9 – Кількісний вміст водорозчинних полісахаридів і пектинових речовин у сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих

Сировина	ПС	Маса сировини, г	Вихід ПС, %
МЛК	ВРПС	12,1551	10,75 ± 0,20
	ПР	8,3375	5,70 ± 0,15
МЛТ	ВРПС	9,5217	8,64 ± 0,22
	ПР	11,1510	5,15 ± 0,05
ЧЗТ	ВРПС	20,7100	12,36 ± 0,17
	ПР	15,2259	7,12 ± 0,10

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту моноцукрів і сахарози у сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих проводили методом ГХ/МС (рис. 3.14-3.17 і 3.18-3.19 відповідно) [38, 229].

Кількісний вміст і якісний склад цукрів мильнянки лікарської представлено у таблиці 3.10.

Дослідження показали, що мильнянки лікарської трава, в основному, містить такі вільні цукри – D-глюкозу (3,65 мг/г), D-галактозу (0,29 мг/г), D-фруктозу (0,20 мг/г) і D-сахарозу (3,72 мг/г) (табл. 3.9). Після кислотного гідролізу і дериватизації ацетильованими альдононітрилами у мильнянки лікарської траві виявлено D-арабінозу, D-фукозу, D-манозу, D-глюкозу, D-галактозу, D-фруктозу та міо-інозит (рис. 3.14) [132].

Вільні цукри в коренях *Saponaria officinalis* L. представлені D-глюкозою, D-галактозою і дицукром D-сахарозою (рис. 3.17).

Після кислотного гідролізу та дериватизації ацетильованими альдононітрилами у коренях мильнянки лікарської спостерігали наявність

таких моноцукрів як D-арабінози, D-фукози, D-ксилози, D-маннози, D-глюкози, D-галактози і D-фруктози (рис. 3.16).

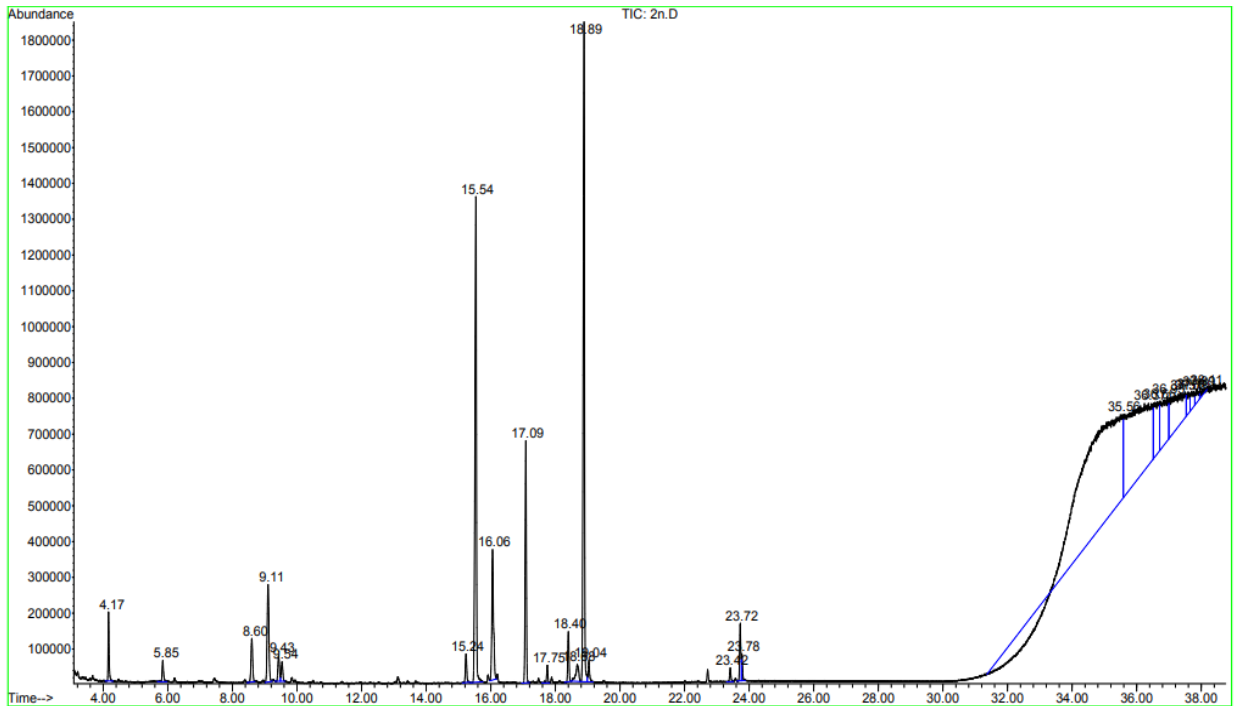


Рисунок 3.14 – Хроматограма (ГХ/МС) цукрів мильнянки лікарської трави

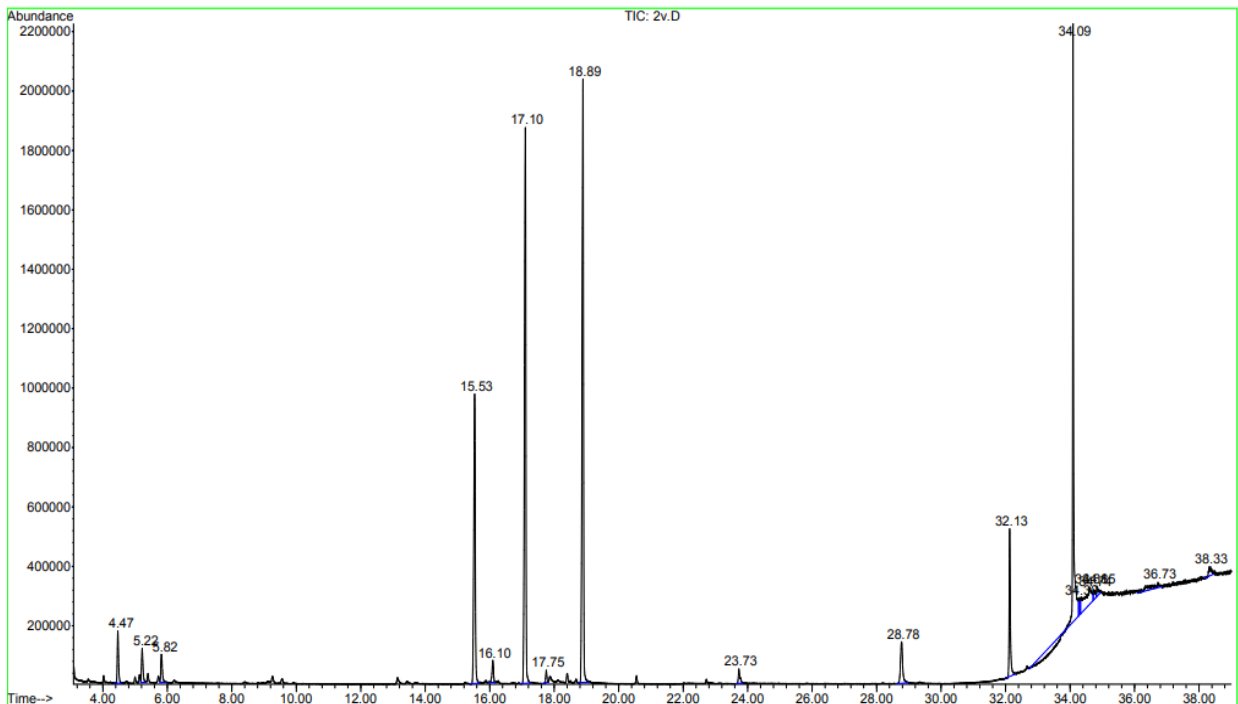


Рисунок 3.15 – Хроматограма (ГХ/МС) вільних цукрів мильнянки лікарської трави

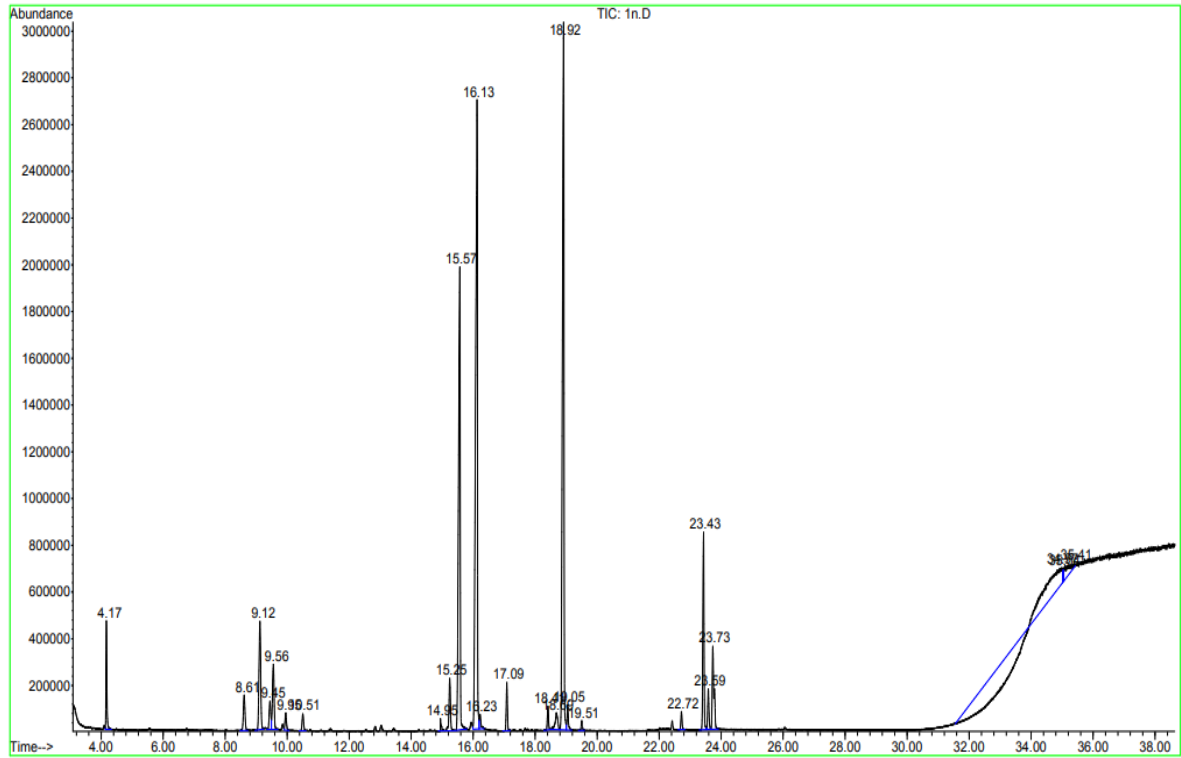


Рисунок 3.16 – Хроматограма (ГХ/МС) цукрів мильнянки лікарської коренів

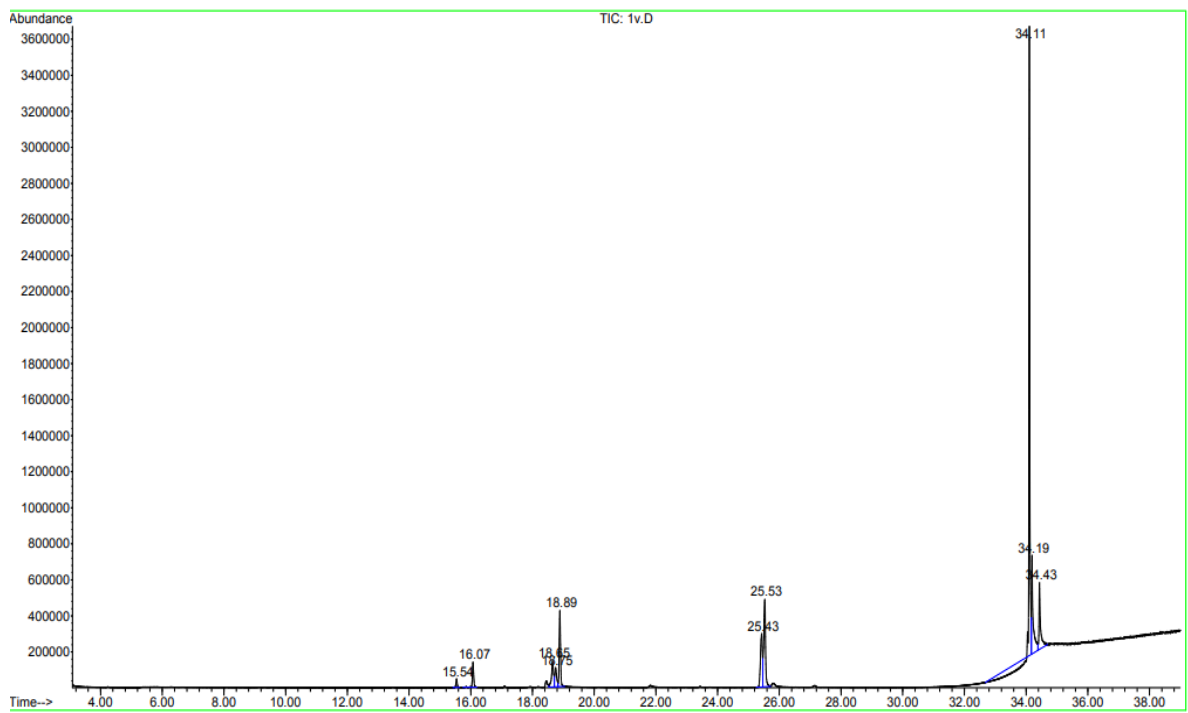


Рисунок 3.17 – Хроматограма (ГХ/МС) вільних цукрів мильнянки лікарської коренів

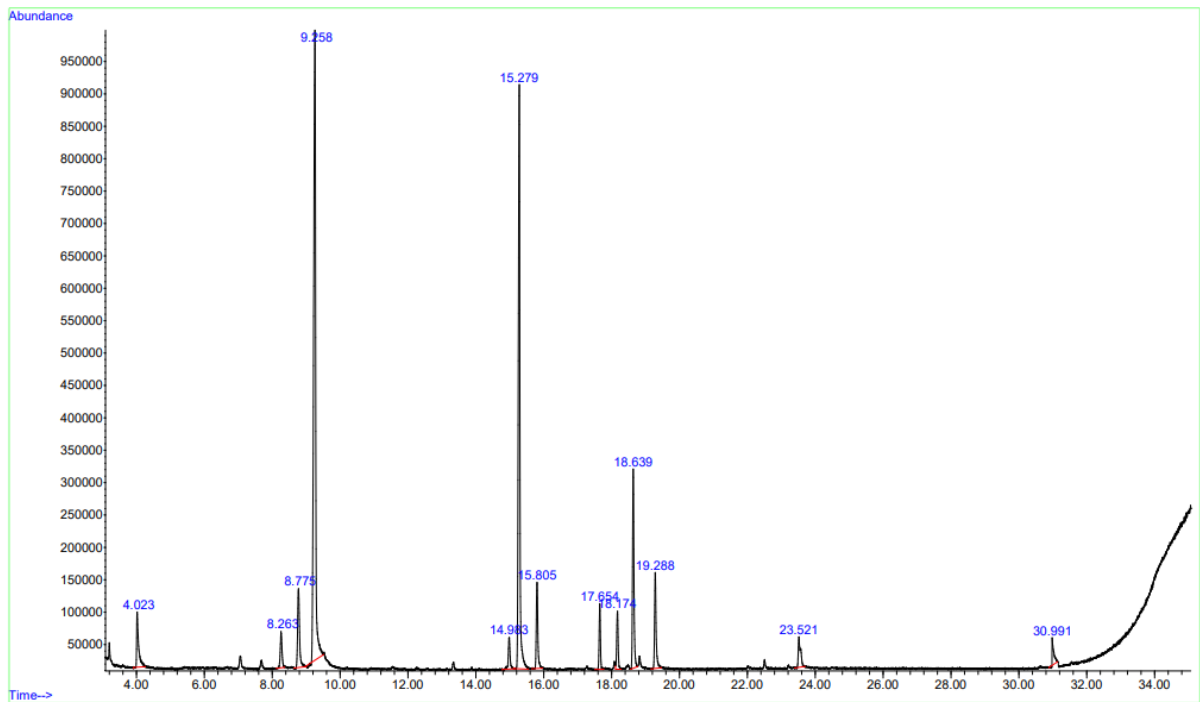


Рисунок 3.18 – Хроматограма (ГХ/МС) цукрів чорнобривців золотистих трави

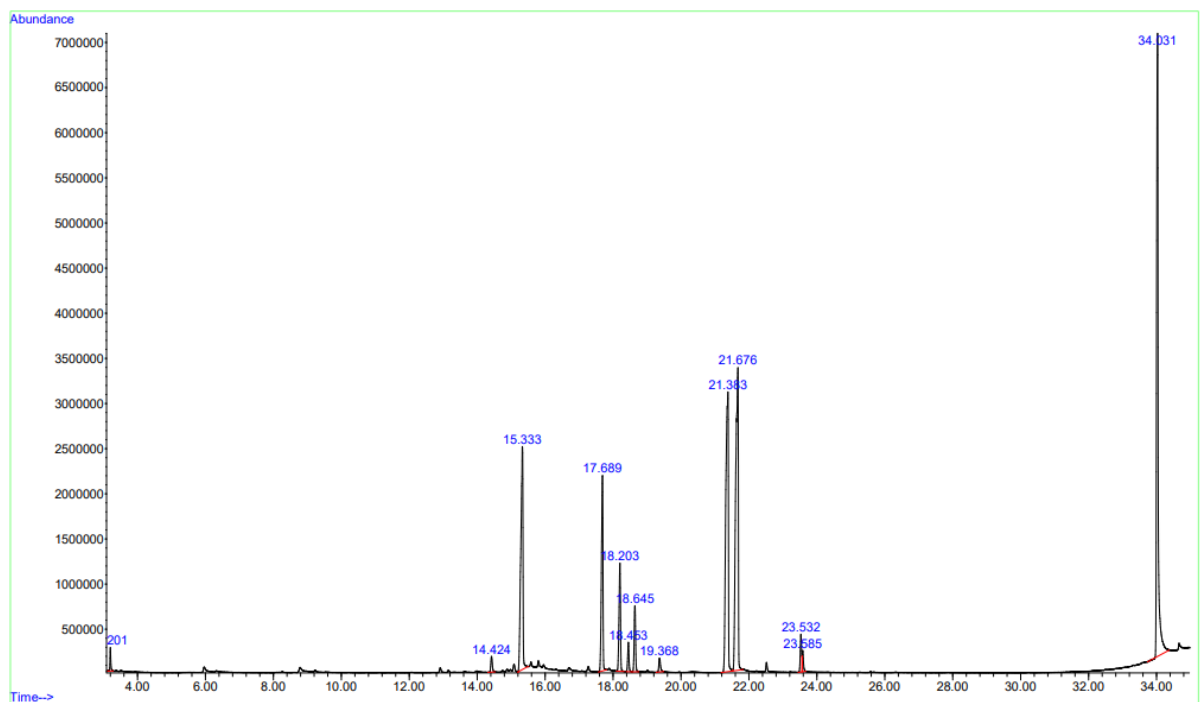


Рисунок 3.19 – Хроматограма (ГХ/МС) вільних цукрів чорнобривців
золотистих трави

Таблиця 3.10 – Якісний склад та кількісний вміст цукрів у сировині мильнянки лікарської

Час утримування, хв	Назва цукрів	Вміст цукрів, мг/г $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, n=3, P<0,05			
		Вільні цукри		Моноцукри та їх похідні після гідролізу	
		трава	корінь	трава	корінь
8.61	D-арабіноза	н/в	н/в	2,93 ± 0,06	1,66 ± 0,01
9.12	D-фукоза	н/в	н/в	7,18 ± 0,08	5,28 ± 0,04
9.95	D-ксилоза	н/в	н/в	н/в	0,73 ± 0,01
15.25	D-маноза	н/в	н/в	1,65 ± 0,03	2,25 ± 0,02
15.57	D-глюкоза	3,65 ± 0,05	0,73 ± 0,02	30,25 ± 0,14	23,08 ± 0,11
16.06	D-галактоза	0,29 ± 0,01	2,18 ± 0,04	9,17 ± 0,07	33,91 ± 0,16
18.40	Міо-інозитол	н/в	н/в	2,62 ± 0,02	н/в
18.92	D-сорбітол	Внутрішній стандарт			
23.73	D-фруктоза	0,20 ± 0,01	10,79 ± 0,01	25,39 ± 0,15	10,79 ± 0,09
34.11	D-сахароза	3,72 ± 0,06	25,39 ± 0,15	н/в	н/в

Примітка. н/в – не виявлено.

У мильнянки лікарської траві і коренях визначено значний вміст сахарози, який становив 3,72 мг/г і 25,39 мг/г відповідно. Сахароза – найпоширеніший дицукор, що найчастіше використовується у харчуванні людини [189, 222, 235].

Серед вільних моноцукрів у мильнянки лікарської траві найбільше визначено D-глюкози (3,65 мг/г). У коренях рослини її було у 4,9 разів менше.

D-фукоза, D-ксилоза і D-манноза були виявлені в досліджуваних об'єктах лише після гідролізу (табл. 3.19).

У мильнянки лікарської траві виявлено похідне моноцукрів міо-інозитол, вміст якого становив 2,62 мг/г. Міо-інозитол має властивості інсулінсенситайзера, що подібно метформіну підвищує чутливість тканин до

інсуліну. Він також знижує рівень циркулюючих андрогенів та пролактину, натомість підвищує чутливість до інсуліну та рівень глобуліну, що зв'язує статеві гормони; регулює та стабілізує менструальний цикл, бере участь у нормальному функціонуванні репродуктивної системи й розвитку ембріона та плода [92, 147].

У мильнянки лікарської траві переважали такі моноцукри після кислотного гідролізу: D-глюкоза (30,25 мг/г), D-галактоза (9,17 мг/г) і D-фукоза (7,18 мг/г); у коренях – D-галактоза (33,91 мг/г), D-глюкоза (23,08 мг/г) і D-фруктоза (10,79 мг/г). Дані моноцукри можна вважати відмінними маркерами трави та коренів *Saponaria officinalis* L.

D-ксилоза після гідролізу була лише в коренях *Saponaria officinalis* L. Вміст її становив 0,73 мг/г.

Кількісний вміст і якісний склад цукрів чорнобривців золотистих трави представлено у таблиці 3.11.

Таблиця 3.11 – Якісний склад та кількісний вміст цукрів у чорнобривців золотистих траві

Час утримування, хв	Назва цукрів	Вміст цукрів, мг/г $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, n=3, P<0,05	
		Вільні цукри	Моноцукри та їх похідні після гідролізу
1	2	3	4
8.26	D-арабіноза	н/в	1,79 ± 0,01
8.77	D-фукоза	н/в	4,39 ± 0,02
9.28	D-ксилоза	н/в	36,62 ± 0,02
14.42	D-маноза	0,31 ± 0,01	н/в
15.30	D-глюкоза	6,56 ± 0,04	35,40 ± 0,10
15.80	D-галактоза	н/в	3,84 ± 0,03
18.20	Міо-інозитол	2,11 ± 0,01	2,39 ± 0,02
18.45	D-манітол	0,49 ± 0,01	н/в

Продовження таблиці 3.11

1	2	3	4
18.62	D-сорбітол	Внутрішній стандарт	
23.53	D-фруктоза	1,01 ± 0,01	7,42 ± 0,05
34.03	D-сахароза	10,88 ± 0,05	н/в
Примітка. н/в – не виявлено.			

Методом ГХ/МС у чорнобривців золотистих траві з вільних цукрів виявлено 5 моноцукрів і сахарозу, вміст якої становив 10,88 мг/г (див. рис. 3.19). Також спостерігали значний вміст D-глюкози (6,56 мг/г). Не виявлено D-галактози, D-ксилози і D-фукози (див. табл. 3.11).

У складі полісахаридного комплексу чорнобривців золотистих трави встановлено наявність та визначено кількісний вміст 7 моноцукрів після кислотного гідролізу (див. рис. 3.18). Спостерігали значний вміст D-ксилози і D-глюкози, вміст яких становив 36,62 мг/г і 35,40 мг/г відповідно. Після кислотного гідролізу у досліджувачій сировині чорнобривців не виявлено D-манози і D-манітолу (див. табл. 3.11).

3.2 Речовини вторинного синтезу

3.2.1 Дослідження фенольних сполук

Найрозповсюдженішими БАР вторинного синтезу в рослин, які виконують важливі для їх життєдіяльності функції, є сполуки фенольної природи [146]. Дані БАР сьогодні широко використовуються у медичній та фармацевтичній практиці, оскільки мають високу антиоксидантну активність [18, 112, 187, 216, 248].

3.2.1.1 Визначення суми фенольних сполук

Визначення вмісту суми фенольних сполук у досліджуваній сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих проводили методом

спектрофотометрії (спектрофотометр UV-1800 Shimadzu (Japan)) [14].

Результати досліджень наведено в таблиці 3.12.

Таблиця 3.12 – Кількісний вміст суми фенольних сполук у сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих (% , n = 5)

Назва сировини	Кількісний вміст, % у перерахунку на абсолютно суху сировину
МЛТ	7,48 ± 0,12
МЛК	0,64 ± 0,05
ЧЗТ	7,88 ± 0,15

Вміст суми фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту був найнижчий у мильнянки лікарської коренях і становив 0,64 %, що у 11,7 раза менший ніж у траві мильнянки.

3.2.1.2 Визначення гідроксикоричних кислот

Гідроксикоричні кислоти зустрічаються практично в усіх вищих рослинах і можуть бути у вільному стані, утворювати димери та складні естери [90, 119]. Фармакологічна активність цієї групи БАР проявляється у гепатопротекторній жовчогінній, протимікробній, антиоксидантній дії. Кофейна кислота та її похідні (хлорогенова кислота та ізомери) мають протизапальний та жовчогінний ефект. Хлорогенова, ферулова, кофейна, кумарова кислоти мають гіпоазотемічну дію, посилюють видільну функцію нирок і стимулюють антитоксичну функцію печінки [15, 18, 202, 227].

З метою ідентифікації гідроксикоричних кислот використовували етанольно-водні витяжки досліджуваної сировини мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих. Позитивна реакція з 1 % розчином ферум (III) хлориду (поява зелено-сірого забарвлення) показала наявність у досліджуваній сировині речовин фенольної природи, в тому числі гідроксикоричних кислот.

Якісний склад гідроксикоричних кислот у сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих визначали методом ТШХ з використанням рухомої фази н-бутанол-ацетатна кислота-вода (4:1:2) у порівнянні зі ФСЗ. У мильнянки лікарської траві виявлено наявність хлорогенової, кофейної, сирінгової, *p*-кумарової, синапової кислот та хлорогенової, кофейної, сирінгової, *p*-кумарової, синапової, хінної та сліди галової кислоти у підземних органах даного виду. У чорнобривців золотистих траві виявлено хлорогенову, кофейну, ферулову, *p*-кумарову і хінну кислоти.

Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на кислоту хлорогенову у рослинній сировині визначено спектрофотометричним методом [див. розд. 2].

Результати спектрофотометричного визначення кількісного вмісту суми гідроксикоричних представлено в таблиці 3.13 [115].

Таблиця 3.13 – Кількісний вміст гідроксикоричних кислот у сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих (% , n=5)

Назва сировини	Кількісний вміст, % у перерахунку на абсолютно суху сировину
МЛТ	3,88 ± 0,04
МЛК	0,52 ± 0,03
ЧЗТ	4,22 ± 0,10

Найвищий кількісний вміст гідроксикоричних кислот спостерігали у чорнобривців золотистих трав, що становив 4,22 % [115]. У мильнянки лікарської траві вміст даної групи БАР становив 3,88 %, у коренях був у 7,5 рази менший і становив 0,52 %.

Якісний склад і кількісний вміст індивідуальних гідроксикоричних кислот встановлено методом ВЕРХ на хроматографі *Agilent 1200 3 D LC System Technologies* (США) (табл. 3.14).

Таблиця 3.14 – Кількісний вміст гідроксикоричних кислот у сировині мильнянки лікарської (метод ВЕРХ)

БАР	Час утримування, хв	Кількісний вміст, мкг/г	
		Трава	Корені
Галова кислота	4.451	н/в	45,05
Гідроксифенілацетатна кислота	8.256	124,49	13,13
Хлорогенова кислота	10.037	480,41	129,90
Кофейна кислота	10.770	149,13	60,40
Сирінгова кислота	12.178	70,44	64,27
<i>p</i> -кумарова кислота	13.642	4420,20	34,33
Транс-ферулова кислота	15.222	75,55	54,36
Синапова кислота,	15.735	41,39	29,98
Транс-цинамова кислота	18.358	42,54	16,58
Хінна кислота	23.461	8840,74	3760,45

Примітка. н/в – не виявлено.

Хроматограми гідроксикоричних кислот досліджуваних видів сировини представлено на рисунках 3.20-3.22.

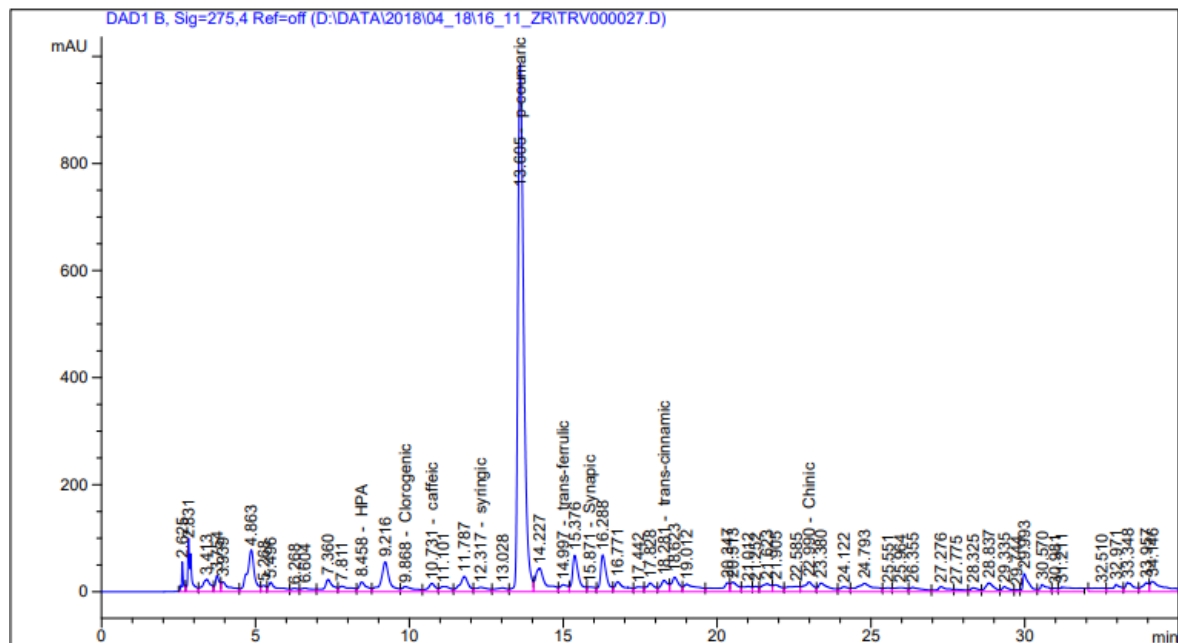


Рисунок 3.20 – ВЕРХ-хроматограма фенольних сполук мильнянки лікарської трави ($\lambda = 275$ нм)

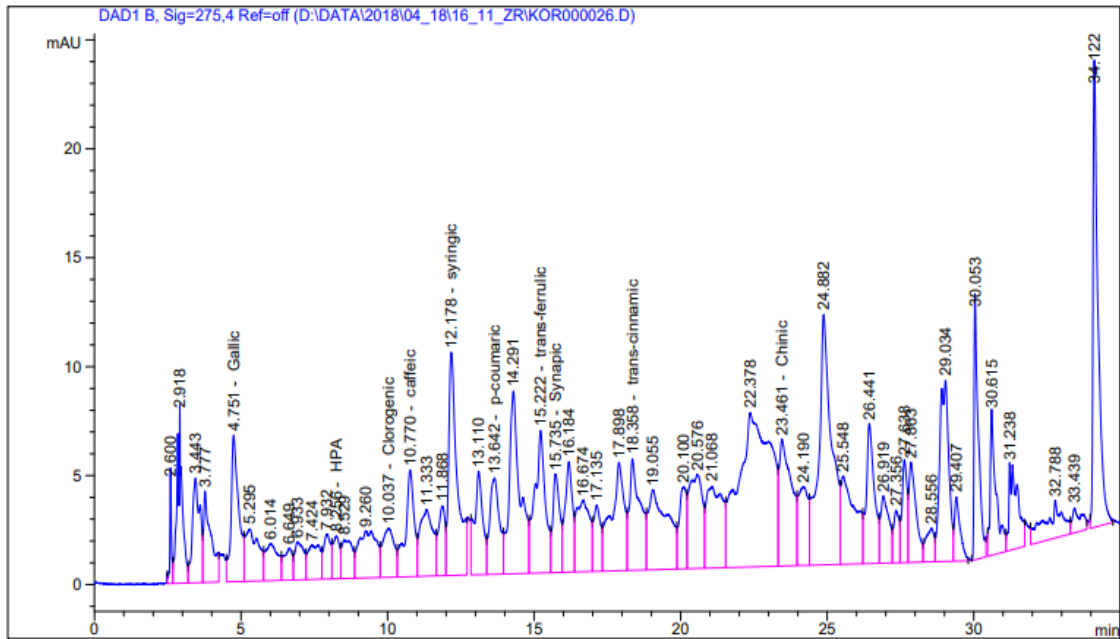


Рисунок 3.21 – ВЕРХ-хроматограма фенольних сполук мильнянки лікарської коренів ($\lambda = 275$ нм)

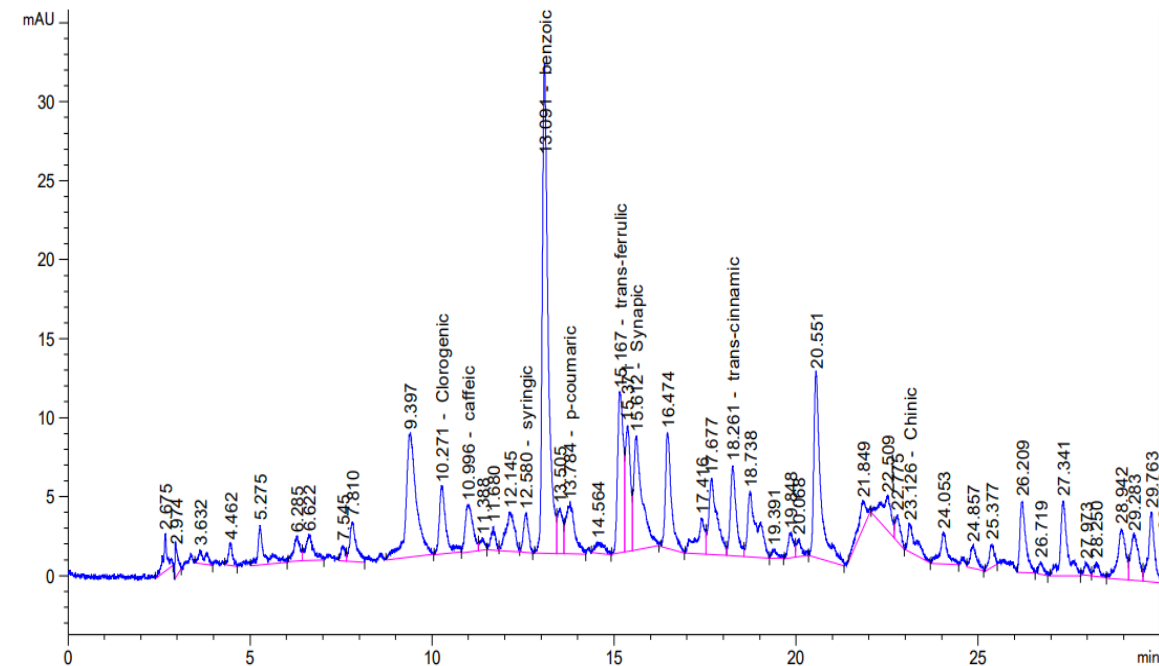


Рисунок 3.22 – ВЕРХ-хроматограма фенольних сполук чорнобривців золотистих трави ($\lambda = 275$ нм)

Результати ВЕРХ-аналізу показали наявність у мильнянки лікарської трави значної кількості хінної і *p*-кумарової кислот, у підземних органах –

хінної кислоти, вміст яких становив 8840,74 мкг/г, 4420,20 мкг/г і 3760,45 мкг/г відповідно. З джерел літератури відомо, що *p*-кумарова кислота проявляє виражену антидіабетичну дію через зниження рівня глюкози в сироватці крові та підвищення рівня інсуліну у щурів з експериментальним діабетом [187]. Хлорогенову кислоту виявлено у значній кількості у траві досліджуваного виду – 480,41 мкг/г, у коренях її було у 3,7 рази менше (129,90 мкг/г). У незначних кількостях у мильнянки лікарської траві і коренях виявлено синапову (41,39 мкг/г і 20,98 мкг/г відповідно) і транс-цинамову кислоти (42,54 мкг/г і 16,58 мкг/г відповідно). У мильнянки лікарської коренях також була незначна кількість гідроксифенілацетатної кислоти (13,13 мкг/г); у траві не виявлено галову кислоту, вміст якої у коренях становив 45,05 мкг/г (див. табл. 3.14).

Методом ВЕРХ у чорнобривців золотистих траві виявлено, ідентифіковано і встановлено кількісний вміст хлорогенової, кофейної, сирінгової, *p*-кумарової, синапової, транс-ферулової, транс-цинамової і хінної кислот; не виявлено галову і гідроксифенілацетатну кислоти (табл. 3.15).

Таблиця 3.15 – Кількісний вміст гідроксикоричних кислот у чорнобривців золотистих траві (ВЕРХ)

БАР	Час виходу, хв	Кількісний вміст, мкг/г
Хлорогенова кислота	10.271	666,02
Кофейна кислота	10.996	159,59
Сирінгова кислота	12.580	45,23
<i>p</i> -кумарова кислота	13.784	103,49
Транс-ферулова кислота	15.167	217,89
Синапова кислота,	15.612	184,33
Транс-цинамова кислота	18.261	47,69
Хінна кислота	23.126	2604,21
Примітка. н/в – не виявлено.		

Домінуючими у сировині чорнобривців золотистих є хінна і хлорогенова кислоти, вміст яких становив 2604,21 мкг/г і 666,02 мкг/г відповідно. У незначних кількостях містяться сирінгова і транс-цинамова кислоти – 45,23 мкг/г і 47,69 мкг/г відповідно (див. табл. 3.15)

З джерел літератури відомо, що хінна (1,3,4,5-тетраоксициклогексан-1-карбонова кислота), є проміжним продуктом у біосинтезі флавоноїдів [119]. Застосовують її як засіб проти артрити.

Широко застосовують у медичній практиці хлорогенову кислоту. Вона має жовчогінну, сечогінну, капіляррозміцнювальну, протизапальну, антибактеріальну та антивірусну дію, впливає на обмінні процеси в організмі людини (вуглеводний і ліпідний обмін) [18, 214, 263]. Хлорогенова кислота є перспективною сполукою для лікування ВІЛ-інфікованих та хворих на СНІД [224].

3.2.1.3 Визначення флавоноїдів

Флавоноїди є однією з найпоширеніших груп вторинних метаболітів, які є надзвичайно цінними для людства завдяки їх високій фізіологічній активності [185, 230]. Досліджено, що вони проявляють капіляррозміцнювальну (Р-вітамінну), антиоксидантну, протизапальну, репаративну, діуретичну, гепатопротекторну, кардіопротекторну, нейропротекторну, гіпоглікемічну, гіполіпідемічну, спазмолітичну, протипухлинну та ін. дії [185, 186, 216, 217, 230, 256, 257].

Для виявлення флавоноїдів у досліджуваних об'єктах мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих проводили загальноприйняті реакції ідентифікації, для чого попередньо готували етанольно-водні витяжки [30, 76].

Позитивний результат усіх якісних реакцій показав наявність даної групи біологічно активних речовин у досліджуваній сировині [184].

Методом ТШХ було встановлено наявність у мильнянки лікарської трави ізокверцитрину і кемпферолу; в коренях – кверцетину. У чорнобривців

золотистих траві було виявлено ізокверцитрин, кверцетин і кемпферол. Плями на хроматограмах були жовтого та жовто-коричневого кольору, їх значення Rf співпадали зі значеннями Rf ФСЗ. Не виявлено у досліджуваній сировині лютеоліну і гіперозиду.

Кількісний вміст флавоноїдів у досліджуваній сировині в перерахунку на рутин визначено спектрофотометричним методом (табл. 3.16).

Таблиця 3.16 – Кількісний вміст флавоноїдів у сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих (% , n=5)

Назва сировини	Кількісний вміст, % у перерахунку на абсолютно суху сировину
МЛТ	2,86 ± 0,11
МЛК	0,69 ± 0,02
ЧЗТ	4,18 ± 0,57

Результати досліджень показали, що чорнобривців золотистих трава містить найбільшу серед досліджуваних зразків сировини кількість флавоноїдів – 4,18 %, найменшу кількість флавоноїдів містять мильнянки лікарської корені – 0,69 %, що в 4,1 рази менше ніж у траві мильнянки.

У досліджуваній сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих методом ВЕРХ виявлено індивідуальні флавоноїди та встановлено їх кількісний вміст. Результати досліджень наведено на рисунках 3.23-3.25.

Якісний склад і кількісний вміст флавоноїдів також встановлено методом ВЕРХ на хроматографі *Agilent 1200 3 D LC System Technologies* (США).

Результати дослідження показали, що у надземній частині мильнянки лікарської ідентифіковано – ізокверцитрин (62,93 мкг/г) і кемпферол (4,85 мкг/г) (3.21), у підземній – кверцетин, вміст якого становив 109,98 мкг/г (рис. 3.23) [184]. Слід відмітити, що досліджувана рослина містить незначну кількість сполук флавоноїдної природи [44].

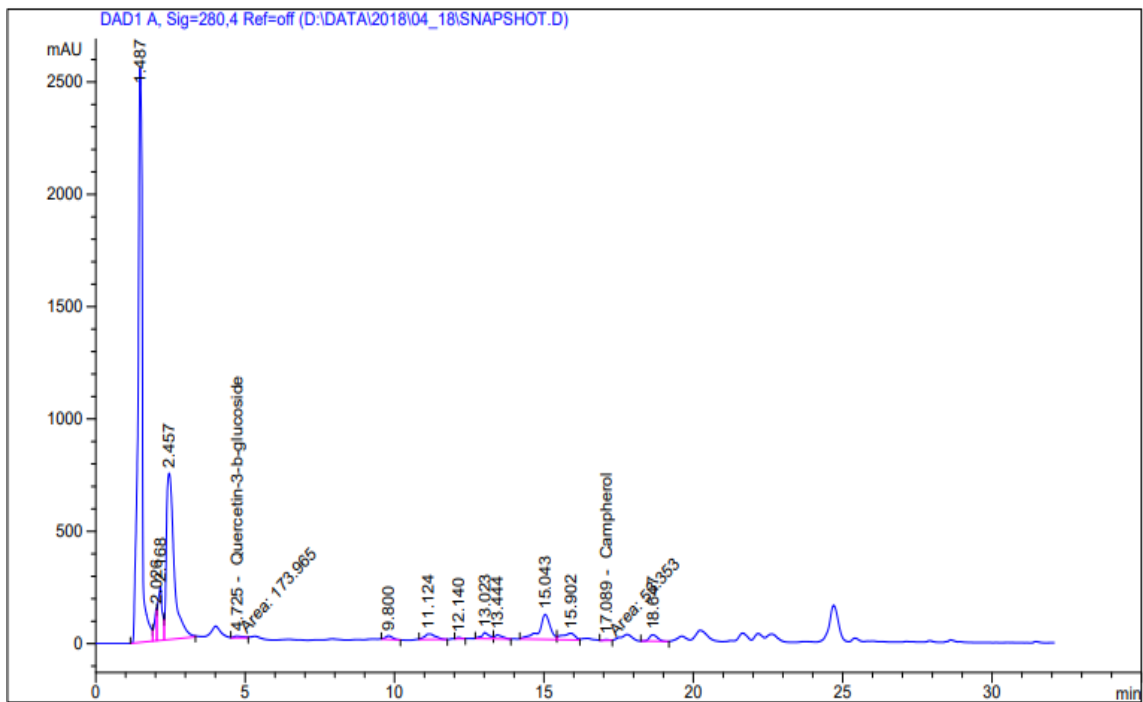


Рисунок 3.23 – ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів мильнянки лікарської трави

($\lambda = 280 \text{ нм}$)

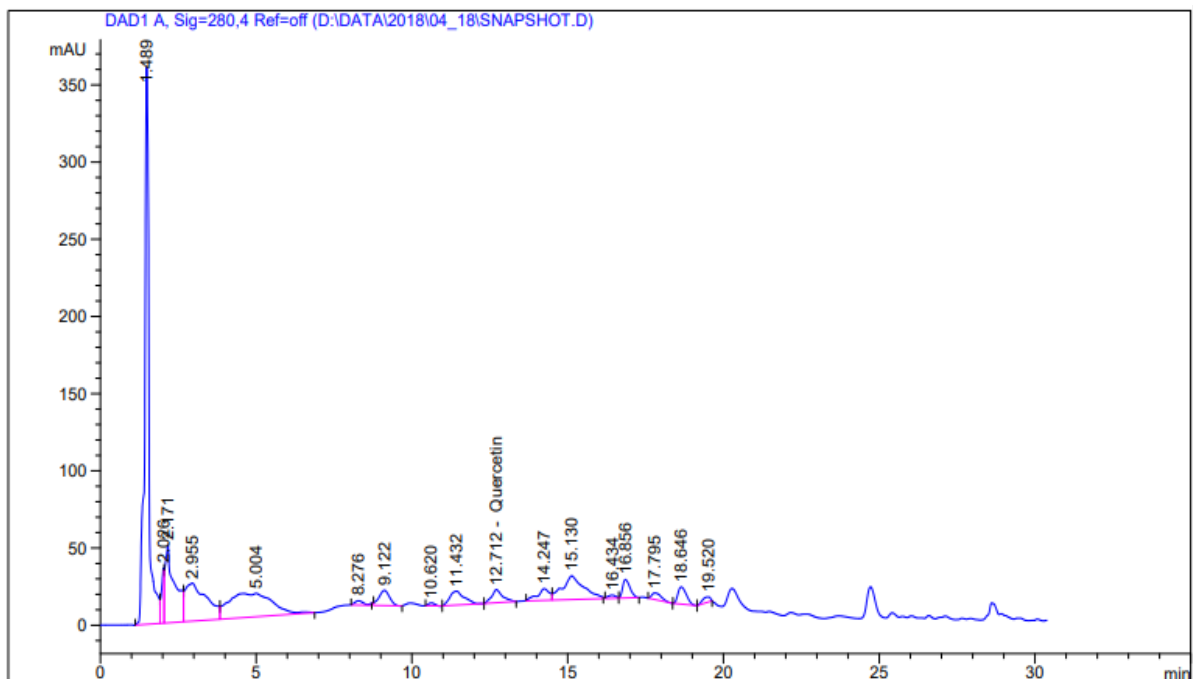


Рисунок 3.24 – ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів мильнянки лікарської коренів

($\lambda = 280 \text{ нм}$)

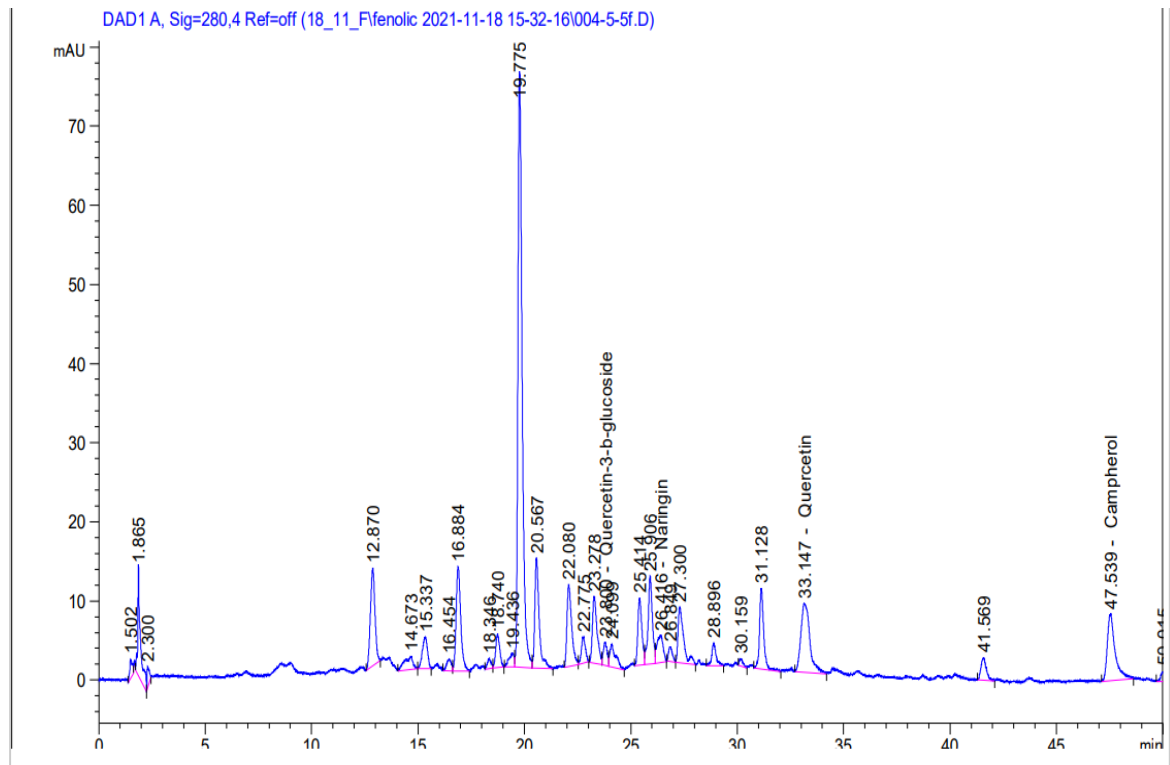


Рисунок 3.25 – ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів чорнобривців золотистих трави ($\lambda = 280$ нм)

Результати ВЕРХ-аналізу показали наявність в чорнобривців золотистих траві ізокверцитрину (68,32 мкг/г), нарингіну (2560,38 мкг/г), кемпферолу (136,71 мкг/г) і значного вмісту кверцетину (787,05 мкг/г).

З джерел літератури відомо, що кверцетин має широке використання в медичній практиці. У зв'язку із широким спектром фармакодинаміки та низькою токсичністю препарати кверцетину давно привертають увагу дослідників. Найважливішими властивостями цих препаратів є потужні антиоксидантні, імуномодулювальні, протизапальні та противірусні властивості [99]. Кверцетин насамперед є скавенджером вільних радикалів та має здатність активувати ферменти власного антиоксидантного захисту організму. Він чинить протизапальну дію, що зумовлено блокадою ліпооксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти, зниженням синтезу лейкотрієнів, серотоніну та інших медіаторів запалення. Кверцетин підвищує активність фагоцитів, Т- і

В-лімфоцитів та продукцію антитіл, знижуючи таким чином прояви вторинного імунodefіциту [99, 220].

3.2.1.4 Визначення дубильних речовин методом ВЕРХ

Для виявлення дубильних речовин у сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих використовували водні витяжки. Відповідно до ДФУ проводили загальновідомі реакції ідентифікації [32].

Реакція з розчином феруму (III) амоній сульфату (темно-зелене забарвлення) показала наявність конденсованих дубильних речовин у досліджуваних об'єктах. Біла каламуть у результаті реакції з 1% розчином желатини та білий аморфний осад з 1 % розчином хініну гідрохлориду також свідчили про наявність дубильних речовин у досліджуваних рослинах.

Результати виявлення та визначення індивідуальних компонентів дубильних речовин у мильнянки лікарської трави і коренях та у чорнобривців золотистих трави методом ВЕРХ наведено на рисунках 3.26-3.28 та в таблиці 3.17.

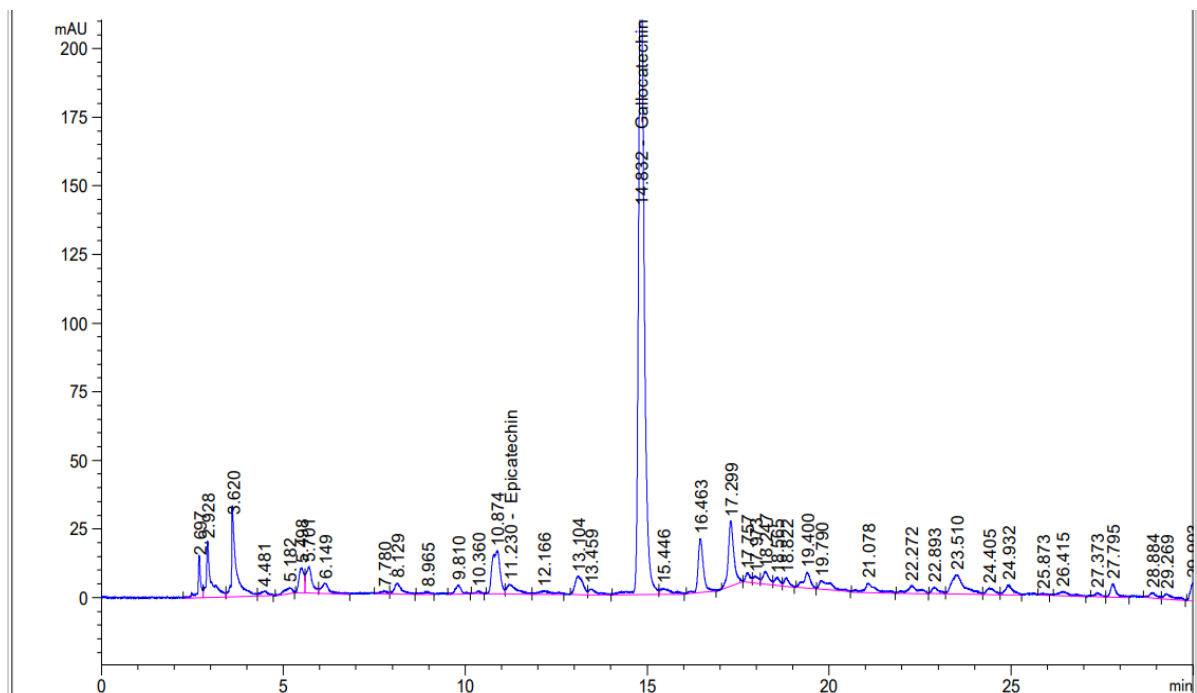


Рисунок 3.26 – ВЕРХ-хроматограма компонентів дубильних речовин

мельнянки лікарської трави

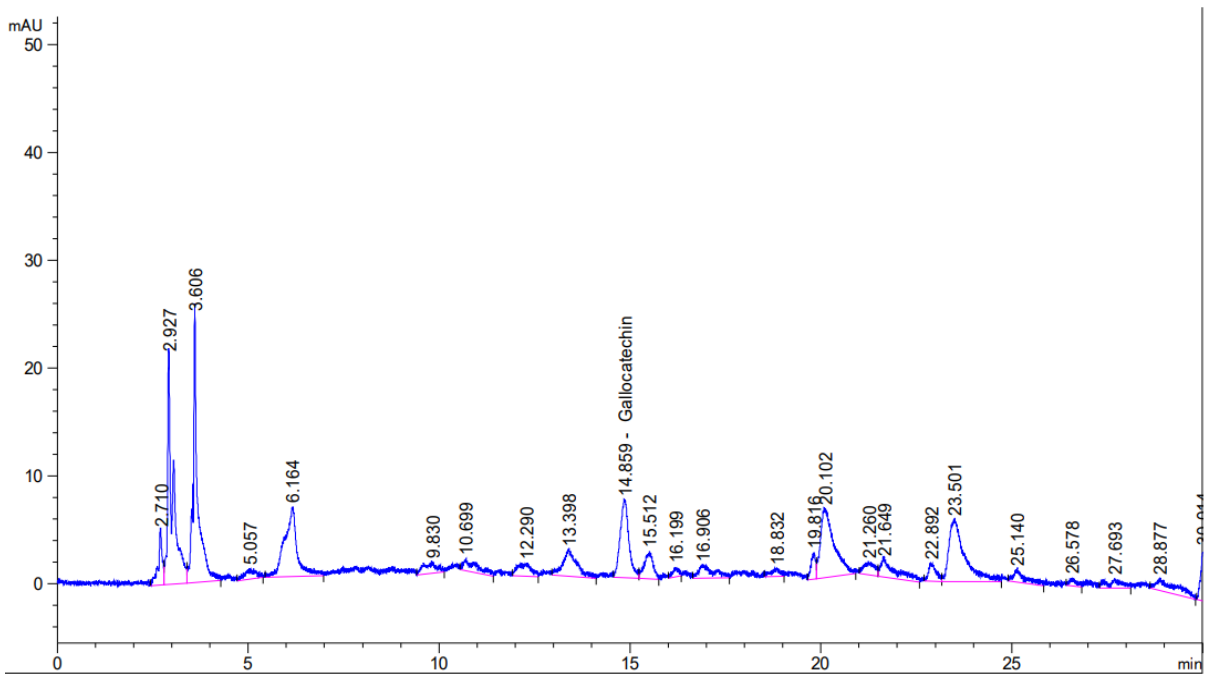


Рисунок 3.27 – ВЕРХ-хроматограма компонентів дубильних речовин
мільнянки лікарської коренів

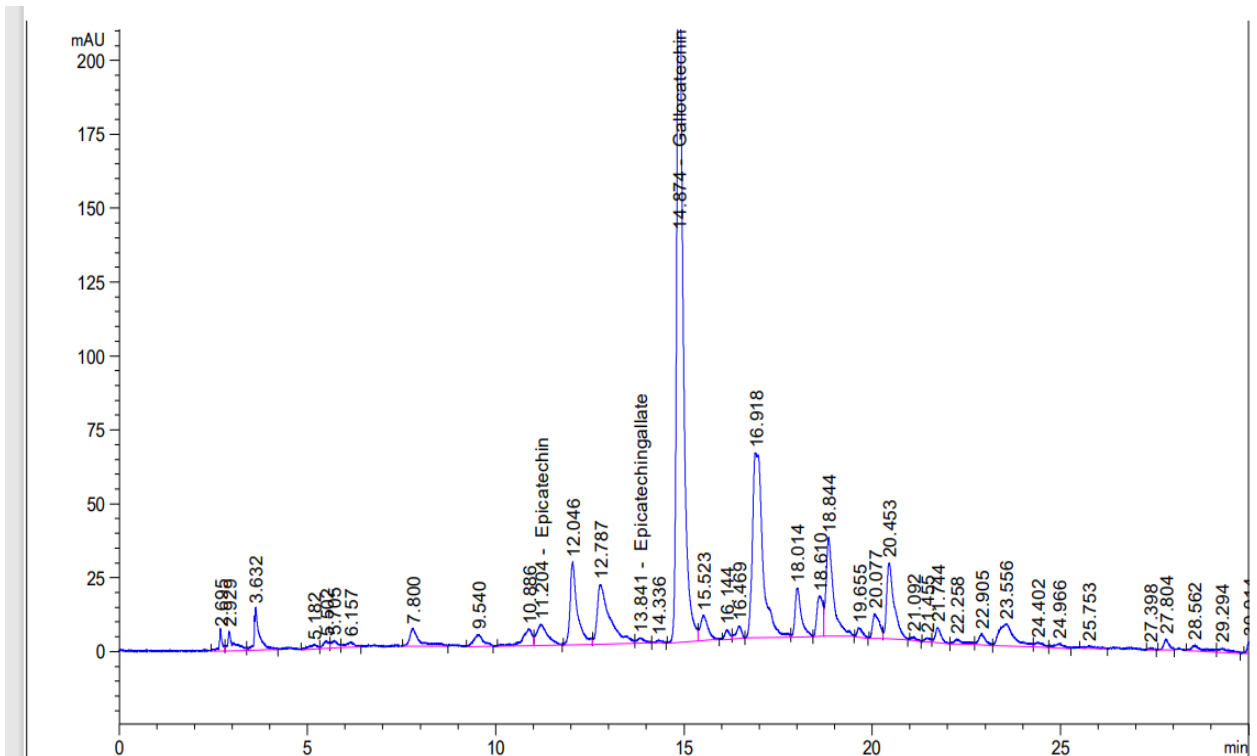


Рисунок 3.28 – ВЕРХ-хроматограма компонентів дубильних речовин
чорнобривців золотистих трави

Таблиця 3.17 – Якісний склад та кількісний вміст компонентів дубильних речовин у сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих (ВЕРХ)

БАР	Кількісний вміст, мкг/г		
	Мильнянка лікарська		Чорнобривці золотисті
	Трава	Корені	Трава
Галокатехін	5838,14	174,77	6169,00
Епікатехін	155,75	н/в	307,46
Катехін	н/в	н/в	н/в
Епікатехін галат	н/в	н/в	56,66
Пірокатехін	н/в	н/в	н/в
Примітка. н/в – не виявлено.			

За результатом ВЕРХ-аналізу у мильнянки лікарської траві ідентифіковано та визначено кількісний вміст таких компонентів дубильних речовин: галокатехіну та епікатехіну, вміст яких становив 5838,14 мкг/г і 155,75 мкг/г. У чорнобривців золотистих траві, окрім галокатехіну (6169,00 мкг/г) та епікатехіну (307,46 мкг/г), виявлено і встановлено кількісний вміст епікатехін галату (56,66 мкг/г). Мильнянки лікарської корені містили лише не значну кількість галокатехіну – 174,77 мкг/г.

В усіх досліджуваних об'єктах не виявлено катехіну і пірокатехіну, у мильнянки лікарської траві – епікатехін галату, у коренях даного виду – епікатехін галату та епікатехіну (див. табл. 3.17).

3.2.1.5 Визначення летких сполук

Якісний склад і кількісний вміст летких сполук мильнянки лікарської траві і коренів досліджували на хроматографі Agilent Technology 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973N.

Результати представлено на рисунках 3.29 і 3.30.

У мильнянки лікарської траві виявлено 20 компонентів летких сполук, з яких ідентифіковано 7, відсоток збігу яких становив 80-98 %; в коренях

виявлено 13 компонентів, ідентифіковано – 6, відсоток збігу яких становив 90-98 %.

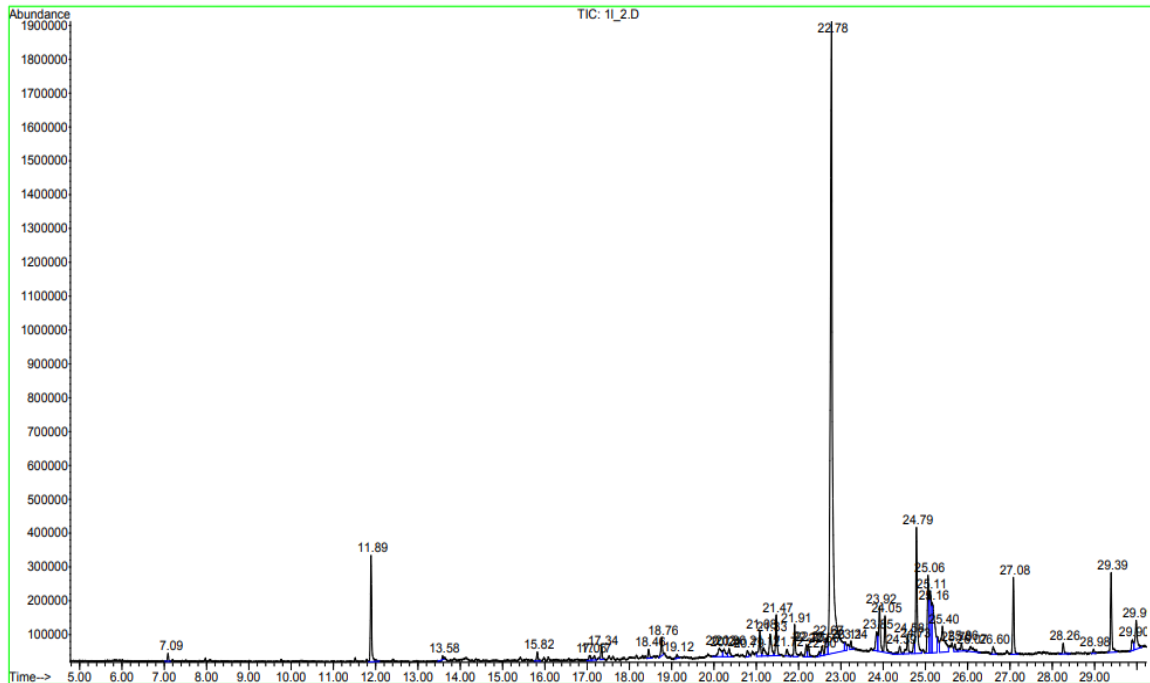


Рисунок 3.29 – Хроматограма летких сполук мильнянки лікарської трави

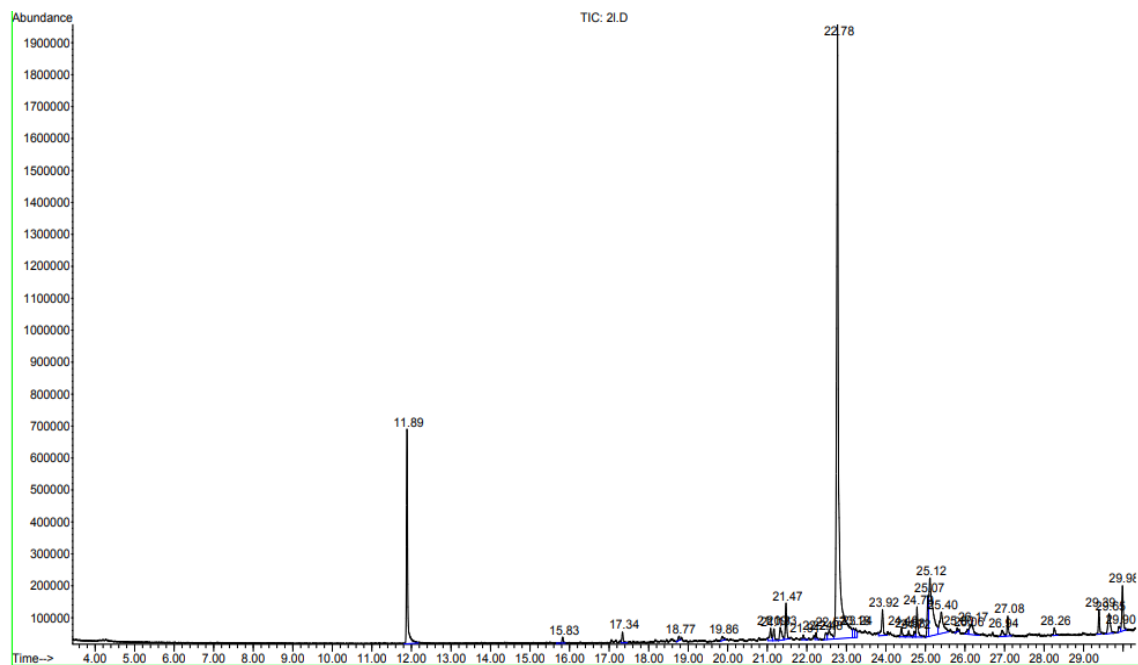


Рисунок 3.30 – Хроматограма летких сполук мильнянки лікарської коренів

Компонентний склад обох досліджуваних об'єктів представлений в основному парафіновими вуглеводнями та естерами жирних кислот.

У мильнянки лікарської трави і коренях виявлено дитерпеновий аліфатичний спирт фітол, вміст якого у траві становив 16,71 мкг/г, у коренях його було в 10 разів менше. Відомо, що фітол входить до складу хлорофілу, вітаміну Е, вітаміну К₁, служить стимулятором росту для молочнокислих бактерій [24, 122].

Значну роль серед летких сполук рослин відіграють ефірні олії. Ефірні знайшли широке використання в медицині, косметології та харчовій промисловості. Вони проявляють антимікробні, антиоксидантні, антисептичні, спазмолітичні, седативні, протизапальні, відхаркувальні властивості [26, 62, 141, 179, 180, 181, 228].

У результаті досліджень виявлено 28 компонентів летких сполук чорнобривців золотистих трави, з яких ідентифіковано – 14 (рис. 3.31; табл. 3.18).

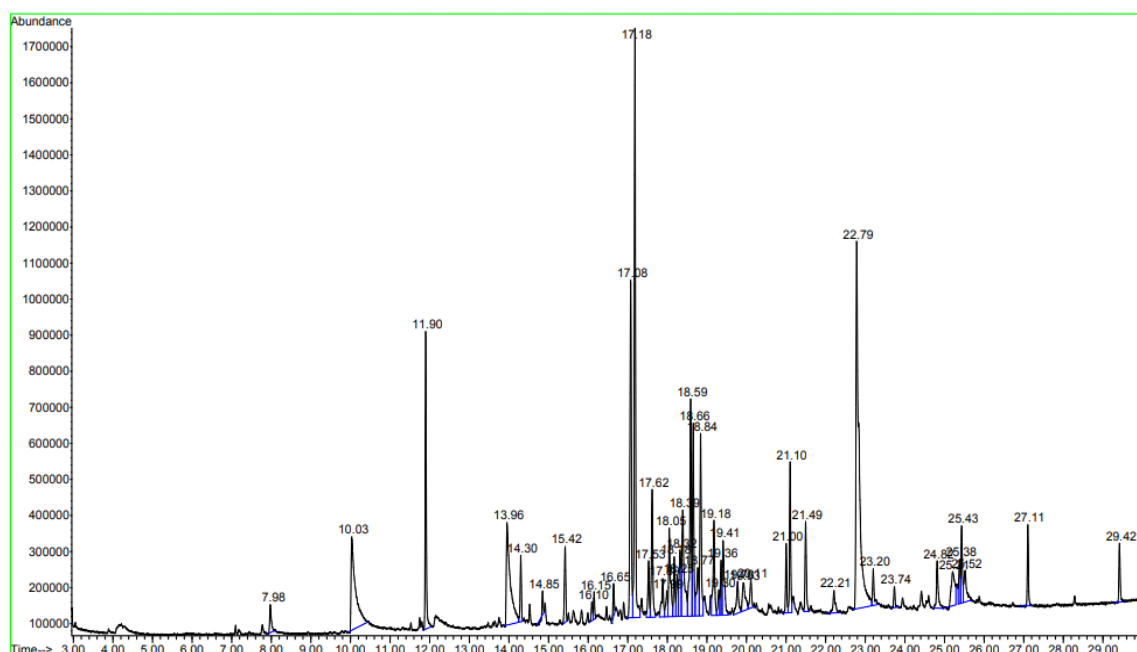


Рисунок 3.31 – Хроматограма летких сполук чорнобривців золотистих трави

Таблиця 3.18 – Компонентний склад летких сполук чорнобривців золотистих трави

№ за/п	Час виходу, хв	Ідентифіковані компоненти ефірної олії	Кількісний вміст, мг/кг
	11.89	тридекан	BC
1.	7.96	ліналоол	3,38
2.	9.98	естрагол	29,76
3.	13.97	вератрол	28,60
4.	14.85	β -фарнезен	1,23
5.	16.10	ізокадинен	1,73
6.	17.07	спатуленол	35,76
7.	18.18	α -аморфен	6,32
8.	18.65	валеранон	17,95
9.	21.10	фітон	13,14
10.	27.11	гептадекан	6,64
11.	29.42	н-пентакозан	62,70

Переважаючими компонентами ефірної олії досліджуваної трави є н-пентакозан (62,70 мг/кг), спатуленон (35,76 мг/кг), естрагол (29,76 мг/кг), вератрол (28,60 мг/кг), валеранон (17,95 мг/кг).

3.2.1.6 Визначення сапонінів

Сапоніни – природні поверхнево активні речовини, в основному рослинного походження, з ліпофільними агліконовими і гідрофільними глікозидними групами, які використовують у медичній практиці як відхаркувальні, сечогінні, антиалергічні, протівірусні, протипухлинні засоби [100, 250]. Більшість з них підсилює секреторну діяльність залоз, сприяє всмоктуванню інших речовин, впливає на водно-сольовий обмін. Сапоніни також тонізують діяльність центральної нервової системи, проявляють гіпотензивний, протизапальний, антимікробний, протиалергічний і кортикостероїдний ефекти. У джерелах наукової літератури є також інформація

про адаптогенну, антисклеротичну і гіпоглікемічну активність сапонінів [17, 197, 215, 272].

Поява стійкої піни та позитивні реакції з 10 % розчином основного плюмбу ацетату і 1 % етанольним розчином холестерину свідчили про наявність сапонінів у досліджуваній сировині мильнянки лікарської.

При визначенні хімічної природи сапонінів результати досліджень показали, що мильнянки лікарської трава і корені містять сапоніни тритерпенового ряду.

Методом УВЕРХ-МС у досліджуваних зразках мильнянки лікарської ідентифіковано 23 сапоніни, 19 з яких було раніше ідентифіковано, що співпадає з даними літератури (табл. 3.19). Кількісний вміст виділених сапонінів представлено у таблиці 3.20.

Якісний склад сапонінів та інших БАР мильнянки лікарської трави і коренів був однаковий, відрізнялися вони лише за кількісним вмістом. Фенольні речовини були представлені здебільшого відомим С-глікозидним флавоноїдом – сапонарином (RT=4,15 хв (m/z 593 [M-H]-) у траві. Корені містили неідентифіковані похідні ферулової кислоти (m/z 561 [M-H]- (RT = 5,47 і 6,34 хв)) і неідентифікований флавоноїд (m/z 573 [M-H]- (RT = 6,64 хв)).

Хроматограма сапонінів мильнянки лікарської трави і коренів представлена на рисунках 3.32-3.33.

Розділення за допомогою колонкової хроматографії екстрактів, отриманих із водних відварів коренів і трави *S. officinalis* призвело до отримання 4 різних фракцій для кожної частини рослини. Сполуки, що елюювалися 1-5 % ацетонітрилом, були переважно цукрами та простими органічними кислотами, 10-25 % – фенольними сполуками (фенольні кислоти та флавоноїди), 30-50 % фракції для надземної частини містили сапоніни, а для коренів – фракції 30-55 %. Решта фракцій складалася з неполярних компонентів (хлорофілів, жирних кислот, каротинів).

Таблиця 3.19 – Орієнтовна ідентифікація тритерпеноїдних сапонінів у траві і коренях мильнянки лікарської методом ультрависокоєфективної рідинної хроматографії-мас-спектрометрії

№ за/п	MW	RT, хв	m/z, [M-H] ⁻	Формула	Хімічна назва	Тривіальна назва	Л-ра
1	2	3	4	5	6	7	8
1	1445.5	10.08	1443	C ₆₅ H ₁₀₄ O ₃₅	3-О-β-D-ксилопіранозил-16α-гідроксигіпсогенова кислота-28-О-[β-D- глюкопіранозил-(1→3)]-[α-D-галактопіранозил-(1→6)-α-D- галактопіранозил-(1→6)-β-D- глюкопіранозил-(1→6)]-β-D- глюкопіранозид	–	[233]
2	1283.4	10.7	1281	C ₅₉ H ₉₄ O ₃₀	3-О-β-D-ксилопіранозил-16α-гідроксигіпсогенова кислота-28-О-α-D-галактопіранозил-(1→6)-β-D-глюкопіранозил-(1→6)-[β-D- глюкопіранозил-(1→3)]-β-D-глюкопіранозид	Сапонаріозид I	[218]
3	989.1	10.85	987	C ₄₈ H ₇₆ O ₂₁	3,4-секо-16α-гідроксигіпсогенова кислота-28-О-β-D- глюкопіранозил-(1→3)-[β-D-глюкопіранозил-(1→6)]-β-D- глюкопіранозид	Сапонаріозид К	[218]
4	1429.5	11.2	1427		невідома	–	[176]
5	1267.4	11.72	1265	C ₅₉ H ₉₄ O ₂₉	3-О-β-D-ксилопіранозил-гіпсогенна кислота-28-О-α-D- галактопіранозил-(1→6)-β-D-глюкопіранозил-(1→6)-[β-D- глюкопіранозил-(1→3)]-β-D-глюкопіранозид	Сапонаріозид С	[213]
6	1283.4	11.84	1281	C ₅₉ H ₉₄ O ₃₀	3-О-β-D-ксилопіранозил-16α-гідроксигіпсогенова кислота-28-О-β-D-глюкопіранозил-(1→2)-β-D-глюкопіранозил-(1→6)-[β-D- глюкопіранозил-(1→3)]-β-D-глюкопіранозид	Сапонаріозид F	[213]
7	1121.2	11.84	1119	C ₅₃ H ₈₄ O ₂₅	3-О-β-D-ксилопіранозил-16α-гідроксигіпсогенова кислота-28-О-β-D-глюкопіранозил-(1→6)-[β-D-глюкопіранозил-(1→3)]-β-D- глюкопіранозид	Сапонаріозид G	[213]
8	959.1	11.96	957	C ₄₇ H ₇₄ O ₂₀	3-О-β-D-ксилопіранозил-16α-гідроксигіпсогенова кислота-28-О-[β-D-глюкопіранозил-(1→6)]-β-D-глюкопіранозид	–	[198]

Продовження таблиці 3.19

1	2	3	4	5	6	7	8
9	1267.4	12.7	1265	C ₅₉ H ₉₄ O ₂₉	3-О-β-D-ксилопіранозил-гіпсогенна кислота-28-О-β-D-глюкопіранозил-(1→2)-β-D-глюкопіранозил-(1→6)-[β-D-глюкопіранозил-(1→3)]-β-D-глюкопіранозид	Сапонаріозид D	[213]
10	1881.9	12.75	1879		невідома	–	
11	1105.2	12.95	1103	C ₅₃ H ₈₄ O ₂₄	3-О-β-D-ксилопіранозил-гіпсогенова кислота 28-О-β-D-глюкопіранозил-(1→3)-[β-D-глюкопіранозил-(1→6)]-β-D-глюкопіранозид	Сапонаріозид L	[218]
12	796.9	14.04	795	C ₄₁ H ₆₄ O ₁₅	3-О-β-D-ксилопіранозил-16α-гідроксигіпсогенова кислота 28-О-β-D-глюкопіранозид	Діахіненозид B	[172]
13	1689.7	14.54	1687	C ₇₆ H ₁₂₀ O ₄₁	3-О-β-D-галактопіранозил-(1→2)-[β-D-ксилопіранозил-(1→3)]-β-D-глюкуронопіранозил-квілаєва кислота-28-О-β-D-глюкопіранозил-(1→3)-β-D-ксилопіранозил-(1→4)-α-L-рамнопіранозил-(1→2)-[β-D-хіновопіранозил-(1→4)]-β-D-фукопіранозид	–	[218, 236]
14	1659.8	14.65	1687		невідома	–	[176]
15	1821.9	15.33	1819		невідома	–	[176]
16	1791.9	15.45	1789		невідома	–	[176]
17	1701.8	16.2	1699	C ₇₇ H ₁₂₀ O ₄₁	3-О-β-D-галактопіранозил-(1→2)-[β-D-ксилопіранозил-(1→3)]-β-D-глюкуронопіранозил-квілаєва кислота-28-О-β-D-ксилопіранозил-(1→4)-α-L-рамнопіранозил-(1→2)-[β-D-ксилопіранозил-(1→3)-(4-О-ацетил)-β-D-хіновопіранозил-(1→4)]-β-D-фукопіранозид	–	[197]
18	1863.9	16.69	1861	C ₈₃ H ₁₃₀ O ₄₆	3-О-β-D-галактопіранозил-(1→2)-[β-D-ксилопіранозил-(1→3)]-β-D-глюкуронопіранозил-квілаєва кислота-28-О-β-D-глюкопіранозил-(1→3)-β-D-ксилопіранозил-(1→4)-α-L-рамнопіранозил-(1→2)-[β-D-ксилопіранозил-(1→3)-(4-О-ацетил)-β-D-хіновопіранозил-(1→4)]-β-D-фукопіранозид	–	[198]

Продовження таблиці 3.19

1	2	3	4	5	6	7	8
19	1731.8	16.76	1729	C ₇₈ H ₁₂₂ O ₄₂	3-О-β-D-галактопіранозил-(1→2)-[β-D-ксилопіранозил-(1→3)]-β-D-глюкуронопіранозил-квілаєва кислота-28-О-β-D-глюкопіранозил-(1→3)-β-D-ксилопіранозил-(1→4)-α-L-рамнопіранозил-(1→2)-[(4-О-ацетил)-β-D-хіновопіранозил-(1→4)]-β-D-фукопіранозид		[198]
20	1833.9	16.81	1831	C ₈₂ H ₁₂₈ O ₄₅	3-О-β-D-галактопіранозил-(1→2)-[β-D-ксилопіранозил-(1→3)]-β-D-глюкуронопіранозил-квілаєва кислота-28-О-β-D-ксилопіранозил-(1→3)-β-D-ксилопіранозил-(1→4)-α-L-рамнопіранозил-(1→2)-[β-D-ксилопіранозил-(1→3)-(4-О-ацетил)]-β-D-хіновопіранозил-(1→4)]-β-D-фукопіранозид	Сапонаріозид А	[212]
21	1701.8	16.88	1699	C ₇₇ H ₁₂₀ O ₄₁	3-О-β-D-галактопіранозил-(1→2)-[β-D-ксилопіранозил-(1→3)]-β-D-глюкуронопіранозил-квілаєва кислота-28-О-β-D-ксилопіранозил-(1→3)-β-D-ксилопіранозил-(1→4)-α-L-рамнопіранозил-(1→2)-[(4-О-ацетил)-β-D-хіновопіранозил-(1→4)]-β-D-фукопіранозид	Сапонаріозид В	[213]
22	1905.9	17.08	1903	C ₈₅ H ₁₃₂ O ₄₇	3-О-β-D-галактопіранозил-(1→2)-[β-D-ксилопіранозил-(1→3)]-β-D-глюкуронопіранозил-квілаєва кислота-28-О-(6-О-ацетил)-β-D-глюкопіранозил-(1→3)-[β-D-ксилопіранозил-(1→4)]-α-L-рамнопіранозил-(1→2)-[β-D-ксилопіранозил-(1→3)]-(4-О-ацетил)-β-D-хіновопіранозил-(1→4)]-β-D-фукопіранозид	–	[197]
23	1773.8	17.19	1771	C ₈₀ H ₁₂₄ O ₄₃	3-О-β-D-галактопіранозил-(1→2)-[β-D-ксилопіранозил-(1→3)]-β-D-глюкуронопіранозил-квілаєва кислота-28-О-(6-О-ацетил)-β-D-глюкопіранозил-(1→3)-[β-D-ксилопіранозил-(1→4)]-α-L-рамнопіранозил-(1→2)-[(4-О-ацетил)-β-D-хіновопіранозил-(1→4)]-β-D-фукопіранозид	–	[198]

Примітка. MW – молекулярна маса; RT – час утримування.

Таблиця 3.20 – Кількісний вміст (мг/г) сапонінів у мильнянки лікарської трави і коренях (метод УВЕРХ-МС; $M \pm m$; $n=5$)

№ за/п	m/z, [M-Н] ⁻	RT, хв	Корені [мг/г]	Трава [мг/г]
1	1443	10.08	0,91 ± 0,13	–
2	1281	10.7	1,49 ± 0,14	–
3	987	10.85	0,03 ± 0,00	–
4	1427	11.2	0,31 ± 0,02	–
5	1265	11.72	1,39 ± 0,19	–
6	1281	11.84	0,45 ± 0,03	0,16 ± 0,02
7	1119	11.84	0,52 ± 0,07	–
8	957	11.96	0,07 ± 0,01	–
9	1265	12.7	1,61 ± 0,19	0,17 ± 0,01
10	1879	12.75	0,07 ± 0,01	–
11	1103	12.95	0,86 ± 0,10	0,03
12	795	14.04	0,26 ± 0,02	–
13	1687	14.54	0,19 ± 0,02	–
14	1657	14.65	0,19 ± 0,01	0,48 ± 0,04
15	1819	15.33	0,08 ± 0,01	–
16	1789	15.45	0,07 ± 0,01	–
17	1699	16.2	0,21 ± 0,02	0,74 ± 0,09
18	1861	16.69	6,99 ± 0,27	0,85 ± 0,1
19	1729	16.76	5,29 ± 0,50	0,26 ± 0,01
20	1831	16.81	5,92 ± 0,56	1,36 ± 0,18
21	1699	16.88	5,54 ± 0,30	12,15 ± 1,32
22	1903	17.08	0,42 ± 0,03	–
23	1771	17.19	0,89 ± 0,06	1,46 ± 0,08
Сумарний вміст			33,75 ± 0,97	16,21 ± 1,61

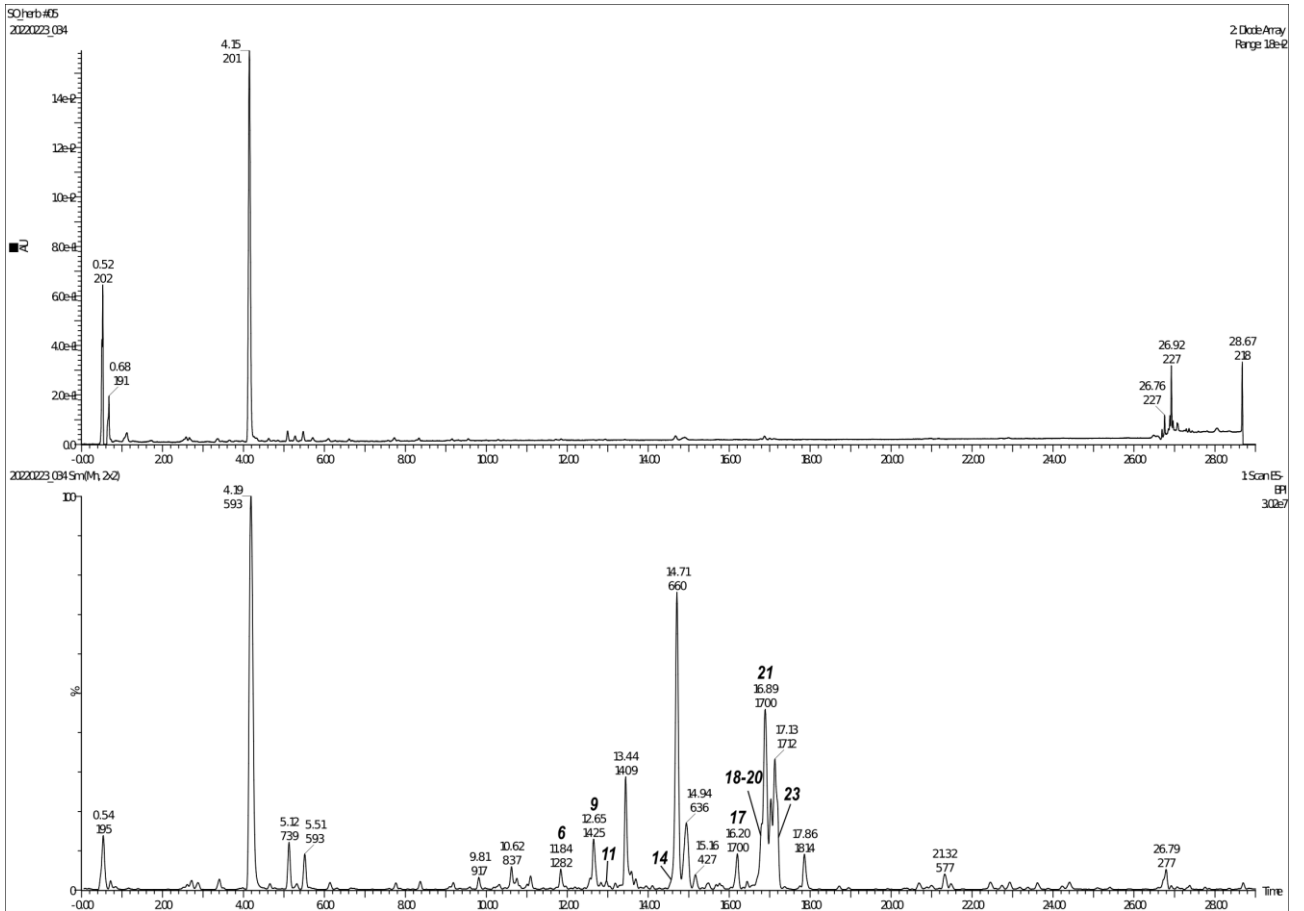


Рисунок 3.32 – Хроматограма сапонінів мильнянки лікарської трави

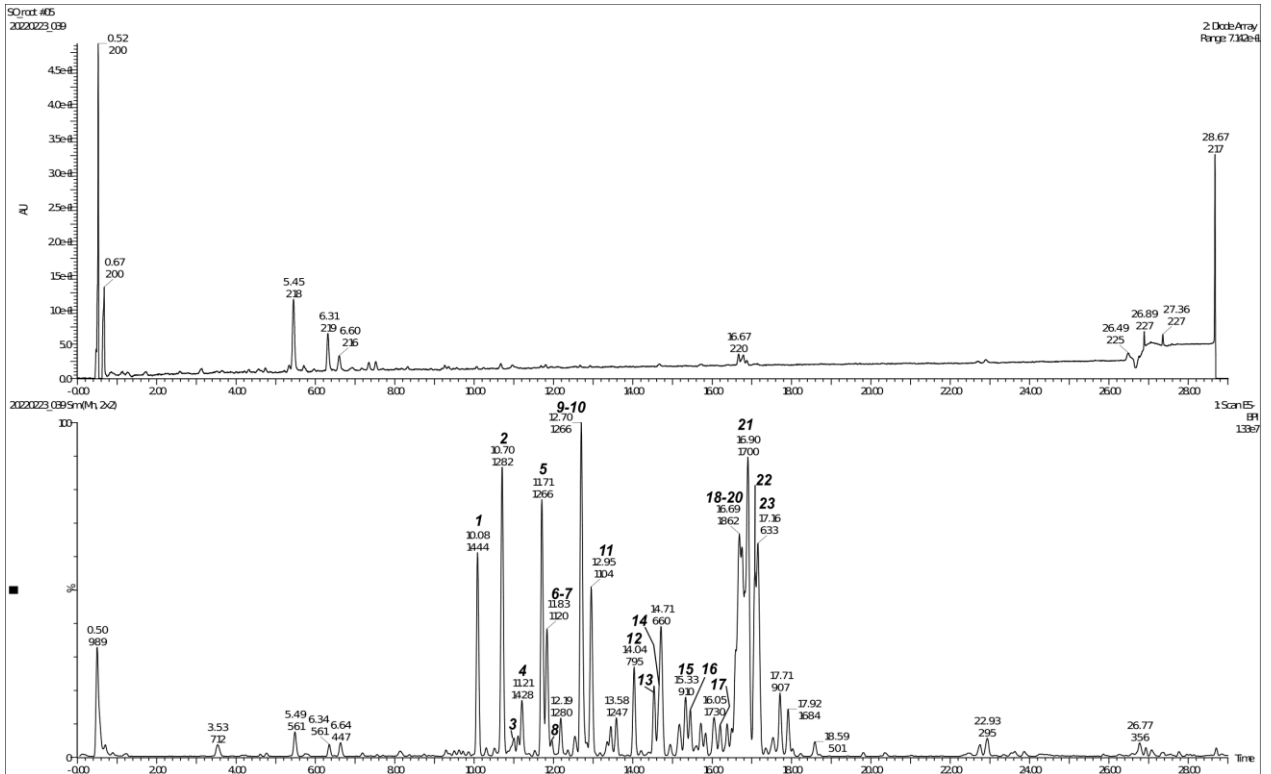


Рисунок – 3.33 Хроматограма сапонінів мильнянки лікарської коренів

У мильнянки лікарської коренях встановлено кількісний вміст індивідуальних сполук сапонінової природи, серед яких значний вміст мали 3-О-β-D-галактопіранозил-(1→2)-[β-D-ксилопіранозил-(1→3)]-β-D-глюкуронопіранозил-квілаєва кислота-28-О-β-D-глюкопіранозил-(1→3)-β-D-ксилопіранозил-(1→4)-α-L-рамнопіранозил-(1→2)-[β-D-ксилопіранозил-(1→3)-(4-О-ацетил)-β-D-хіновопіранозил-(1→4)]-β-D-фукопіранозид (6,99±0,27) мг/г, 3-О-β-D-галактопіранозил-(1→2)-[β-D-ксилопіранозил-(1→3)]-β-D-глюкуронопіранозил-квілаєва кислота-28-О-β-D-глюкопіранозил-(1→3)-β-D-ксилопіранозил-(1→4)-α-L-рамнопіранозил-(1→2)-[(4-О-ацетил)-β-D-хіновопіранозил-(1→4)]-β-D-фукопіранозид (5,29±0,50) мг/г, 3-О-β-D-галактопіранозил-(1→2)-[β-D-ксилопіранозил-(1→3)]-β-D-глюкуронопіранозил-квілаєва кислота-28-О-β-D-ксилопіранозил-(1→3)-β-D-ксилопіранозил-(1→4)-α-L-рамнопіранозил-(1→2)-[β-D-ксилопіранозил-(1→3)-(4-О-ацетил))-β-D-хіновопіранозил-(1→4)]-β-D-фукопіранозид або сапонаріозид А (5,92±0,56) мг/г і 3-О-β-D-галактопіранозил-(1→2)-[β-D-ксилопіранозил-(1→3)]-β-D-глюкуронопіранозил-квілаєва кислота-28-О-β-D-ксилопіранозил-(1→3)-β-D-ксилопіранозил-(1→4)-α-L-рамнопіранозил-(1→2)-[(4-О-ацетил)-β-D-хіновопіранозил-(1→4)]-β-D-фукопіранозид або сапонаріозид В (5,54±0,30) мг/г. Сапонаріозид А і сапонаріозид В у значних кількостях визначено у мильнянки лікарської трави, що становило (1,36±0,18) мг/г і (12,15±1,32) мг/г відповідно. Мильнянки лікарської корені містили значну кількість 3-О-β-D-галактопіранозил-(1→2)-[β-D-ксилопіранозил-(1→3)]-β-D-глюкуронопіранозил-квілаєва кислота-28-О-β-D-глюкопіранозил-(1→3)-β-D-ксилопіранозил-(1→4)-α-L-рамнопіранозил-(1→2)-[β-D-ксилопіранозил-(1→3)-(4-О-ацетил)-β-D-хіновопіранозил-(1→4)]-β-D-фукопіранозиду, сапонаріозиду А і сапонаріозиду В, вміст яких становив (6,99 ± 0,27) мг/г, (5,92 ± 0,56) мг/г і (5,54 ± 0,30) мг/г відповідно.

Вищий вміст сапонінів був у коренях і становив (4,3 ± 0,01) %, дещо менший – у траві і становив (4,0 ± 0,01) %.

Фракція сапонінів, отримана з надземної та підземної частин, була коричневого та білуватого кольору відповідно. Коричневе забарвлення фракції вказує на присутність поліфенольних залишків, які потребують подальшої процедури очищення за допомогою гель-фільтрації та одночасного зниження вмісту сапонінів в ареальній частині.

3.3 Визначення елементного складу сировини мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих

Лікарські рослини є найкращими природними джерелами мінеральних речовин. Макро- та мікроелементи є абсолютно необхідними та незамінними речовинами для нормальної життєдіяльності організму людини. В організмі людини елементи беруть участь в окисно-відновних процесах, у передаванні нервово-м'язових збуджень, позитивно впливають на імуногенез, забезпечують підтримання гомеостазу організму. Більшість елементів є важливими складовими БАР, якими є вітаміни, флавоноїди та ін. Такі елементи, як Cu, Fe, Mg, Zn, Mn, здатні утворювати комплекси з речовинами органічної природи. Входять до складу або ж активують до 300 ферментів [4, 54, 116].

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

У результаті аналізу в мильнянки лікарської траві було виявлено 12 елементів: 4 макро- (Ca, Mg, K, Na) та 8 мікроелементів (Fe, Zn, Cu, Cr, Mn, Ni, Se, Si), не виявлено кадмію; у підземних органах – 11 елементів – 4 макро- і 7 мікроелементів. У підземних органах не виявлено силіцію і кадмію (табл. 3.21) [59]. У чорнобривців золотистих траві виявлено 10 елементів: 4

макро- (Ca, Mg, K, Na) та 6 мікроелементів (Fe, Zn, Cu, Mn, Cd, Se, Si), не виявлено хрому, нікелю і силіцію.

Таблиця 3.21 – Елементний склад сировини мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих

ЛРС	Макроелементи, мг/кг									
	K	Ca	Mg	Na						
МЛТ	37646	213	304	82						
МЛК	8170	119	149	242						
ЧЗТ	12254	1864	938	139						
ЛРС	Мікроелементи, мг/кг									
	Cr	Mn	Fe	Zn	Cu	Cd	Se	Si	Ni	
МЛТ	2,1	13,8	415	7,1	4,8	н/в	16,3	24	9,1	
МЛК	1,9	13,5	536	6,0	3,3	н/в	1,67	н/в	8,9	
ЧЗТ	н/в	15,6	444	2,5	1,0	0,15	3,62	н/в	н/в	

Домінуючим у досліджуваній сировині мильнянки лікарської є калій, вміст якого у траві становив 37646 мг/кг, у підземних органах – 8170 мг/кг. У рослині спостерігається незначний вміст натрію – 82 мг/кг у траві і 242 мг/кг у підземних органах (рис. 3.34). У чорнобривців золотистих траві також спостерігали значний вміст калію – 12254 мг/кг. Натрію була також незначна кількість – 139 мг/кг. Високий вміст калію і незначний натрію позитивно впливає на скоротливу здатність серцевого м'яза, має діуретичний ефект, що дуже важливо при серцевих набряках [4, 67]. Можна вважати мильнянку лікарську і чорнобривці золотисті джерелом калію, який відіграє важливу роль у регуляції водно-сольового обміну, підтриманні тонуусу і автоматичному скороченні серцевого м'яза.

Мильнянки лікарської трава і чорнобривців золотистих трава містить також такий важливий макроелемент як магній, який, згідно джерел літератури,

бере участь у регулюванні енергетичних та пластичних реакцій, сприяє зміцненню серцево-судинної системи, запобігає ішемії та стенокардії. Магній виявляє заспокійливу дію та нормалізує сон [41, 67].

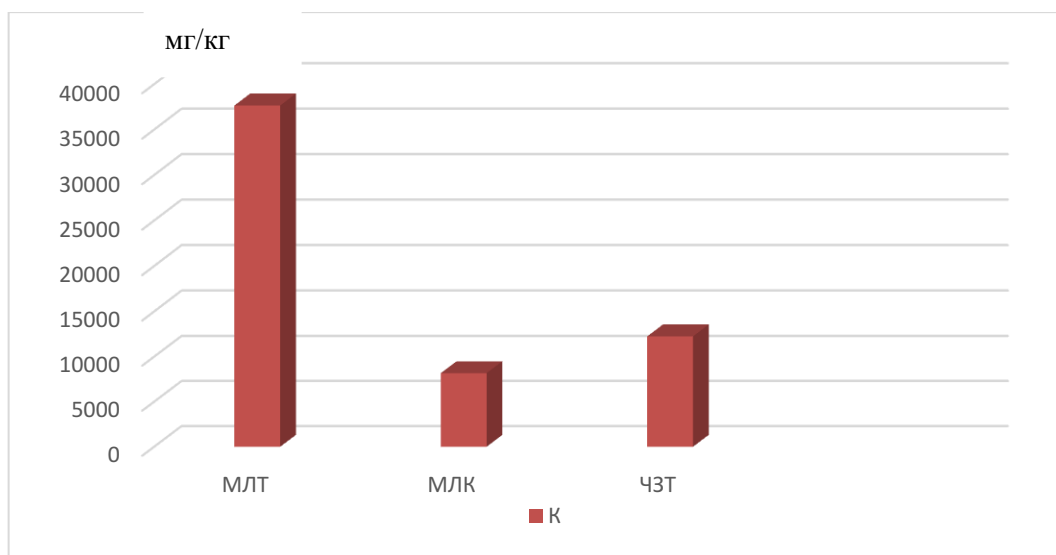


Рисунок 3.34 – Діаграма вмісту макроелементу калію у сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих

У надземній і підземній частині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих траві спостерігається значний вміст такого мікроелемента як феруму – 415 мг/кг, 536 мг/кг і 444 мг/кг, відповідно. Ферум – важливий мікроелемент, який бере участь у кровотворенні та тканинному диханні, входить до складу гемоглобіну крові [67, 273]. У мінімальних кількостях у досліджуваній сировині накопичуються купрум, цинк і манган. Мильнянки лікарської трава містить 163 мг/кг селену, який сприяє підвищенню імунітету у людей. Селен – важливий фактор біологічного захисту ендотелію судин, ДНК, хромосом, винятково важливий аліментарний засіб для запобігання ішемічній хворобі серця та гальмування розвитку атеросклерозу, утворення злоякісних пухлин.

В усіх досліджуваних об'єктах містився селен, який має здатність підвищувати імунітет у людей [273].

3.4 Визначення показників якості сировини мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих

З метою стандартизації нової лікарської рослинної сировини визначали втрату в масі при висушуванні, вміст золи загальної, вміст золи, нерозчинної в 10 % розчині кислоти хлоридної, використовуючи методики ДФУ [32].

Втрата в масі при висушуванні у мильнянки лікарської трави становила $(10,06 \pm 0,09)$ %, у мильнянки лікарської коренях – $(11,01 \pm 0,13)$ %, у чорнобривців золотистих траві – $(10,25 \pm 0,11)$ %; вміст загальної золи у мильнянки лікарської трави становив $(15,30 \pm 0,15)$ %, у мильнянки лікарської коренях – $(3,80 \pm 0,10)$ %, у чорнобривців золотистих траві – $(13,60 \pm 0,10)$ %; вміст золи, нерозчинної у 10 % розчині хлоридної кислоти, у мильнянки лікарської трави становив $(3,41 \pm 0,05)$ %, у мильнянки лікарської коренях – $(0,92 \pm 0,10)$ %, у чорнобривців золотистих траві – $(4,40 \pm 0,15)$ %.

Визначені показники якості використано для розробки проектів МКЯ на нову лікарську рослинну сировину – «Мильнянки лікарської трава».

3.5 Морфолого-анатомічні дослідження мильнянки лікарської трави

Морфолого-анатомічний аналіз передбачає встановленню основних специфічних макроскопічних (Ідентифікація А) та мікроскопічних (Ідентифікація В) діагностичних ознак рослинної сировини. У доступних нам джерелах наукової літератури інформація про анатомічну будову мильнянки лікарської трави відсутні.

3.5.1 Макроскопічні ознаки мильнянки лікарської трави

Різані або частково подрібнені частини пагонів, листків, суцвіть. Стебло прямостояче, голе або короткопушене, округле, гіллясте. Листки супротивні, довгасті, овально-ланцетні або еліптичні, з 3-5 добре помітними жилками, при

основі звужені у короткий черешок. Краї листків – з шерстистим опушенням. Поверхня листової пластинки гола або дещо опушена. Квітки правильні, двостатеві, білі або блідо-рожеві, зібрані у щиткоподібно-волотисті суцвіття. Пелюстки великі, відгин суцільний або нагорі виїмчастий (рис. 3.35 Б). Запах слабкий, приємний, ароматний. Смак гіркуватий.

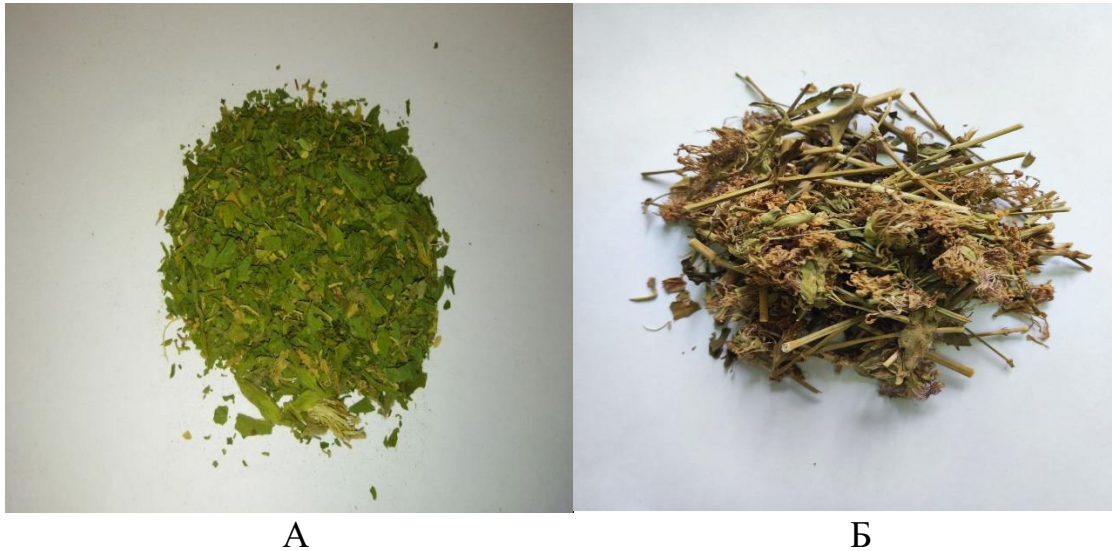


Рисунок 3.35 – Мильнянки лікарської трава (А – подрібнена, Б – різана)

3.5.2 Анатомічні діагностичні ознаки мильнянки лікарської трави

Листок. Клітини верхньої епідерми слабкозвивистостінні, майже прямостінні, полігональні (рис. 3.36). Клітини нижньої епідерми сильнозвивистостінні, з тонкими стінками, продиховий апарат аномоцитного типу (рис. 3.37). Трихоми відсутні на верхній та нижній епідермі листка. Діагностичною ознакою листків мильнянки є крупні включення у вигляді гострокінцевих друз кальцію оксалату (рис. 3.38).

Стебло. Покривна тканина представлена одноклітинним шаром живих нездерев'янілих клітин епідермісу, на якому поодинокі зустрічаються одно- та двоклітинні прості трихоми (рис. 3.39). Під шаром епідерми знаходиться вузька зона первинної кори з 3-4 шаровою пухкою коленхімою. Здерев'яніла частина стебла представлена широким шаром луб'яних волокон флоєми.

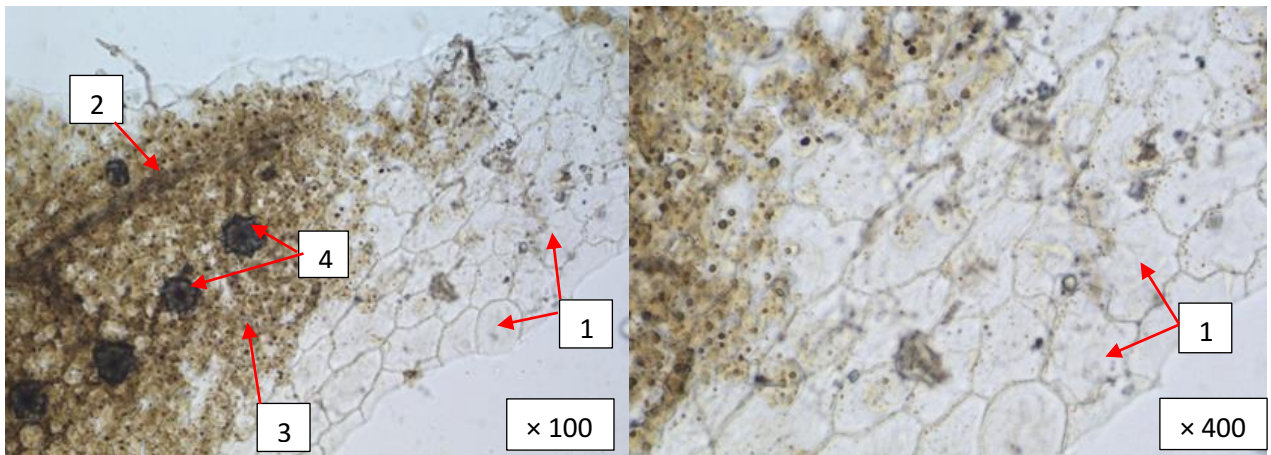


Рисунок 3.36 – Фрагменти верхньої епідерми листка *Saponaria officinalis* L. (1 – клітини епідерми, 2 – судини, 3 – мезофіл листка, 4 – друзи кальцію оксалату)

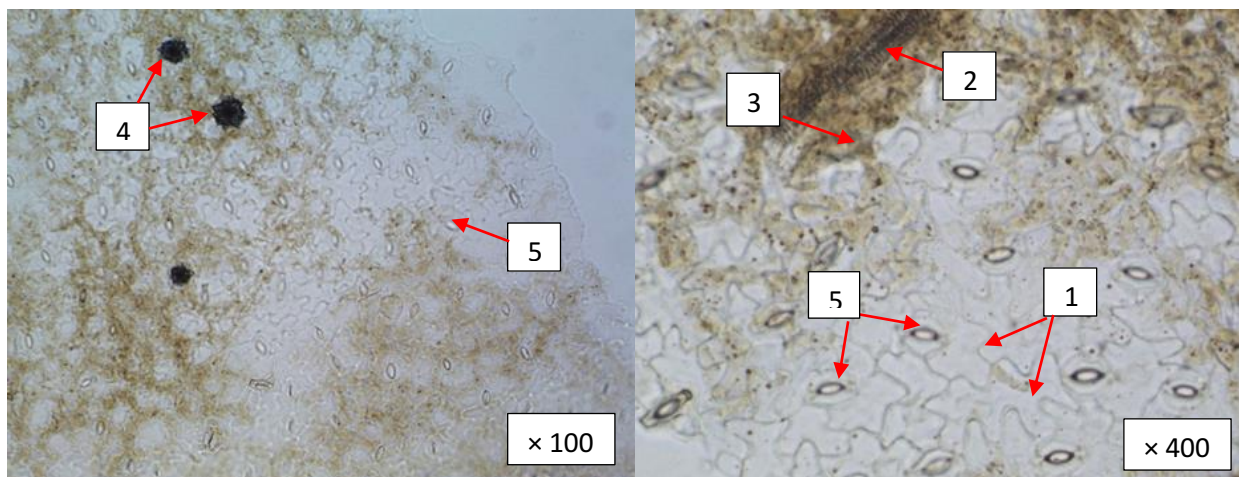


Рисунок 3.37 – Фрагменти нижньої епідерми листка *Saponaria officinalis* L. (1 – клітини епідерми, 2 – судини, 3 – мезофіл листка, 4 – друзи кальцію оксалату, 5 – продихи)

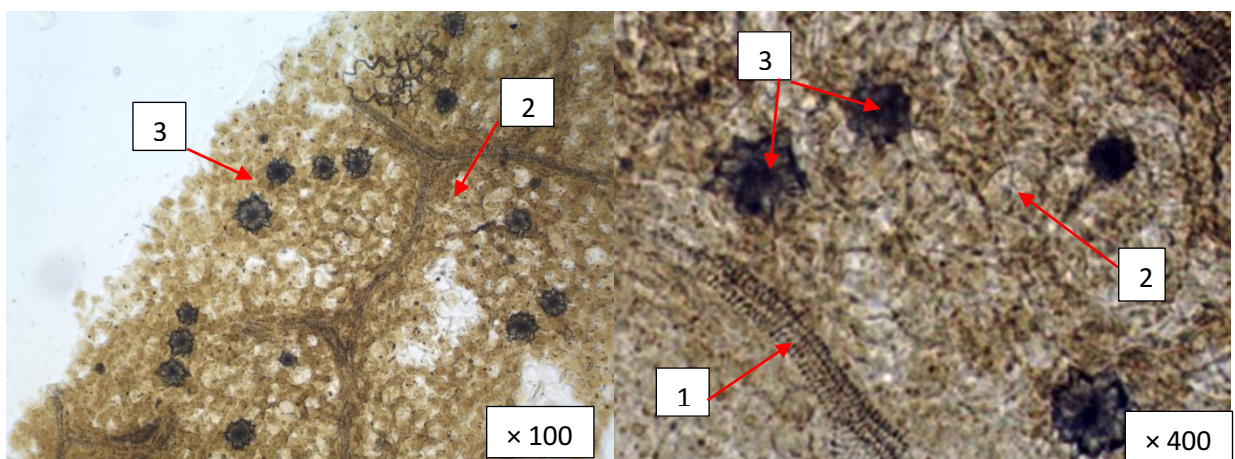


Рисунок 3.38 – Фрагменти нижньої епідерми листка *Saponaria officinalis* L. (1 – судини, 2 – мезофіл листка, 3 – друзи кальцію оксалату)

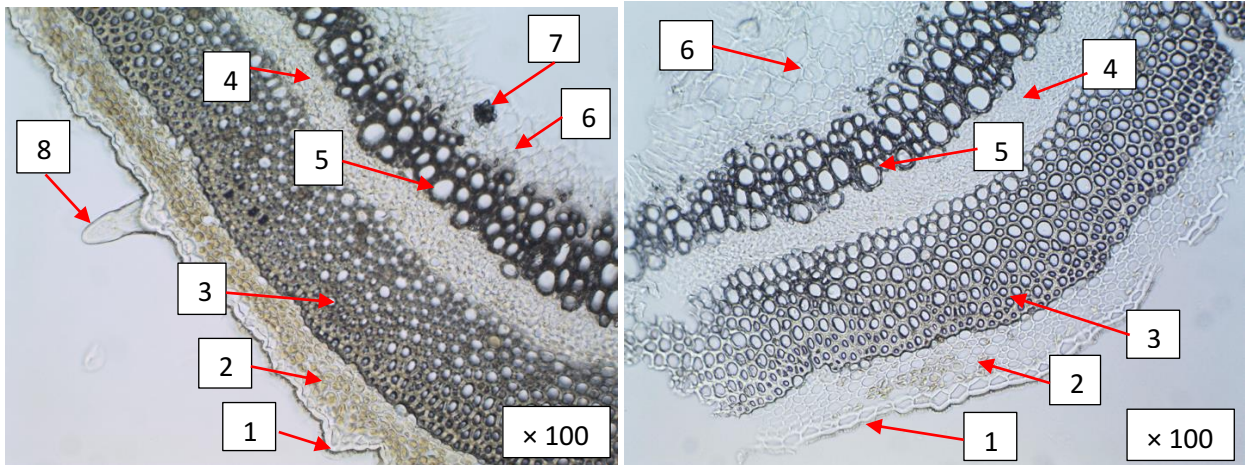


Рис. 3.39 – Фрагменти поперечного перерізу стебла *Saponaria officinalis* L. (1 – епідерма, 2 – первинна кора, 3 – луб’яні волокна флоеми, 4 – ситовидні трубки флоеми, 5 – судини ксилеми, 6 – паренхіма серцевини, 7 – друзи кальцію оксалату, 8 – двоклітинна трихома)

Провідні елементи флоеми (ситовидні трубки) розміщені суцільним кільцем під шаром луб’яних волокон. Провідні елементи ксилеми представлені переважно крупними судинами, трахеїди зустрічаються поодинокі. Стінки судин мають вторинне потовщення, деревні волокна практично відсутні. Клітини паренхіми серцевини живі, тонкостінні, в деяких знаходяться гострокінцеві друзи кальцію оксалату. В центрі стебла порожнина, серцевина відсутня. На епідермі стебла зрідка зустрічаються одно- та двоклітинні тонкостінні трихоми.

Квітка. На зовнішній та внутрішній епідермах чашолистика мильнянки лікарської зустрічаються прості багатоклітинні трихоми з кількома клітинами в розширеній основі, одноклітинні трихоми, сосочковидні вирости епідерми, в мезофілі чашолистика багато гострокінцевих друз кальцію оксалату (рис. 3.40, 3.41).

Клітини епідерми внутрішньої епідерми пелюстки мильнянки лікарської прямостінні, полігональні. При дослідженні пелюстки в полі зору зустрічається багато округлих пилкових зерен коричневого кольору з горбкуватою

поверхнею. Пилкові зерна мають одну чітку екваторіально витягнуту борозною з рівними (рис. 3.42).

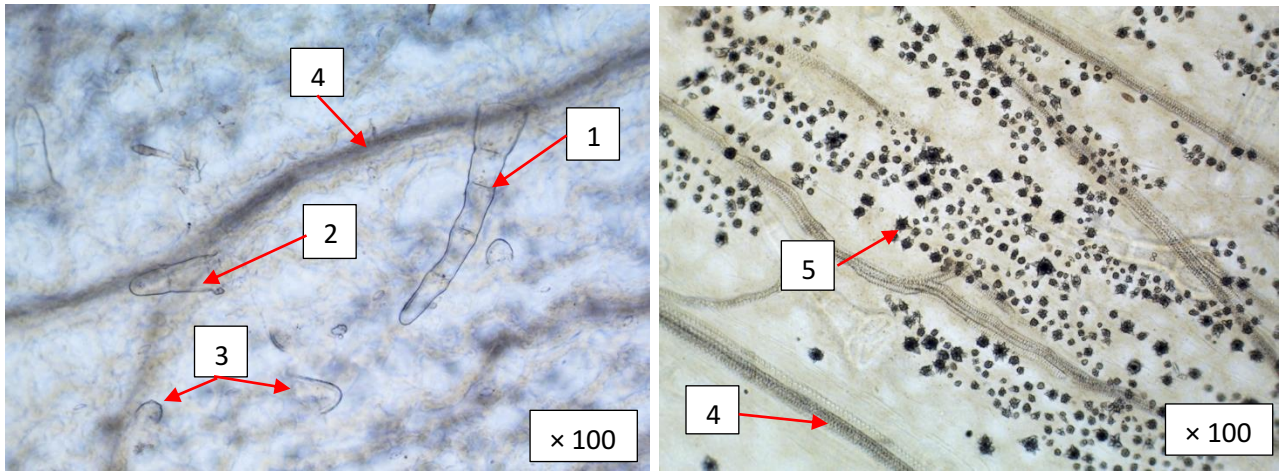


Рисунок 3.40 – Фрагменти зовнішньої епідерми чашолистика *Saponaria officinalis* L. (1 – прості багатоклітинні трихоми, 2 – одноклітинні трихоми, 3 – сосочковидні вирости епідерми, 4 – жилка чашолистика, 5 – друзи кальцію оксалату)

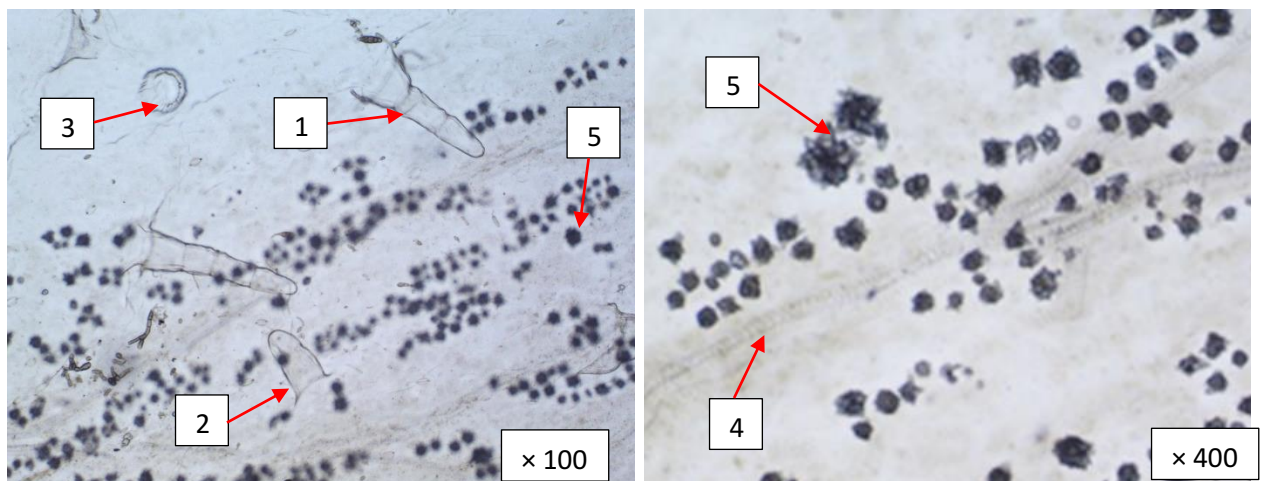


Рисунок 3.41 – Фрагменти внутрішньої епідерми чашолистика *Saponaria officinalis* L. (1 – прості багатоклітинні трихоми, 2 – одноклітинна трихома, 3 – сосочковидні вирости епідерми, 4 – жилка чашолистика, 5 – друзи кальцію оксалату)

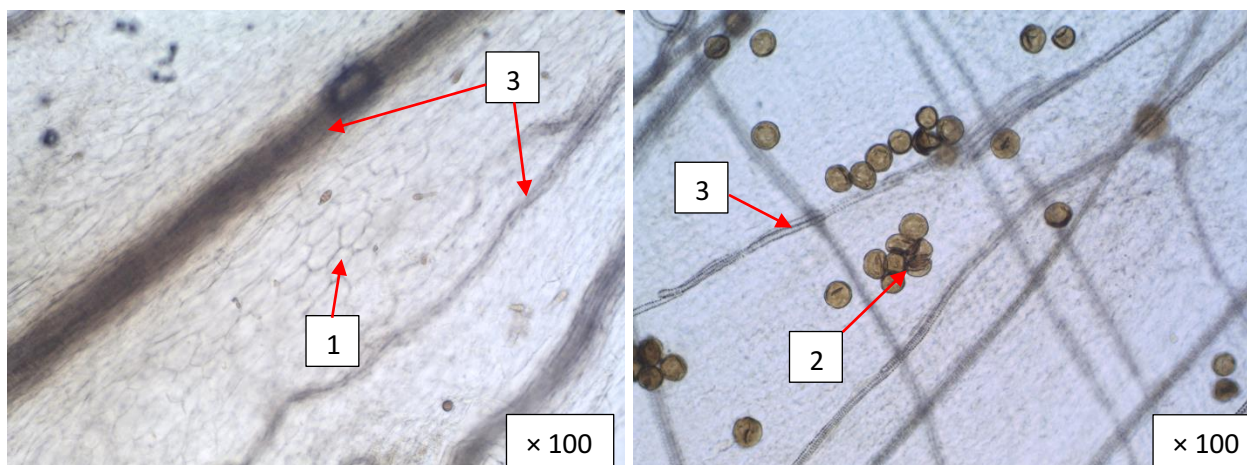


Рисунок 3.42 – Фрагменти внутрішньої епідерми пелюстки *Saponaria officinalis* L. (1 – клітини епідерми, 2 – пилокві зерна, 3 – жилка пелюстки)

3.6 Стандартизація мильнянки лікарської трави

МИЛЬНЯНКИ ЛІКАРСЬКОЇ ТРАВА

Saponariae officinalis herba

Опис: однорідна суміш різаних або частково подрібнених частин пагонів, листків, суцвіть *Saponaria officinalis* L.

Вміст: Не менше 4,0 % суми сапонінів у перерахунку абсолютно сухої сировини. Не менше 7,0 % гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту та абсолютно сухої сировини.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Макроскопічні ботанічні ознаки. Різани або частково подрібнені частини пагонів, листків, суцвіть. Стебло прямостояче, голе або короткопушене, округле, гіллясте. Листки супротивні, довгасті, овально-ланцетні або еліптичні, з 3-5 добре помітними жилками, при основі звужені у короткий черешок. Краї листків – з шерстистим опушенням. Поверхня листової пластинки гола або дещо опушена. Квітки правильні, двостатеві, білі або блідо-рожеві, зібрані у щиткоподібно-волотисті суцвіття. Пелюстки великі, відгин суцільний або нагорі виїмчастий. Запах слабкий, приємний, ароматний. Смак гіркуватий.

В. *Мікроскопічні ботанічні ознаки.* Покривна тканина стебла на поперечному перерізі представлена одноклітинним шаром живих нездерев'янілих клітин епідермісу, на якому поодинокі зустрічаються одно- та двоклітинні прості трихоми. Під шаром епідерми знаходиться вузька зона первинної кори з 3-4 шаровою пухкою коленхімою. Здерев'яніла частина стебла представлена широким шаром луб'яних волокон флоєми. Провідні елементи флоєми (ситовидні трубки) розміщені суцільним кільцем під шаром луб'яних волокон. Провідні елементи ксилеми представлені переважно великими судинами, трахеїди зустрічаються поодинокі. Стінки судин мають вторинне потовщення, деревні волокна практично відсутні. Клітини паренхіми серцевини живі, тонкостінні, в деяких знаходяться гострокінцеві друзи кальцію оксалату. В центрі стебла порожнина, серцевина відсутня. На епідермі стебла зрідка зустрічаються одно- та двоклітинні тонкостінні трихоми.

Клітини верхньої епідерми листка слабкозвивистостінні, майже прямостінні, полігональні. Клітини нижньої епідерми сильнозвивистостінні, з тонкими стінками, продиховий апарат аномоцитного типу. Трихоми відсутні на верхній та нижній епідермі листка. Діагностичною ознакою листків мильнянки є великі включення у вигляді гострокінцевих друз кальцію оксалату.

На зовнішній та внутрішній епідермах чашолистика зустрічаються прості багатоклітинні трихоми з кількома клітинами в розширеній основі, одноклітинні трихоми, сосочкоподібні вирости епідерми, в мезофілі чашолистика багато гострокінцевих друз кальцію оксалату.

Клітини внутрішньої епідерми пелюстки прямостінні, полігональні. При дослідженні пелюстки в полі зору зустрічається багато округлих пилкових зерен коричневого кольору з горбкуватою поверхнею. Пилкові зерна мають одну чітку екваторіально витягнуту борозну з рівними краями і кінцями.

ВИПРОБУВАННЯ.

Втрата в масі при висушуванні. Визначали за методикою, наведеною у ДФУ 2.0 [32]. Не більше 10,06 %.

Зола загальна. Визначали за методикою, наведеною у ДФУ [32]. Не більше 15,30 %.

Зола, нерозчинна в 10 % розчині кислоти хлоридної. Визначали за методикою, наведеною у ДФУ [32]. Не більше 3,40 %.

Екстрактивні речовини. Не менше 25,00 % [32].

1,0 г (точна наважка) здрібненої на порошок сировини поміщають у конічну колбу, додають 50 мл *етанолу Р (40 %, об/об)*, закривають колбу корком, зважують (із точністю ± 0.01 г), витримують протягом 1 год, кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 2 год і охолоджують. Колбу закривають тим самим корком, зважують, доводять *етанолом Р (40 %, об/об)* до початкової маси, перемішують і фільтрують. 25,0 мл одержаного фільтрату упарюють на водяній бані насухо та сушать при температурі (100-105) °С до постійної маси.

Вміст екстрактивних речовин (X , %), у перерахунку на суху сировину, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{m \times 200 \times 100}{m_1 \times (100 - W)},$$

де m – маса сухого залишку, г;

m_1 – маса наважки сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

С. Тонкошарова хроматографія

Фенольні сполуки

Випробовуваний розчин. До 2,0 г подрібненої на порошок сировини додають 20 мл *етанолу 50 % Р*, витримують протягом 2 год, періодично перемішуючи, і фільтрують.

Розчин порівняння. По 5 мг ФСЗ кислот гідроксикоричних (хлорогенової, неохлорогенової, ферулової, кофейної, розмаринової і *p*-кумарової) розчиняють у *метанолі Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчином до 10 мл.

Пластинка. ТШХ пластинка “Сорбфіл” (*Sorbfil peates* 10x15).

Рухома фаза: *n*-бутанол-кислота ацетатна-вода очищена Р (4:1:2).

Об'єм проб: 20 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 15 см від лінії старту.

Висушування: при температурі (100-105) °С.

Виявлення: пластинку висушують у витяжній шафі і розглядають при денному та УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм до і після обробки парами аміаку.

Результати: На хроматограмі випробовуваного розчину в середній частині одна під одною мають проявлятися зони із фіолетовою та блакитною флуоресценцією, які за кольором та розташуванням відповідають зонам кислот гідроксикоричним на хроматограмі розчину порівняння.

На хроматографі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші флуоресціюючі зони.

Д. Фенольні сполуки

Вихідний розчин. 2,0 г подрібненої сировини поміщають у колбу місткістю 200 мл і заливають 70 мл 20 % етанолу Р. Тричі екстрагують на водяній бані зі зворотним холодильником. Екстракт охолоджують, фільтрують через паперовий фільтр та використовують для проведення реакцій ідентифікації.

До 1 мл етанольно-водного екстракту додають 1-2 краплі розчину ферум(III) хлориду Р; з'являється зелено-сіре забарвлення (гідроксикоричні кислоти).

Спектр поглинання випробовуваного розчину, як зазначено в пункті кількісного визначення гідроксикоричних кислот, в області від 300 нм до 350 нм повинен мати максимум за довжини хвилі 327 нм.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ.

А. Вихідний розчин. 2,0 г (точна наважка) подрібненої сировини поміщали у колбу місткістю 200 мл і заливали 70 мл 20 % етанолу Р. Колбу приєднували

до зворотного холодильника і нагрівали на водяній бані протягом 15 хв. Екстракцію проводили тричі. Екстракт охолоджували і фільтрували через паперовий фільтр використовуючи лійку Бюхнера. Витяжку кількісно переносили у мірну колбу місткістю 250 мл і доводили об'єм розчину 20 % етанолом Р до мітки (розчин А).

Випробовуваний розчин. 1 мл розчину А (вихідного розчину) вносили в мірну колбу місткістю 50 мл і доводили до мітки 20 % етанолом Р. Оптичну густина розчину вимірювали на спектрофотометрі UV-1800 Shimadzu (Japan) за довжини хвилі 327 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм.

Для порівняння використовували 20 % етанол Р.

Вміст кислот гідроксикоричних у перерахунку на абсолютно суху сировину у % (X) обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 250 \cdot 50 \cdot 100}{E_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot m \cdot 1 \cdot (100 - W)},$$

де A – оптична густина досліджуваного розчину;

250 – об'єм розчину, мл;

m – маса сировини, г;

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

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Кількісний вміст гідроксикоричних кислот повинен бути не менше 3,8 %.

Сапоніни

Випробовуваний розчин. До 1,0 г подрібненої на порошок сировини додають 10 мл етанолу (70 % об/об) Р, нагрівають зі зворотним холодильним протягом 15 хв, охолоджують і фільтрують.

Розчин порівняння. 10 мг есцину Р розчиняють в 1 мл етанолу (70 % об/об) Р.

Пластинка. ТШХ пластинка “Сорбфіл” (*Sorbfil peates* 10x15).

Рухома фаза: кислота ацетатна льодяна-вода очищена Р н-бутанол Р (10:40:50).

Об'єм проб: 20 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 12 см від лінії старту.

Висушування: при температурі (100-105) °С.

Виявлення: обробляють анісового альдегіду розчином Р, нагрівають при температурі (100-105) °С протягом 5 хв, переглядають при денному світлі.

Результати: на хроматограмі розчину порівняння виявляється основна синювато-фіолетова зона (есцин) на межі між нижньою і середньою третинами. На хроматограмі випробовуваного розчину виявляються (до 5) інтенсивні фіолетові зони дещо нижче зони есцину. Можуть виявлятися інші блідо-фіолетові, жовтуваті або коричнювато-зелені зони.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ.

Приблизно 15 г порошкоподібного рослинного матеріалу екстрагували на водяній бані зі зворотним холодильником, використовуючи 375 мл киплячої води, протягом 5 хв у круглодонній колбі. Після охолодження, центрифугування та фільтрування розчин підкислювали мурашиною кислотою до рН 3,0 (0,2 %, об./об.). Потім додавали ацетонітрил, щоб отримати 1 % (об./об.) розчин, і кожен екстракт завантажували окремо в колонку 160×44 мм, наповнену наповнювачем Cosmosil 75C18-PREP із зворотною фазою (75 мкм). Потім його елюювали ступінчастим градієнтом підкисленим водно-ацетонітрильним розчином (0,1 % мурашиної кислоти, об'єм/об'єм) – 1 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 % ацетонітрилом і, в кінці, 100 % MeOH. Елюат контролювали за допомогою УВЕРХ-МС і фракції, що містять сапоніни, об'єднували. Органічний розчинник видаляли у вакуумі, а об'єднані фракції сушили методом сублімації (Christ Gamma 2-16 LSC). Гравіметричний аналіз проводили в одній технічній повторності.

Кількісний вміст сапонінів повинен бути не менше 4,0 %.

Висновки до розділу 3

1. Вперше проведено комплексне фітохімічне дослідження мильнянки лікарської трави і коренів та чорнобривців золотистих трави.

2. Встановлено амінокислотний склад мильнянки лікарської трави і коренів та чорнобривців золотистих трави. У чорнобривців трави виявлено 11 зв'язаних та 5 вільних амінокислот. Трава містила значну кількість проліну – вміст вільного L-проліну становив 6,44 мкг/мг, зв'язаного – 18,82 мкг/мг. У мильнянки лікарської трави і коренях виявлено по 16 вільних і зв'язаних амінокислот. З вільних амінокислот у мильнянки лікарської коренях переважає L-аргінін і L-пролін, вміст яких становив 0,42 мкг/мг і 0,34 мкг/мг відповідно; зі зв'язаних – L-аргінін (2,02 мкг/мг) і гліцин (1,65 мкг/мг). Домінуючими з вільних амінокислот у мильнянки лікарської трави були L-аланін, L-валін, L-лейцин (1,35 мкг/мг, 0,90 мкг/мг і 0,76 мкг/мг відповідно) зі зв'язаних амінокислот – гліцин, L-глутамінова кислота, L-аргінін (4,26 мкг/мг, 3,37 мкг/мг і 2,64 мкг/мг відповідно). У мильнянки лікарської трави вміст вільних амінокислот був дещо вищий ніж у коренях.

3. Визначено кількісний вміст суми органічних та аскорбінової кислот мильнянки лікарської трави і коренів та чорнобривців золотистих трави, який становив $(1,10 \pm 0,10) \%$, $(0,89 \pm 0,10) \%$ і $(1,67 \pm 0,12) \%$ та $(0,41 \pm 0,02) \%$, $(0,34 \pm 0,02) \%$ і $(0,64 \pm 0,03) \%$ відповідно. Методом ГХ/МС у чорнобривців золотистих трави виявлено щавлеву, малонову, фумарову, бурштинову, яблучну, лимонну, ванілінову, ізолимонну, сирінгову, ферулову кислоти. Домінували лимонна (4315,5 мг/кг) та малонова (1367,2 мг/кг) органічні кислоти. Методом ВЕРХ у мильнянки лікарської трави ідентифіковано та визначено кількісний вміст винної, піровиноградної, ізолимонної, бурштинової і фумарової кислот, у підземних органах – піровиноградної, ізолимонної, лимонної, бурштинової та фумарової. Домінували у траві мильнянки лікарської ізолимонна (120,83 мг/г) та піровиноградна кислоти (25,14 мг/г); у підземних органах – бурштинова (0,79 мг/г).

4. Методом газової хроматографії з мас-спектрометрією встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст жирних кислот у сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих. У ліпофільному екстракті чорнобривців золотистих трави виявлено 9 жирних кислот, 2 з яких є поліненасичені – лінолева (34,86 %) і ліноленова (18,26 %), 7 – насичені (міристинова, пальмітинова, маргарінова, стеаринова, арахінова, бегенова, лігноцеринова). У ліпофільному екстракті мильнянки лікарської трави виявлено 11 жирних кислот: 9 – насичені (міристинова, маргарінова, стеаринова, арахінова, бегенова, генейкозилова, трикозилова, лігноцеринова, церинова) і 2 – ненасичені (лінолева (23,06 %) та α -ліноленова 36,28 %)); у мильнянки лікарської коренях – 8 жирних кислот: 6 – насичені (пентадецилова, пальмітинова, стеаринова, арахінова, бегенова, лігноцеринова), 2 – ненасичені (лінолева (22,22 %) та α -ліноленова (12,50 %)). У чорнобривців золотистих траві і мильнянки лікарської трави переважала сума ненасичених жирних кислот, у мильнянки лікарської коренях – сума насичених.

5. Досліджено полісахаридні комплекси сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих, виділено фракції водорозчинних полісахаридів і пектинових речовин, кількісний вміст яких становив: ВРПС – МЛК – 10,75 %, МЛТ – 8,64 %, ЧЗТ – 12,36 %; ПР – МЛК – 5,70 %, МЛТ – 5,15 %, ЧЗТ – 7,12 %. Методом газо-рідинної хромато-мас-спектрометрії встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст моноцукрів і сахарози у сировині чорнобривців золотистих і мильнянки лікарської.

6. У мильнянки лікарської трави і коренях та чорнобривців золотистих траві визначено кількісний вміст речовин фенольної природи: суми фенольних сполук (МЛТ – $(7,48 \pm 0,12)$ %, МЛК – $(0,64 \pm 0,05)$ %, ЧЗТ – $(7,88 \pm 0,15)$ %), суми гідроксикоричних кислот (МЛТ – $(3,88 \pm 0,04)$ %, МЛК – $(0,52 \pm 0,03)$ %, ЧЗТ – $(4,22 \pm 0,10)$ %), суми флавоноїдів (МЛТ – $(2,86 \pm 0,11)$ %, МЛК – $(0,69 \pm 0,02)$ %, ЧЗТ – $(4,18 \pm 0,57)$ %).

7. Методом ВЕРХ-аналізу визначено індивідуальні фенольні сполуки у сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих. З гідроксикоричних кислот у мильнянки лікарської траві і коренях – гідроксифенілацетатну, хлорогенову, кофейну, сирінгову, *p*-кумарову, синапову, транс-ферулову, транс-цинамову, синапову, хінну), з флавоноїдів – у траві ізокверцитрин і кемпферол, у коренях – кверцетин. У коренях мильнянки лікарської виявлено також галову кислоту. У чорнобривців золотистих траві виявлено, ідентифіковано і встановлено кількісний вміст хлорогенової, кофейної, сирінгової, *p*-кумарової, синапової, транс-ферулової, транс-цинамової і хінної кислот; не виявлено галову і гідроксифенілацетатну кислоти. Домінуючою у мильнянки лікарської траві і коренях, чорнобривців золотистих траві була хінна кислота, вміст якої становив 8840,74 мкг/г, 3760,45 мкг/г і 2604,21 мкг/г відповідно. У чорнобривців золотистих траві виявлено також галову кислоту. У чорнобривців золотистих траві з флавоноїдів виявлено, ідентифіковано і встановлено кількісний вміст ізокверцитрину, нарингіну, кемпферолу і значний вміст кверцетину (787,05 мкг/г).

8. Визначено у мильнянки лікарської траві і коренях кількісний вміст сапонінів, вміст яких становив $(4,0 \pm 0,01) \%$ і $(4,3 \pm 0,02) \%$ відповідно. Методом надвисокоєфективної рідинної хроматографії-мас-спектрометрії (УВЕРХ-МС) у досліджуваних зразках мильнянки лікарської ідентифіковано 23 сапоніни, 19 з яких було ідентифіковано раніше. Якісний склад сапонінів мильнянки лікарської траві і коренів був однаковий, відрізнялися вони лише за кількісним вмістом.

9. Методом хромато-мас-спектрометрії визначено якісний склад та кількісний вміст компонентів летких сполук мильнянки лікарської траві і коренів та чорнобривців золотистих траві. У мильнянки лікарської траві виявлено 20 компонентів летких сполук, з яких ідентифіковано 7; в коренях виявлено 13 компонентів, ідентифіковано – 6. У чорнобривців золотистих траві виявлено 28 компонентів летких сполук, з яких ідентифіковано – 14.

10. Досліджено елементний склад сировини мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих методом атомно-абсорбційної спектроскопії. У мильнянки лікарської траві виявлено 12 елементів: 4 макро- (Ca, Mg, K, Na) та 8 мікроелементів (Fe, Zn, Cu, Cr, Mn, Ni, Se, Si), не виявлено кадмію; у підземних органах – 11 елементів – 4 макро- і 7 мікроелементів; не виявлено силіцію і кадмію. У чорнобривців золотистих траві виявлено 10 елементів: 4 макро- та 6 мікроелементів, не виявлено хрому, нікелю і силіцію. Домінуючим у мильнянки лікарської траві і коренях та чорнобривців золотистих траві є калій, вміст якого становив 37646 мг/кг, 8170 мг/кг і 12254 мг/кг відповідно.

11. Визначено основні показники якості мильнянки лікарської трави, які використано для розробки проєкту МКЯ «Мильнянки лікарської трава».

12. Вивчено морфолого-анатомічні ознаки мильнянки лікарської трави та визначено основні морфологічні та структурні анатомічні діагностичні ознаки стебла, листка, квіток, які використано при розробці проєкту методів контролю якості на нову лікарську рослинну сировину « Мильнянки лікарської трава».

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в наукових публікаціях автора [10, 14, 16, 42, 44, 59, 60, 100, 115, 131, 144, 162, 168, 169, 180, 184].

РОЗДІЛ 4

ОДЕРЖАННЯ СУБСТАНЦІЙ З МИЛЬНЯНКИ ЛІКАРСЬКОЇ ТРАВИ І КОРЕНІВ ТА ЧОРНОБРИВЦІВ ЗОЛОТИСТИХ ТРАВИ. ВИВЧЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ ДІЇ ОДЕРЖАНИХ СУБСТАНЦІЙ

Невід'ємною складовою частиною сучасної фармації є дослідження та розробка нових лікарських засобів на основі лікарської рослинної сировини [46, 106]. Перевагою рослинних лікарських засобів є різнонаправлений вплив завдяки вмісту комплексу БАР, які, на відміну від синтетичних лікарських засобів, практично не дають побічних ефектів, їх можна використовувати при тривалому лікуванні хронічних захворювань, а також у дитячій практиці та геронтології. Характерним для лікарських рослин та отриманих із них БАР є широкий спектр їх фармакологічної дії [5, 65].

4.1 Одержання субстанції з сировини мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих та дослідження її хімічного складу

Ефективність екстракції ЛРС залежить від ряду факторів: методу та тривалості екстрагування, температури, ступеня подрібнення ЛРС тощо [94].

Одним із найважливіших факторів, що забезпечує максимальний вихід БАР із рослинної сировини є природа екстрагенту. Для розробки оптимальної технології одержання субстанції з досліджуваної сировини мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих нами вивчався вплив природи екстрагента на повноту вилучення БАР із рослинної сировини [11, 46, 93, 106, 171], встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст основних груп БАР отриманих субстанцій.

Враховуючи, що у досліджуваній сировині мильнянки лікарської (розд. 3) міститься значний вміст сапонінів і сполук фенольної природи, а у

чорнобривців золотистих фенольних сполук, при одержанні субстанції акцентували увагу на екстрагуванні даних БАР.

Одержання субстанції з мильнянки лікарської трави і коренів. Екстрагування проводили водою очищеною гарячою та етанолом різної концентрації: 20 %, 40 %, 60 %.

Витяжки отримували методом мацерації з періодичним перемішуванням протягом п'яти діб, при співвідношенні сировина: екстрагент 1 : 10. Отримані етанольну та водну витяжки згущували в ротаційному випаровувачі за температури 50-60 °С, упарюючи до густої маси.

Визначення вмісту суми флавоноїдів, суми гідроксикоричних кислот, сумарного вмісту фенольних сполук і сапонінів проводили на спектрофотометрі UV-1800 Shimadzu (Japan) [30].

При дослідженні виходу суми фенольних сполук із мильнянки лікарської трави спостерігали наступну залежність – із зменшенням концентрації етанолу в водно-етанольних розчинах зменшувався і кількісний вміст даних сполук у витяжці (рис. 4.1). Так, максимальну кількість суми фенольних сполук із мильнянки лікарської трави, що становило 11,35 %, екстрагував 60 % етанол. При використанні 40 % та 20 % етанолу кількість суми фенольних сполук зменшувалася в 1,7 та 2,4 рази відповідно. При екстрагуванні водою очищеною у витяжку переходило 7,8 % суми фенольних сполук.

Аналіз отриманих результатів щодо вилучення суми гідроксикоричних кислот із мильнянки лікарської трави (рис. 4.2) показує таку ж залежність як і при екстрагуванні суми фенольних сполук. Найбільший вихід суми гідроксикоричних кислот забезпечував 60 % етанол (7,36 %). Значна кількість досліджуваних речовин вилучалася і при використанні 40 % етанолу та води очищеної, що становило 6,05 % та 5,52 % відповідно. Найменший вихідданої групи БАР спостерігали при використанні як екстрагента 20 % етанолу.

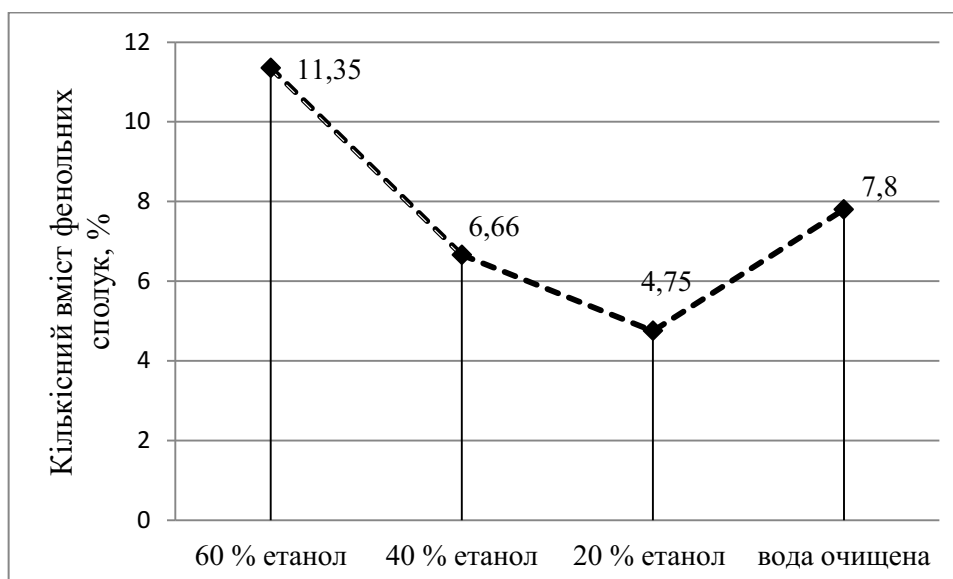


Рисунок 4.1 – Вплив природи екстрагента на повноту екстракції суми фенольних сполук із мильнянки лікарської трави

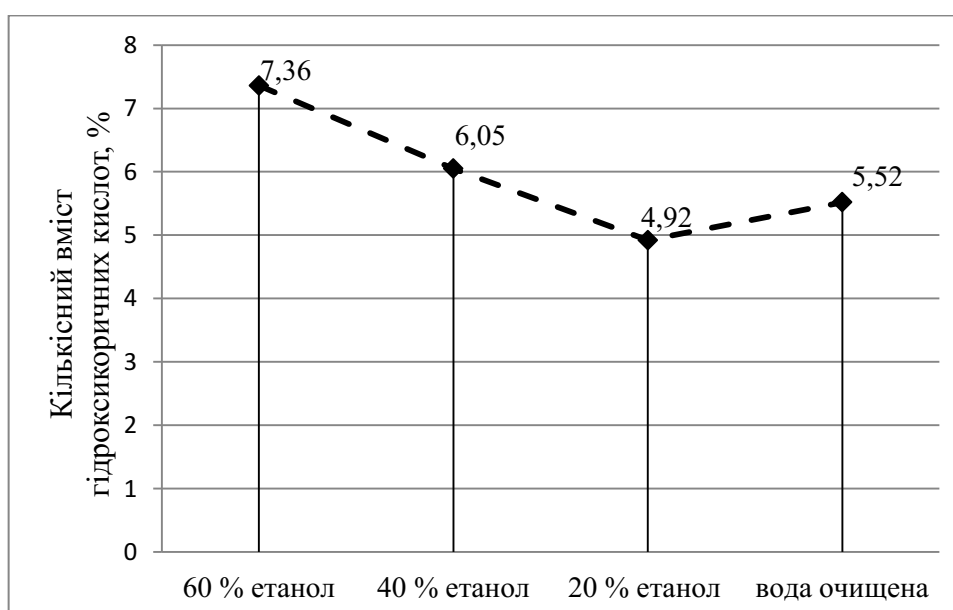


Рисунок 4.2 – Вплив природи екстрагента на повноту екстракції суми гідроксикоричних кислот із мильнянки лікарської трави

На рисунку 4.3 наведено залежність вилучення суми флавоноїдів від природи екстрагента із мильнянки лікарської трави. Спостерігали, що максимальний вихід досліджуваної групи речовин забезпечує 60 % етанол та вода очищена. Дані екстрагенти вилучали з сировини 15,8 % і 15,57 % суми

флавоноїдів відповідно. При екстракції 40 % етанолом вміст суми флавоноїдів зменшувався та становив 11,24 %. Найменший вихід даних речовин із мильнянки лікарської трави одержували при використанні 20 % етанолу (5,34 %).

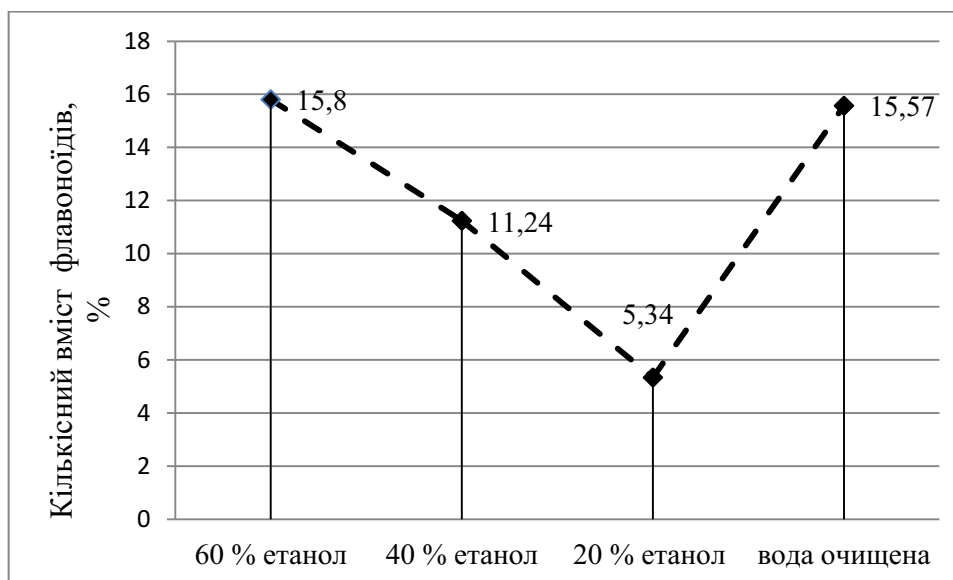


Рисунок 4.3 – Вплив природи екстрагента на повноту екстракції суми флавоноїдів із мильнянки лікарської трави

Результати залежності вилучення суми сапонінів від природи екстрагента із мильнянки лікарської трави наведено на рисунку 4.4. Спостерігали, що максимальний вихід досліджуваної групи речовин забезпечує 40 % та 60 % етанол, які вилучали з сировини 27,52 % і 26,66 % суми сапонінів відповідно. При екстракції водою очищеною вміст суми сапонінів становив 25,77 %. Найменший вихід даних речовин із мильнянки лікарської трави одержували при використанні 20 % етанолу (24,20 %).

Результати кількісного вмісту вилучених БАР із мильнянки лікарської коренів у залежності від природи екстрагента наведено на рисунку 4.5.

Найбільшу кількість суми фенольних сполук із мильнянки лікарської коренів отримували при використанні як екстрагента води очищеної, що становило 2,44 %. При екстрагуванні 20 % та 60 % етанолом кількість

досліджуваних речовин зменшувалася в 1,3 та 1,4 рази відповідно. Найменшу кількість суми фенольних сполук одержували при екстракції 40 % етанолом (1,10 %).

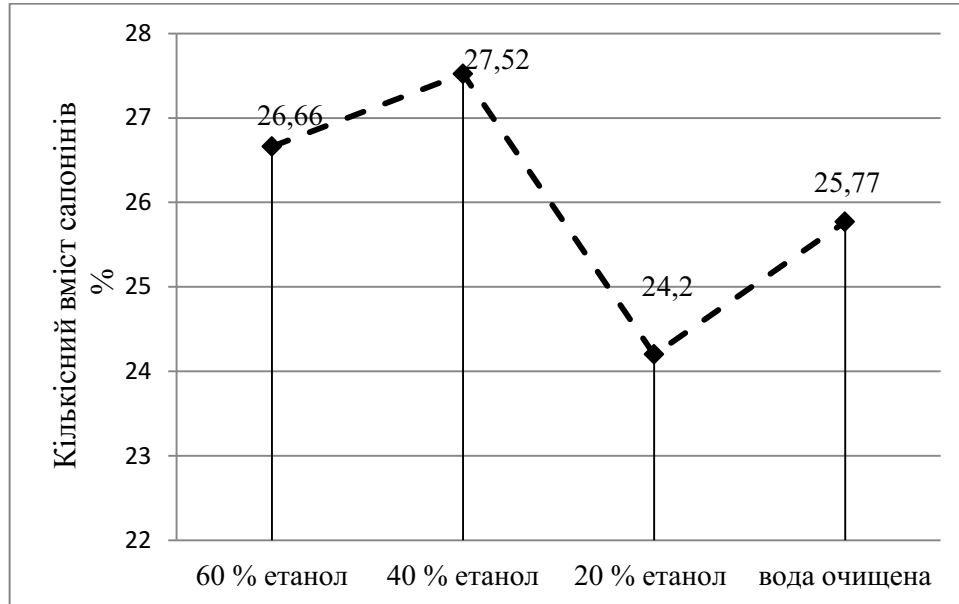


Рисунок 4.4 – Вплив природи екстрагента на повноту екстракції суми сапонінів із мильнянки лікарської трави

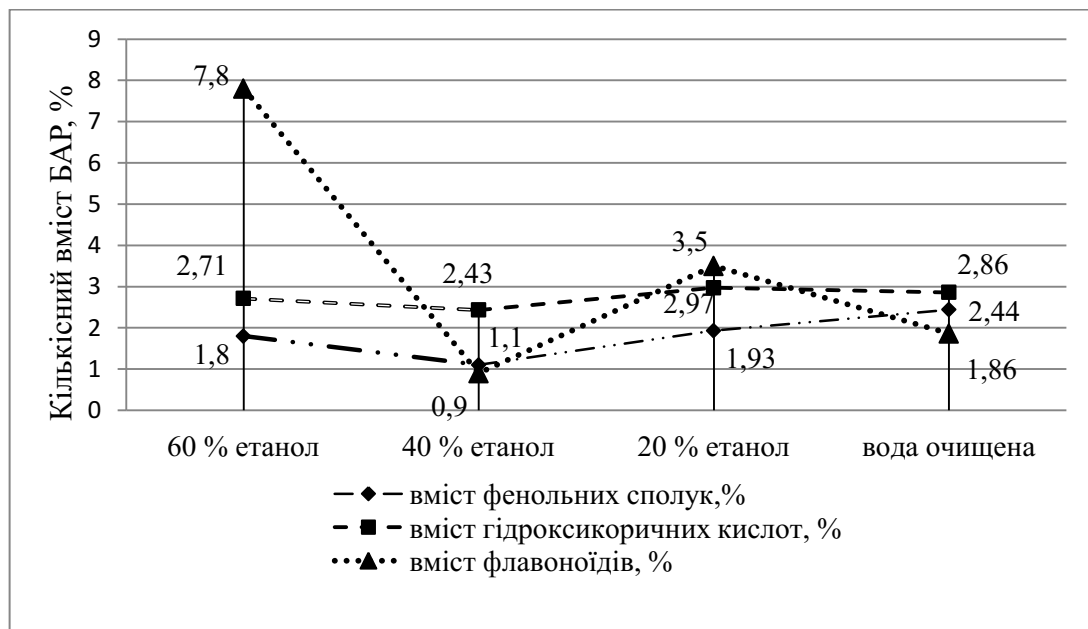


Рисунок 4.5 – Вплив природи екстрагента на повноту екстракції комплексу БАР (суми фенольних сполук, суми гідроксикоричних кислот, суми флавоноїдів) із мильнянки лікарської коренів

Вплив природи екстрагенту на вилучення суми гідроксикоричних кислот із мильнянки лікарської коренів не значно відрізняється. Проаналізувавши результати дослідження, отримали наступний ряд залежності вмісту досліджуваних речовин із мильнянки лікарської коренів у залежності від природи екстрагенту: 20 % етанол (2,97 %) < вода очищена (2,86 %) < 60 % етанол (2,71 %) < 40 % етанол (2,43 %).

Результати залежності вилучення суми сапонінів від природи екстрагенту із мильнянки лікарської коренів наведено на рисунку 4.6. Спостерігали, що максимальний вихід досліджуваної групи речовин забезпечує вода очищена (11,89 %). При екстракції 20%, 40 % та 60 % етанолом вміст суми сапонінів становив 10,04 %, 9,45 % та 10,34 % відповідно.

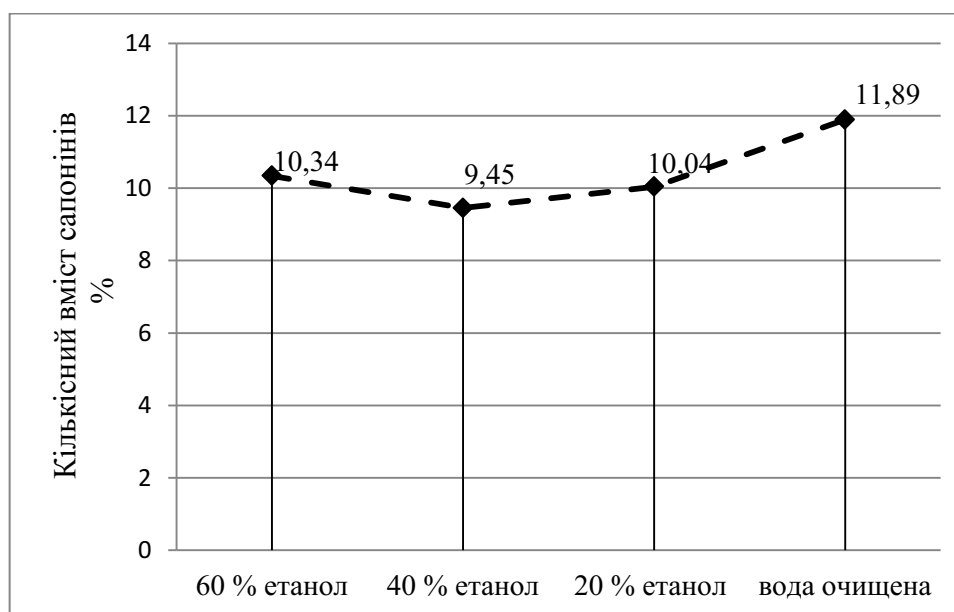


Рисунок 4.6 – Вплив природи екстрагенту на повноту екстракції суми сапонінів із мильнянки лікарської коренів

Максимальне вилучення флавоноїдів з мильнянки лікарської коренів (7,98 %) забезпечував 60 % етанол. При застосування 40 % етанолу, 20 % етанолу та води очищеною екстракція даних речовин зменшувалася більше ніж у 2,0 рази. Так, при екстрагуванні 20 % етанолом вміст суми флавоноїдів становив 3,50 %, при використанні як екстрагенту води очищеної – 1,86 %.

Найменша кількість даних речовин переходила у витяжку при застосуванні 40 % етанолу (0,9 %) .

Порівняльний аналіз вмісту БАР у траві і коренях мильнянки лікарської показав, що у траві їх вміст переважає. Так вміст суми фенольних сполук у мильнянки лікарської траві в 4,2 рази, суми гідроксикорчинних кислот – у 2,2 рази, суми флавоноїдів – у 4,5 рази був вищий у порівнянні кількістю даних груп БАР у коренях. Вміст суми сапонінів з мильнянки лікарської трави найкраще вилучав 40 % етанол, дещо менше – 60 %; з мильнянки лікарської коренів – вода очищена, дещо менше – 60 % етанол.

Отже, для дослідження фармакологічної активності слід використовувати густий екстракт з трави і з коренів мильнянки лікарської, одержаний екстракцією 60 % етанолом, оскільки він є найефективнішим екстрагентом для одержання сполук фенольної природи та сапонінів.

Спосіб одержання субстанцій здійснюють наступним чином. Повітряно-суху сировину мильнянки лікарської у кількості 100 г подрібнили до розміру часток, які проходили крізь сито з діаметром отвору № 3000, залили 60 % етанолом у кількості 1000 мл. Процес екстрагування етанолом здійснювали шляхом мацерації (настоювання) рослинної сировини мильнянки лікарської 60 % етанолом упродовж 5-ти діб при кімнатній температурі та періодичному перемішуванні. Співвідношення сировина : екстрагент становило 1 : 10. Отриману етанольну витяжку фільтрували крізь складчастий фільтр та упарили на роторному випаровувачі за температури 50-60 °С до отримання густої маси.

Вихід густого екстракту мильнянки лікарської трави склав – 25,88 %.
Втрата в масі при висушуванні – 17,4 %.

Вихід густого екстракту мильнянки лікарської коренів склав – 22,88 %.
Втрата в масі при висушуванні – 12,33 %.

Фітосубстанція являє собою однорідну густу в'язку масу коричневого кольору (з коренів) і зеленувато-коричневого (з трави) із гіркуватим смаком та специфічним запахом. Розчинна у холодній воді, малорозчинна у 96 % етанолі.

Одержання субстанції з чорнобривців золотистих трави.

Ефект екстрагування оцінювали при двохступеневій екстракції (спочатку екстрагування проводили етанолом, а потім – гарячою водою очищеною). Відомо, що найбільший вихід екстрактивних речовин можна одержати при використанні ступеневої екстракції сировини [98].

Співвідношення сировина-екстрагент становило 1:10, що є необхідним і достатнім для здійснення процесу екстракції. Настоявання здійснювали при кімнатній температурі, що сприяє збереженню термолабільних екстрактивних речовин та дозволяє уникнути додаткових витрат енергоносіїв.

БАР з досліджуваної сировини екстрагували етанолом 70 %, 60 %, 50 %, 40 % шляхом настоювання впродовж 24 год. Також екстрагування проводили водою очищеною впродовж 24 год, водний екстракт зливали, заливали ще раз кип'яченою водою очищеною і проводили екстрагування впродовж 2 год на водяній бані зі зворотним холодильником, водні витяжки об'єднували і упарювали. Кожний етанольний екстракт зливали, шрот віджимали, заливали кип'яченою водою очищеною і двічі проводили екстрагування шротів водою очищеною впродовж 2 год на водяній бані зі зворотним холодильником. Етанольно-водну і водну витяжки об'єднували і упарювали до густого екстракту. З даного густого екстракту було одержано сухий екстракт на вакуумно-ротаторному випаровувачі за температури 75-80 °С.

Кількісний вміст суми фенольних сполук у перерахунку на кислоту галову, суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту, суми флавоноїдів у перерахунку на рутин визначено спектрофотометричним методом на спектрофотометрі UV-1800 Shimadzu (Japan) [30].

Результати аналізу вмісту БАР у досліджуваних екстрактах з трави чорнобривців золотистих представлено на рисунку 4.7 і у таблиці 4.1.

Аналіз результатів дослідження показує, що при екстрагуванні етанольно-водного розчином у витяжках переважає вміст БАР фенольного характеру. Максимальне вилучення даної групи БАР (суми фенольних сполук, суми

гідроксикоричних кислот, суми флавоноїдів) з чорнобривців золотистих трави (23,40 %, 21,31 %, 21,46 % відповідно) забезпечував 50 % етанол.

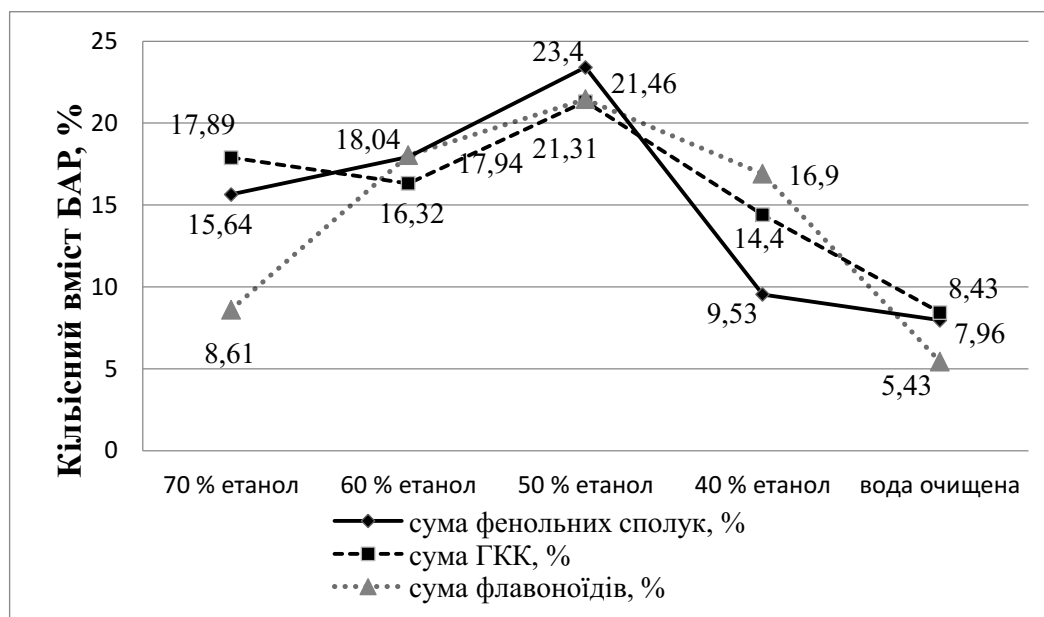


Рисунок 4.7 – Вплив природи екстрагента на повноту екстракції комплексу БАР (суми фенольних сполук, суми гідроксикоричних кислот, суми флавоноїдів) з чорнобривців золотистих трави

Таблиця 4.1 – Вміст основних груп біологічно активних речовин у досліджуваних екстрактах чорнобривців золотистих трави, %

БАР	70 % етанол – вода очищена	60 % етанол – вода очищена	50 % етанол – вода очищена	40 % етанол – вода очищена	Вода очищена – вода очищена
Сума фенольних сполук, %	15,64 ± 1,05	17,94 ± 0,65	23,40 ± 0,61	9,53 ± 0,89	7,96 ± 0,65
Сума ГКК, %	17,89 ± 0,83	16,32 ± 0,52	21,31 ± 0,84	14,40 ± 0,80	8,43 ± 0,75
Сума флавоноїдів, %	8,61 ± 0,65	18,04 ± 0,32	21,46 ± 0,52	16,90 ± 0,34	5,43 ± 0,42
Втрата в масі при висушуванні, %	3,98 ± 0,14	3,21 ± 0,15	4,45 ± 0,24	4,38 ± 0,23	2,96 ± 0,13

Примітка. Вірогідність похибки $P < 0,05$.

Тому для дослідження фармакологічної активності (діуретичного ефекту) потрібно використовувати екстракт, одержаний ступінчастим методом – спочатку етанолом 50 %, а потім гарячою водою очищеною.

Одержання екстракту, обраного для фармакологічних досліджень, проводили наступним чином. 100 г подрібнених до розміру частинок, які проходять крізь сито № 11200 (з максимальним допуском для отвору 0,77 мм), повітряно-сухої чорнобривців золотистих трави змочували достатньою кількістю (200 мл) екстрагенту (50 % етанолу) і залишали на 4 год при кімнатній температурі для набухання. Потім замочену сировину переносили в перколятор і заливали 1000 мл 70 % етанолом, настоювали протягом 24 год при кімнатній температурі. Після першого циклу екстрагування витяжку зливали і знову подавали на сировину, перемішували і настоювали протягом 30 хв. Для максимального виснаження сировини екстрагування проводили 3 рази. Етанольну витяжку зливали, шрот віджимали і піддавали екстракції водою очищеною 85-90 °С, у співвідношенні 1:10 і екстрагували на водяній бані протягом 2 год. Одержані етанольну і водну витяжки об'єднували, перемішували, фільтрували крізь паперовий фільтр, згущували шляхом упарювання за температури 80-90 °С до густого залишку. Згущену витяжку висушували у вакуумно-роторному випаровувачі за температури 75-80 °С до отримання сухого екстракту з вмістом вологи до 5 %.

Вихід сухого екстракту з чорнобривців золотистих трави склав 38,12 %.

Технологічні, органолептичні та фізико-хімічні дослідження сухого екстракту чорнобривців золотистих трави наведено в таблиці 4.2.

Отже, нами визначено оптимальні умови одержання густих екстрактів з мильнянки лікарської трави і з коренів та сухого екстракту з чорнобривців золотистих трави, які використано для проведення фармакологічних досліджень.

Таблиця 4.2 – Органолептичні, технологічні та фізико-хімічні дослідження сухого екстракту з трави чорнобривців золотистих

Назва параметру	Результати спостереження
Зовнішній вигляд	Однорідний сухий сипучий порошок темно-коричневого кольору, з приємним ароматним запахом.
Розчинність у воді очищеній холодній	Розчинний
Розчинність у воді очищеній гарячій	Легко розчинний
Розчинність у етанолі Р 40 %	Розчинний
Розчинність у етанолі Р 70 %	Розчинний
Розчинність у етанолі Р 96 %	Мало розчинний

4.2 Вивчення гострої токсичності екстрактів з сировини мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих

Окрім високої фармакологічної активності, обов'язковою характеристикою субстанцій лікарських рослин повинна бути їх безпечність.

Інформацію про безпечність нових субстанцій можна одержати, коли визначити їх гостру токсичність. Проведення даного виду досліджень дозволяє отримати необхідні показники для встановлення рівня токсичності досліджуваної субстанції, визначення співвідношення між дозою та негативними ефектами даної субстанції, визначення видової та статевої чутливості лабораторних тварин щодо її дії.

Вживання та клінічні спостереження. Після однократного перорального введення екстрактів з трави і з коренів мильнянки лікарської в

дозах, зазначених в таблиці 4.3, мишам обох статей були зареєстровані випадки загибелі тварин протягом першої доби спостережень. У тварин спостерігались судоми, пронос, блювання. Зменшення дози субстанції модулювало смертність тварин, що дозволило визначити показник ЛД₅₀ та його довірчий інтервал.

Таблиця 4.3 – Гостра токсичність екстрактів з трави і з коренів мильнянки лікарської та з трави чорнобривців золотистих за внутрішньошлункового введення у мишей

Сполука, шифр	Доза, мг/кг	Самки	Летальність	ЛД ₅₀ , мг/кг, її довірчий інтервал	Самці	Летальність	ЛД ₅₀ , мг/кг, її довірчий інтервал
1	2	3	4	5	6	7	8
Контроль		3	0	-	3	0	-
ГЕМК, 60 %	5000	3	3	3700 (3060÷4340)	3	3	3430 (2780÷4070)
	4470	3	3		3	3	
	3980	3	2		3	2	
	3550	3	1		3	2	
	3160	3	1		3	1	
	3000	3	0		3	0	
ГЕМК, 40 %	5000	3	3	4150 (3430÷4880)	3	3	4150 (3430÷4880)
	4470	3	2		3	2	
	3980	3	1		3	1	
	3550	3	1		3	1	
	3160	3	0		3	0	
	3000	3	0		3	0	
ГЕМТ, 40 %	5000	3	3	3700 (3060÷4340)	3	3	3430 (2780÷4070)
	3000	3	0		3	0	
	3160	3	1		3	1	
	3550	3	1		3	2	
	3980	3	2		3	2	
	4470	3	3		3	3	

Продовження таблиці 4.3

1	2	3	4	5	6	7	8
ГЕМТ, 60 %	5000	3	3	2580 (930÷3220)	3	3	2300 (1660÷2950)
	3000	3	3		3	3	
	2820	3	2		3	2	
	2500	3	1		3	2	
	2000	3	1		3	1	
	1580	3	0		3	0	
СЕЧТ, 50 %	1000	3	0	>5000	3	0	>5000
	3000	3	0		3	0	
	5000	3	0		3	0	

При дослідженні екстрактів чорнобривців золотистих трави не було зареєстровано загибелі дослідних тварин протягом усього терміну дослідження. Фізіологічний стан тварин був задовільний. Після введення тест-зразка та до кінця терміну спостережень жодних відхилень у зовнішньому вигляді та токсичних проявів не спостерігалось. Усі тварини були активні, мали гладеньку шерсть та чисту шкіру.

Відсутність летальності у тварин за введення екстракту чорнобривців золотистих трави дозволяє вважати, що значення LD_{50} при ентеральному введенні перевищує максимальну дозу, яку використовували в експерименті, тобто у мишей $LD_{50} > 5000$ мг/кг [58].

Дане значення LD_{50} дозволяє віднести досліджуваний екстракт чорнобривців золотистих трави за класифікацією К. К. Сидорова до V класу токсичності – практично нетоксичні речовини, екстракти мильнянки лікарської – до IV класу токсичності – малотоксичні речовини [34, 109].

4.3 Дослідження діуретичної дії екстрактів за умов водного навантаження в умовно здорових щурів

Світова флора багата рослинами, що впливають на видільну функцію нирок. Останнє узагальнення даних світової літератури свідчить, що діуретичні властивості доведено для 693 видів рослин (129 родин) [64]. Препарати з діуретичною активністю, у тому числі рослинні, здавна використовуються при захворюваннях серцево-судинної, сечовидільної та інших систем. Сьогодні домінує думка, що рослинні діуретики, багато з яких використовуються тільки в традиційній (народній) медицині, мають м'яку та досить безпечну дію з мінімальним ризиком порушень електролітного та кислотно-лужного балансу навіть за умов протипоказань для призначення потужних синтетичних сечогінних препаратів [36, 64, 126].

З цієї точки зору привертають увагу такі лікарські рослини як мильнянка лікарська і чорнобривці золотисті, які, згідно з нашими дослідженнями, містять значну кількість сполук фенольної природи (флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, дубильні речовини), ефірну олію, амінокислоти та аскорбінову кислоту [10, 14, 16, 42, 60, 115, 162, 180]. Мильнянка лікарська також містить значну кількість сапонінів.

Результати досліджень, що наведено у таблиці 4.4, показали, що усі досліджувані екстракти виявляли діуретичну дію, про що свідчило зростання кількості виділеної сечі в перерахунку на 100 г маси щура. Найбільшу діуретичну активність проявили 60 % екстракти трави і коренів мильнянки лікарської. Так, діурез у щурів на 6 год експерименту, яким вводили 60 % етанольно-водний екстракт мильнянки лікарської коренів у дозі 50 мг/кг, зріс відносно тварин контрольної групи на 179,7 %, у дозі 100 мг/кг – на 184,6 %, тобто за своєю ефективністю екстракти з коренів мильнянки лікарської практично не поступались еталонному діуретику – гідрохлортіазиду (186,5 %).

Таблиця 4.4 – Діуретична активність досліджуваних екстрактів мильнянки лікарської і чорнобриців золотистих за умов водного навантаження у щурів ($M \pm m$, $n=7$)

Умови експерименту	Доза, мг/кг, в/шл	Діурез					
		2 год		4 год		6 год	
		Об'єм сечі, мл	Об'єм сечі, мл/100 г	Об'єм сечі, мл	Об'єм сечі, мл/100 г	Об'єм сечі, мл	Об'єм сечі, мл/100 г
1	2	3	4	5	6	7	8
Контроль		2,90 ± 0,39	1,3 ± 0,14 100 %	5,01 ± 0,41	2,2 ± 0,14 100 %	6,20 ± 0,17	2,7 ± 0,03 100 %
ГЕМК, 60 %	50 мг/кг	5,00 ± 0,20	2,1 ± 0,10* 165,3 %	8,90 ± 0,67	3,7 ± 0,26* 172,0 %	11,70 ± 0,76	4,9 ± 0,27* 179,7 %
ГЕМК, 40 %	50 мг/кг	5,10 ± 0,41	2,0 ± 0,13*# 160,3 %	6,20 ± 0,38	2,5 ± 0,11*# 113,8 %	8,40 ± 0,55	3,4 ± 0,26*# 124,8 %
Контроль		2,10 ± 0,12	1,1 ± 0,06 100 %	4,01 ± 0,19	2,1 ± 0,10 100 %	5,60 ± 0,22	2,9 ± 0,05 100 %
ГЕМТ, 60 %	50 мг/кг	3,40 ± 0,27	1,8 ± 0,11*# 162,9 %	6,01 ± 0,25	3,1 ± 0,14*# 147,6 %	7,90 ± 0,18	4,2 ± 0,12*# 146,4 %
ГЕМТ, 40 %	50 мг/кг	1,80 ± 0,23	1,0 ± 0,12# 88,4 %	3,30 ± 0,42	1,8 ± 0,22# 84,2 %	6,20 ± 0,12	3,3 ± 0,12# 115,3 %

Продовження таблиці 4.4

1	2	3	4	5	6	7	8
Контроль		2,30 ± 0,25	1,1 ± 0,11 100 %	3,60 ± 0,12	1,7 ± 0,05 100 %	5,70 ± 0,25	2,7 ± 0,10 100 %
СЕЧТ, 50 %	50 мг/кг	3,01 ± 0,30	1,5 ± 0,14*# 134,6 %	4,00 ± 0,31	1,9 ± 0,16# 108,8 %	7,20 ± 0,10	3,4 ± 0,05*# 124,4 %
СЕЧТ, 50 %	100 мг/кг	2,40 ± 0,28	1,3 ± 0,17# 117,2 %	4,30 ± 0,17	2,2 ± 0,06*# 129,0 %	7,10 ± 0,34	3,7 ± 0,09*# 134,8 %
Контроль		2,30 ± 0,11	1,1 ± 0,05 100 %	4,30 ± 0,21	2,1 ± 0,10 100 %	5,90 ± 0,14	2,8 ± 0,05 100 %
ГЕМК, 60 %	100 мг/кг	4,40 ± 0,28	2,1 ± 0,15*# 199,4 %	7,90 ± 0,26	3,9 ± 0,15* 189,1 %	10,50 ± 0,21	5,1 ± 0,13* 184,6 %
ГЕМТ, 60 %	100 мг/кг	3,20 ± 0,27	1,7 ± 0,15*# 156,7 %	5,30 ± 0,15	2,8 ± 0,11*# 136,9 %	7,30 ± 0,43	3,8 ± 0,18*# 138,4 %
Гідрохлортіазид	25 мг/кг	3,30 ± 0,23	1,6 ± 0,14* 149,8 %	7,60 ± 0,43	3,7 ± 0,20* 179,5 %	10,60 ± 0,35	5,2 ± 0,24* 186,5 %
Примітка. * – статистично вірогідні відмінності щодо групи відповідного контролю (p<0,05); # – статистично вірогідні відмінності щодо гідрохлортіазиду (p<0,05)							

Діурез у щурів на 6 год експерименту, яким вводили 60 % етанольно-водний екстракт мильнянки лікарської трави у дозі 50 мг/кг, зріс відносно тварин контрольної групи на 146,4 %, у дозі 100 мг/кг – на 138,4 %. Збільшення дози до 100 мг/кг супроводжувалось посиленням діуретичної дії, особливо при введенні тваринам екстрактів з коренів мильнянки.

Екстракт з трави чорнобривців золотистих також проявляв діуретичну дію, і мав дозозалежний ефект. Проте, за діуретичною активністю екстракт з трави чорнобривців золотистих поступався екстрактам з мильнянки лікарської.

4.4 Дослідження біохімічних показників роботи гломерулярного та тубулярного апарату нирок умовно здорових щурів на тлі одноразового введення екстрактів мильнянки лікарської

Для біохімічних досліджень обрали густі екстракти з трави та з коренів мильнянки лікарської, отримані з використанням 60 % етанолу, які порівнювали з контрольними щурами та щурами, яким вводили референс-препарат гідрохлортіазид. Результати досліджень представлено у таблиці 4.5.

Введення густого екстракту з коренів мильнянки лікарської супроводжувалось посиленням елімінації креатиніну з сечею у тварин та зменшенням рівня креатиніну в плазмі крові на 10,59 % ($p < 0,05$) та 19,55 % ($p < 0,05$), відповідно, відносно контрольної групи тварин. За цих умов густий екстракт з трави мильнянки лікарської також статистично зменшував вміст креатиніну в плазмі крові на 14,04 ($p < 0,05$) та невірогідно збільшував його рівень в сечі та 5,97 %. Вплив екстракту коренів мильнянки на азотовидільну функцію нирок практично не відрізнявся від препарату порівняння гідрохлортіазиду, який зменшував вміст креатиніну в плазмі крові на 17,07 % та збільшував його виділення з сечею на 9,24 % ($p < 0,05$).

Таблиця 4.5 – Вплив густих екстрактів з коренів та з трави мильнянки лікарської на показники екскреторної функції нирок за умов водного навантаження в умовно здорових щурів ($M \pm m$, $n=7$)

Показники	Групи тварин			
	Контроль	ГЕМК	ГЕМТ	Гідрохлор тіазид
Діурез, мл/6 год	$5,87 \pm 0,14$	$10,5 \pm 0,21^*$ (+78,87 %)	$7,33 \pm 0,43^*$ (+24,87 %)	$10,6 \pm 0,35^*$ (+80,57 %)
Креатинін плазми, мкмоль/л	$89,0 \pm 2,59$	$71,6 \pm 3,82^*$ (-19,55 %)	$76,5 \pm 3,17^*$ (-14,04 %)	$73,8 \pm 3,22^*$ (-17,07 %)
Креатинін сечі, ммоль/л	$7,36 \pm 0,15$	$8,14 \pm 0,22^*$ (+10,59 %)	$7,80 \pm 0,21$ (+5,97 %)	$8,04 \pm 0,24^*$ (+9,24 %)
ШКФ, мл/хв	$0,508 \pm 0,020$	$1,26 \pm 0,07^*$ 2,5 рази	$0,784 \pm 0,058^*$ 1,5 рази	$1,23 \pm 0,09^*$ 2,4 рази
КРВ, %	$97,6 \pm 0,07$	$98,2 \pm 0,10^*$	$98,0 \pm 0,06^*$	$98,2 \pm 0,10^*$
Екскреція білка з сечею, мг/6 год	$0,863 \pm 0,013$	$0,877 \pm 0,022$	$0,882 \pm 0,028$	$0,869 \pm 0,025$
Екскреція Na^+ з сечею, мкмоль/6 год	$2,54 \pm 0,13$	$5,12 \pm 0,19^*$ (2,0 рази)	$4,18 \pm 0,26^*$ (1,7 рази)	$4,87 \pm 0,31^*$ (1,9 рази)
Екскреція K^+ з сечею, мкмоль/6 год	$39,7 \pm 0,97$	$60,1 \pm 0,99^*$ (1,5 рази)	$53,8 \pm 1,32^*$ (1,6 рази)	$58,4 \pm 0,79^*$ (1,5 рази)
Na^+ / K^+ сечі	$0,064 \pm 0,003$	$0,085 \pm 0,002^*$ (1,3 рази)	$0,077 \pm 0,003^*$ (1,2 рази)	$0,083 \pm 0,005^*$ (1,3 рази)

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно контрольної групи.

Досліджувані екстракти мильнянки лікарської посилювали діурез та фільтраційну функцію нирок в умовно здорових тварин. Введення екстракту з коренів підвищувало об'єм сечі на 6-ту годину після водного навантаження на

78,87 %, що було співставним з дією гідрохлортіазиду (80,57 %)), а екстракт з надземної частини досліджуваної рослини – на 24,87 %. За цих умов ШКФ під впливом екстракту підземної частини рослини збільшувалась у 2,5 рази, тоді як екстракт надземної частини збільшував цей показник у 1,5 рази ($p < 0,05$).

Екстракти з коренів та з трави мильнянки лікарської збільшували елімінацію натрію з крові в умовно здорових щурів. Перший викликав зростання його екскреції з сечею у 2,0 рази ($p < 0,05$) відносно контрольної групи тварин, що практично не відрізнялось від такого показника на тлі дії гідрохлортіазиду (у 1,9 рази). Натрійуретична дія екстракту трави за цих умов вірогідно збільшувалась в 1,7 рази.

Також було оцінено вплив досліджуваних густих екстрактів на екскрецію з сечею калію. Встановлено, що в групах тварин, які отримували густі екстракти з коренів і з трави мильнянки лікарської, вміст цього електроліту в сечі був більшим, ніж у контрольній групі. Найпотужніший вплив виявив густий екстракт з трави – вміст калію у сечі перевершував аналогічний в групі контролю в 1,6 рази, $p < 0,05$). Дещо менший вплив (у 1,5 рази, $p < 0,05$) спостерігали в групі тварин, яким вводили густий екстракт з коренів мильнянки лікарської і на тлі дії референс-препарату (у 1,5 рази, $p < 0,05$).

Досліджувані густі екстракти, особливо, з коренів, збільшували співвідношення Na^+/K^+ у сечі інтактних щурів. Так, у тварин групи, які отримували густий екстракт з коренів, цей коефіцієнт був в 1,3 рази ($p < 0,05$) більший за аналогічний у групі контрольних щурів. На тлі введення густого екстракту з трави мильнянки лікарської цей показник був більший за контроль у 1,2 рази ($p < 0,05$), а референс-препарат викликав зростання співвідношення Na^+/K^+ у сечі також у 1,3 рази ($p < 0,05$) у порівнянні з контролем.

У той же час, обидва досліджувані фітоекстракти мильнянки лікарської, як і препарат порівняння гідрохлортіазид, збільшували реабсорбцію води в каналцях, про що свідчить вірогідне зростання показника КРВ порівняно з контрольними тваринами (98,0-98,2 %).

Досліджувані густі екстракти мильнянки лікарської, як і референс-препарат, не викликали змін екскреції білка з сечею умовно здорових щурів, що може свідчити на користь відсутності у них нефротоксичного впливу за умов застосування в таких умовно-терапевтичних дозах.

Таким чином, обидва густі екстракти мильнянки лікарської проявляють досить потужну діуретичну дію, яка реалізується переважно за рахунок підвищення швидкості клубочкової фільтрації, елімінації креатиніну, екскреції натрію та калію з сечею. За цією активністю густий екстракт з коренів практично співставляється з ефектом гідрохлортіазиду, а густий екстракт з трави поступається їм за силою дії, хоча його ефект також статистично переважав показники групи контрольних тварин. Водночас обидва густі екстракти мильнянки не впливали на екскрецію білка з сечею, що опосередковано свідчить про нешкідливість БАР, що містяться в досліджуваних густих екстрактах мильнянки лікарської, щодо нирок, а також не впливають на процеси канальцевої реабсорбції води, що дозволяє вважати їх діуретичну дію помірною. Отримані дані дають змогу припустити, що механізм діуретичної дії густих екстрактів мильнянки пов'язаний із покращенням клубочкової фільтрації, що є притаманним для діуретичних засобів рослинного походження. Нами також не було отримано даних про можливість впливу БАР мильнянки лікарської на систему альдостерону в нирках. БАР мильнянки лікарської мають багатогранну дію та можуть впливати на різні ланки патогенезу захворювань нирок.

За даними літератури, діуретичні і нефропротекторні властивості БАР багатьох рослин (флавоноїдів, ізофлавононів, гідроксикоричних кислот та ін.) пояснюються їхньою здатністю покращувати функціональний стан нирок за гострого та хронічного ураження за рахунок протизапальних, антиоксидантних, антиапоптотичних властивостей, здатністю покращувати кровопостачання нирок, посилювати діурез, клубочкову фільтрацію [19, 20, 35, 91, 129, 188, 260, 275].

4.5 Результати дослідження антиоксидантної активності сухого екстракту з трави чорнобривців золотистих *in vitro*

Враховуючи, що сухий екстракт з трави чорнобривців золотистих містить значну кількість сполук фенольної природи, які, за даними джерел літератури [217], проявляють антиоксидантну активність, ми провели визначення даної активності *in vitro*.

Результати дослідження показали, що сухий екстракт з трави чорнобривців золотистих продемонстрували непогану здатність поглинати вільний радикал DPPH. Значення IC50 становило 311,57 мкг/мл (значення стандарту 118,94 мкг/мл.) Досліджувана антиоксидантна активність мала дозозалежний ефект як показано у таблиці 4.6.

Таблиця 4.6 – Вплив сухого екстракту з трави чорнобривців золотистих на здатність інгібувати DPPH радикальну активність

Досліджувані зразки	% DPPH радикальна активність					IC50, мкг/мл
	Концентрація досліджуваних зразків, мкг/мл					
	100	200	400	800	1000	
Розчин АсК	43,84	75,86	92,48	94,85	97,88	118,94 ± 2,35
СЕЧТ	30,49	37,94	60,73	77,73	81,09	311,57 ± 3,02

Можна зробити висновок, що антиоксидантна активність є для досліджуваного екстракту чорнобривців золотистих трави досить високою.

Висновки до розділу 4:

1. Розроблено оптимальні умови одержання густих екстрактів з трави і з коренів мильнянки лікарської та сухого екстракту з трави чорнобривців золотистих. Визначено у густих екстрактах з сировини мильнянки лікарської кількісний вміст суми флавоноїдів, суми гідроксикоричних кислот, суми

фенольних сполук та суми сапонінів; у сухому екстракті чорнобривців – суми флавоноїдів, суми гідроксикоричних кислот і суми фенольних сполук.

2. Розроблено проекти МКЯ на одержані субстанції «Мильнянки лікарської трави екстракт густий», «Мильнянки лікарської коренів екстракт густий» та «Чорнобривців золотистих трави екстракт сухий».

3. Встановлено, що за результатами визначення гострої токсичності одержані густі екстракти мильнянки лікарської за класифікацією К. К. Сидорова можна віднести до IV класу токсичності – малотоксичні речовини, сухий екстракт чорнобривців золотистих трави – до V класу токсичності – практично нетоксичні речовини.

4. Встановлено діуретичну дію густих екстрактів з трави і з коренів мильнянки лікарської та сухого екстракту з трави чорнобривців золотистих у дозі 100 мг/кг. Доведено нефропротекторну активність густих екстрактів мильнянки лікарської, яка реалізується за рахунок протизапальних, антиоксидантних, антиапоптозних властивостей БАР екстракту (сполук фенольної природи і сапонінів), та практично не поступається за активністю препарату порівняння гідрохлортіазиду.

5. *In vitro* досліджено антиоксидантну активність сухого екстракту з трави чорнобривців золотистих. Встановлено, що досліджуваний екстракт показав непогану здатність поглинати вільний радикал DPPH.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в наукових публікаціях автора [37, 58].

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та представлено практичні результати вирішення наукових завдань, що полягають у комплексному фармакогностичному дослідженні мильнянки лікарської трави і коренів та чорнобривців золотистих трави як потенційних сечогінних засобів

1. Проведено критичний аналіз оригінальних вітчизняних та закордонних джерел літератури з метою встановлення актуальності досліджень мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих як джерел нової перспективної лікарської рослинної сировини.

2. За допомогою реакцій ідентифікації та методами хроматографічного аналізу у мильнянки лікарської трави і коренях та у чорнобривців золотистих трави виявлено органічні та жирні кислоти, вуглеводи, амінокислоти, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, конденсовані дубильні речовини; у мильнянки лікарської – сапоніни.

3. Методом ГХ/МС у сировині чорнобривців золотистих, методом ВЕРХ у сировині мильнянки лікарської встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст амінокислот. У чорнобривців золотистих трави ідентифіковано 11 зв'язаних амінокислот і 5 вільних; у мильнянки лікарської трави і коренях – по 16 вільних і зв'язаних амінокислот. У чорнобривців золотистих трави домінував пролін. Вміст вільного L-проліну становив 6,44 мкг/мг, зв'язаного – 18,82 мкг/мг. У мильнянки лікарської коренях з вільних амінокислот переважали L-аргінін (0,42 мкг/мг) і L-пролін (0,34 мкг/мг); зі зв'язаних – L-аргінін (2,02 мкг/мг) і гліцин (1,65 мкг/мг). У мильнянки лікарської трави з вільних амінокислот домінували L-аланін (1,35 мкг/мг), L-валін (0,90 мкг/мг) і L-лейцин (0,76 мкг/мг); зі зв'язаних – гліцин ((4,26 мкг/мг), L-глутамінова кислота (3,37 мкг/мг) і L-аргінін (2,64 мкг/мг).

Методом ГХ/МС у сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих проведено визначення якісного складу і встановлено кількісний вміст моноцукрів і сахарози. У мильнянки лікарської трави і коренях виявлено по 9 моноцукрів після кислотного гідролізу, ідентифіковано по 7, вільних цукрів виявлено по 8, ідентифіковано по 3 компоненти і сахарозу; у чорнобривців золотистих трави виявлено 10 моноцукрів після кислотного гідролізу, ідентифіковано 7, вільних цукрів виявлено 10, ідентифіковано 5 і дицукор сахарозу. З вільних цукрів у мильнянки лікарської трави і чорнобривців золотистих трави домінувала D-глюкоза ($3,65 \pm 0,05$ мг/г і $6,56 \pm 0,04$ мг/г відповідно), у коренях – D-фруктоза ($10,79 \pm 0,01$ мг/г); з моноцукрів після гідролізу у мильнянки лікарської трави переважала D-глюкоза ($30,25 \pm 0,14$ мг/г), в коренях – D-галактоза ($33,91 \pm 0,16$ мг/г), у чорнобривців золотистих трави – D-ксилоза ($36,62 \pm 0,02$ мг/г). Спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст водорозчинних полісахаридів та пектинових речовин у мильнянки лікарської трави і коренях та чорнобривців золотистих трави, що становило $(8,64 \pm 0,22)$ %, $(10,75 \pm 0,20)$ %, $(12,36 \pm 0,17)$ % і $(5,15 \pm 0,05)$ %, $(5,70 \pm 0,15)$ %, $(7,12 \pm 0,10)$ % відповідно.

4. У мильнянки лікарської трави і коренях та у чорнобривців золотистих трави вперше встановлено компонентний склад та визначено кількісний вміст органічних і жирних кислот. Методом ВЕРХ у мильнянки лікарської трави і коренях ідентифіковано і встановлено кількісний вміст винної, піровиноградної, ізолімонної, бурштинової і фумарової кислот, у коренях – піровиноградної, ізолімонної, лимонної, бурштинової та фумарової. У мильнянки лікарської трави домінували ізолімонна ($120,83$ мг/г) та піровиноградна ($25,14$ мг/г) кислоти; в коренях – бурштинова кислота ($0,79$ мг/г). Методом ГХ/МС у чорнобривців золотистих трави ідентифіковано і встановлено кількісний вміст щавлевої, малонової, фумарової, бурштинової, яблучної, лимонної, ванілінової, ізолімонної, сирінгової, ферулової кислот. Кількісно переважали лимонна ($4315,5$ мг/кг) та малонова ($1367,2$ мг/кг)

кислоти. Титриметричним методом у мильнянки лікарської трави і коренях та у чорнобривців золотистих трави визначено кількісний вміст суми органічних кислот – $(1,10 \pm 0,10)$ %, $(0,89 \pm 0,10)$ % і $(1,67 \pm 0,12)$ % відповідно. Спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст аскорбінової кислоти у мильнянки лікарської трави і коренях і у чорнобривців золотистих трави – $(0,41 \pm 0,01)$ %, $(0,34 \pm 0,02)$ % і $(0,64 \pm 0,02)$ % відповідно.

Проаналізовано жирнокислотний склад сировини мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих. У ліпофільній фракції чорнобривців золотистих трави ідентифіковано 9 жирних кислот, у ліпофільній фракції мильнянки лікарської трави – 11, коренів – 8. У мильнянки лікарської трави і чорнобривців золотистих трави домінували ненасичені жирні кислоти, вміст яких становив 59,94 % і 53,12 % від загального вмісту кислот; у мильнянки лікарської коренях – насичені жирні кислоти (65,28 % від загального вмісту кислот). В усіх досліджуваних об'єктах кількісно переважали ліолева і ліоленова ненасичені жирні кислоти.

5. Спектрофотометричним методом встановлено кількісний вміст сполук фенольної природи: суми фенольних сполук, суми гідроксикоричних кислот і суми флавоноїдів, який становив $(7,48 \pm 0,12)$ %, $(0,64 \pm 0,05)$ %, $(7,88 \pm 0,15)$ %; $(3,88 \pm 0,04)$ %, $(0,52 \pm 0,03)$ % $(4,22 \pm 0,10)$ % і $(2,86 \pm 0,11)$ %, $(0,69 \pm 0,02)$ %, $(4,18 \pm 0,57)$ % відповідно. Найвищий вміст фенольних сполук спостерігали у сировині чорнобривців золотистих. Методом ВЕРХ у мильнянки лікарської трави і коренях і чорнобривців золотистих трави виявлено, ідентифіковано та встановлено кількісний вміст хлорогенової, кофейної, сирінгової, *p*-кумарової, транс-ферулової, синапової, транс-цинамової, хінної і гідроксифенілацетатної гідроксикоричних кислот; у траві мильнянки лікарської з флавоноїдів ідентифіковано ізокверцитрин і кемпферол; у коренях – кверцетин, у траві чорнобривців – ізокверцитрин, нарингін, кемпферол і кверцетин. У мильнянки лікарської трави виявлено і визначено кількісний вміст компонентів конденсованих дубильних речовин – галокатехіну та епікатехіну, у

коренях – галокатехіну, у чорнобривців золотистих траві – галокатехіну, епікатехінут та епікатехін галату.

6. Методом хромато-мас-спектрометрії встановлено якісний складі та визначено кількісний вміст компонентів летких сполук сировини мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих. У мильнянки лікарської траві виявлено 20 компонентів летких сполук, з яких ідентифіковано 7, відсоток збігу яких становив 80-98 %; в коренях виявлено 13 компонентів, ідентифіковано – 6, відсоток збігу яких становив 90-98 %. Компонентний склад обох досліджуваних об'єктів представлений в основному парафіновими вуглеводнями та естерами жирних кислот. У чорнобривців золотистих траві виявлено 28 компонентів летких сполук, з яких ідентифіковано – 14. Переважаючими компонентами є н-пентакозан (62,70 мг/кг), спатуленон (35,76 мг/кг), естрагол (29,76 мг/кг), вератрол (28,60 мг/кг), валеранон (17,95 мг/кг).

Методом надвисокоєфективної рідинної хроматографії-мас-спектрометрії (УВЕРХ-МС) у досліджуваних зразках мильнянки лікарської ідентифіковано 23 сапоніни. У значних кількостях у мильнянки лікарської траві і коренях міститься сапонаріозид А і сапонаріозид В, вміст яких становив $(5,92 \pm 0,56)$ мг/г і $(5,54 \pm 0,30)$ мг/г та $(1,36 \pm 0,18)$ мг/г і $(12,15 \pm 1,32)$ мг/г відповідно. Корені містили також у значній кількості 3-О- β -D-галактопіранозил-(1 \rightarrow 2)-[β -D-ксилопіранозил-(1 \rightarrow 3)]- β -D-глюкуронопіранозил-квілаєва кислота-28-О- β -D-глюкопіранозил-(1 \rightarrow 3)- β -D-ксилопіранозил-(1 \rightarrow 4)- α -L-рамнопіранозил-(1 \rightarrow 2)-[β -D-ксилопіранозил-(1 \rightarrow 3)-(4-О-ацетил)- β -D-хіновопіранозил-(1 \rightarrow 4)]- β -D-фукопіранозид, вміст якого становив $(6,99 \pm 0,27)$ мг/г. Вміст суми сапонінів був вищий у мильнянки лікарської коренях і становив $(4,3 \pm 0,01)$ %, дещо менший – у траві – $(4,0 \pm 0,01)$ %.

7. Досліджено якісний склад і встановлено кількісний вміст макро- і мікроелементів у сировині мильнянки лікарської і чорнобривців золотистих. У мильнянки лікарської траві виявлено 12 елементів: 4 макро- (Са, Mg, К, Na) та 8

мікроелементів (Fe, Zn, Cu, Cr, Mn, Ni, Se, Si), не виявлено кадмію; у коренях – 11 елементів – 4 макро- і 7 мікроелементів; не виявлено силіцію і кадмію; у чорнобривців золотистих траві – 10 елементів: 4 макро- (Ca, Mg, K, Na) та 6 мікроелементів (Fe, Zn, Cu, Mn, Cd, Se, Si), не виявлено хрому, нікелю і силіцію. Встановлено значне накопичення калію, вміст якого у мильнянки лікарської траві становив 37646 мг/кг, у коренях – 8170 мг/кг, у чорнобривців золотистих траві – 12254 мг/кг.

8. Визначено основні діагностичні морфолого-анатомічні ознаки мильнянки лікарської траві. Розроблено проекти МКЯ на нову ЛРС «Мильнянки лікарської трава».

9. Визначено оптимальні умови одержання густого екстракту з траві і з коренів мильнянки лікарської та сухого екстракту з траві чорнобривців золотистих, визначено кількісний вміст основних груп БАР. Розроблено проекти МКЯ на одержані субстанції «Мильнянки лікарської траві екстракт густий», «Мильнянки лікарської коренів екстракт густий» та «Чорнобривців золотистих траві екстракт сухий». Проведено фармакологічні дослідження досліджуваних екстрактів, встановлено у них сечогінну активність. Доведено виражену нефропротекторну активність густих екстрактів мильнянки лікарської, яка практично не поступається препарату порівняння гідрохлортіазиду. *In vitro* досліджено антиоксидантну активність сухого екстракту з траві чорнобривців золотистих. За класифікацією К. К. Сидорова густі екстракти мильнянки лікарської віднесено до IV класу токсичності – малотоксичні речовини, сухий екстракт чорнобривців золотистих траві – до V класу токсичності – практично нетоксичні речовини.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Амінокислотний склад трави *Polygonum hydropiper* L. та *Polygonum persicaria* L. флори України / І. А. Лукіна, О. В. Мазулін, Г. П. Смойловська, Г. В. Мазулін, І. М. Шевченко. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2015. № 1 (17). С. 56–59.
2. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Амінокислотний склад трави та коренів деяких перспективних рослин роду *Teucrium* L. флори України. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2021. Т. 15, № 6. С. 414–419.
3. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Вивчення вмісту полісахаридів у траві самосилу гайового та самосилу гірського *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2022. Т. 16, № 2. С. 131–135.
4. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Дослідження мікро- та макроелементного складу двох видів роду самосил (*Teucrium* L.) *Фармацевтичний часопис*. 2022. № 1. С. 20–24.
5. Баула О. П., Деркач Т. М. Забезпечення якості лікарських засобів рослинного походження: стан та перспективи. *Фармацевтичний часопис*. 2017. № 2. С. 79–86.
6. Бердей Т. Дослідження елементного складу трави рослин роду Чорнобривці. *Матеріали XIV Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених*, 13–15 квітня 2010 р. Тернопіль, 2010. С. 276.
7. Бердей Т. С. Фармакогностичне вивчення рослин роду чорнобривці з метою створення нових лікарських засобів : дис. ... канд. фарм. наук : 15.00.02 / НФаУ. Х., 2015. 24 с.
8. Берхин Е. Б. Методы изучения действия новых химических соединений на функцию почек. *Хим.-фарм.журн.* 1977. Т. 11, № 5. С. 3–11.
9. Беленічев І. Ф., Єгоров А. А. Синергізм фармакологічного ефекту гліцину та тіотріазоліну. *Патологія*. 2021. Т. 18, № 1 (51). С. 26–32.

10. Валько Т., Костишин Л. Порівняльний аналіз якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот у сировині чорнобривців золотистих. *Матеріали XXVI Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених*, 13–15 квітня 2022 р. Тернопіль, 2022. С. 130–131.

11. Вибір оптимального екстрагенту для вилучення комплексу біологічно активних речовин з листя та з кореневищ з коренями первоцвіту весняного / Л. Г. Шостак, С. М. Марчишин, М. М. Васенда, Л. В. Гусак *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. № 4 (15). С. 46–51.

12. Вивчення амінокислотного складу трави та підземних органів гадючника в'язолистого *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. / Н. Є. Бурда, І. О. Журавель, В. С. Кисличенко, В. Б. Демьохін. *Фармацевтичний журнал*. 2011. № 2. С. 102–104.

13. Вивчення жирних кислот трави анісу звичайного / У. А. Умаров, С. В. Колісник, О. О. Алтухов та ін. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2020. Т. 18, вип. 4 (72). С. 56–58.

14. Визначення кількісного вмісту суми фенольних сполук у сировині чорнобривців золотистих / Л. В. Костишин, С. М. Марчишин, В. В. Валько, Л. В. Слободянюк. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали IV Міжнародної наук.-практ. інтернет-конф., 8 квітня 2022 р.). Х. : НФаУ, 2022. С. 51.

15. Вміст кислот гідроксикоричних у траві та кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.) / Е. А. Паращук, С. М. Марчишин, М. В. Кирилів, І. Р. Бекус. *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20, № 3. С. 90–95.

16. Вміст органічних кислот у лікарських рослинах / О. В. Скринчук, І. М. Івасюк, Л. В. Костишин, С. М. Марчишин. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* :

матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 23–24 вересня 2020 р. Тернопіль : ТНМУ, 2020. С. 50–51.

17. Вміст сапонінів у кореневищах з коренями та листках первоцвіту весняного / С. М. Марчишин, Л. Г. Шостак, С. С. Наконечна, Т. Я. Ярошенко. *Медична та клінічна хімія*. 2017. Т. 19, № 2. С. 25–29.

18. Войцехівська О. В., Ситар О. В., Таран Н. Ю. Фенольні сполуки: різноманіття, біологічна активність, перспективи застосування. *Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія біологія*. 2015. Вип. 1 (34). С. 104–119.

19. Волощук Н. І. Оцінка впливу препарату ЕКСО на терапевтичну активність та гастротоксичність нестероїдних протизапальних засобів у самців та самок щурів. *Biomedical and biosocial anthropology*. 2010. № 14. С. 83–87.

20. Волощук Н. І. Порівняльна оцінка нефротоксичної дії диклофенаку натрію, німесулідів та целекоксибу у самців та самок щурів та нефропротективна дія препаратів флавоноїдів та ізофлавоноїдів. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2008. № 5–6. С. 68–74.

21. Вплив L-аргініну та особливості фармакокорекції стану ендотелію серця щурів в умовах дії емоційно-больового стресу, ускладненого гіперхолестеринемією / І. М. Лучко, Т. В. Гуранич, О. І. Тучак та ін. *Art of Medicine*. 2019. № 4 (12). С. 80–83.

22. Гнілуша Н. В., Калніна А. А. Теоретичні аспекти дослідження лікарських рослин. *Екологічний Вісник Криворіжжя*. 2019. Вип. 4. С. 135–142.

23. Грицик А. Р., Свірська С. П. Дослідження вуглеводів воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.). *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20. № 2. С. 45–50.

24. Данілова І. С. Вміст жирних кислот у м'ясі різних видів равликів. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*. 2018. № 4. С. 168–173.

25. Делян Є. П. Амінокислотний склад надземних органів рослин роду *Sonchus*. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2016. № 1 (47). С. 102–106.

26. Дерев'янку Т. В. Протимікробні властивості біогенних летких органічних речовин деревних рослин. *Біологія та екологія*. 2019. Т. 5, № 1. С. 107–112.

27. Державна фармакопея України / Держ. п-во “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. 1-ше вид., доп. 3. 2009. 280 с.

28. Державна Фармакопея України / Держ. підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр. 1 вид., Доповн. 2. X. : Держ. підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр. 2008. 620 с.

29. Державна Фармакопея України / Держ. підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доп. 2. X. : Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. 336 с.

30. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид., доп. 1. X. : Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.

31. 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.

32. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид., Т. 1. X.: Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. 1128 с. (ДУБ., втрата в масі, екстра.)

33. Діденко Н. О., Волков Р. А., Панчук І. І. Вплив сольового стресу на вміст проліну та поліфенольних сполук у *Arabidopsis thaliana*. *Біологічні системи*. 2016. Т. 8, вип. 1. С. 35–39.

34. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / За ред. члена-кор. АМН України О. В. Стефанова. К. : Авіценна, 2001. 528 с.

35. Дорошенко О. Г. Марчишин С. М. Фітохімічне дослідження збору діуретичного. *Медична та клінічна хімія*. 2016. Т. 18, № 3 (68). С. 50–53.
36. Дослідження впливу оригінальних фітозборів на видільну функцію нирок в експерименті / С. М. Марчишин, О. Г. Дорошенко, О. О. Койро, Н. С. Чорна. *Фітотерапія. Часопис*. 2015. № 1. С. 76–79.
37. Дослідження впливу природи екстрагента на вилучення комплексу біологічно активних речовин із мильнянки лікарської трави та коренів / Л. Костишин, С. Чолач, С. Марчишин та ін. *Фітотерапія. Часопис*. 2022. № 3. С. 86–92.
38. Дослідження вуглеводів кореневищ і коренів та трави родовика лікарського (*Sanguisorba officinalis* L.) / С. М. Марчишин, В. В. Кудря, І. С. Дахим, О. В. Зарічанська. *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20, № 1. С. 93–99.
39. Дослідження гідроксикоричних кислот підземних органів катрану серцелистого та катрану коктебельського / О. Я. Скринчук, С. М. Марчишин, Л. В. Слободянюк, М. М. Когут. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 4. С. 91–95.
40. Дослідження дубильних речовин у сировині дудника лісового і дягелю лікарського методом високоефективної рідинної хроматографії / І. М. Потішний, В. В. Юрків, Л. В. Слободянюк та ін. *Медична та клінічна хімія*. 2022. Т. 24, № 3. С. 70–75.
41. Дослідження елементного складу підлісника європейського та астранції великої / Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин, Л. М. Грицик, А. Р. Грицик. *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20, № 2. С. 112–116.
42. Дослідження органічних кислот у траві та підземних органах *Saponaria officinalis* L. / Л. В. Костишин, Л. В. Слободянюк, С. М. Марчишин, О. Л. Демидяк, Л. Ю. Ляшенко. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22. № 4. С. 77–82.

43. Дослідження полісахаридних комплексів рослин родини *Asteraceae* / С. М. Марчишин, О. Л. Демидяк, І. С. Дахим та ін. *Scientific Journal «ScienceRise»*. 2015. № 10/4 (15). С. 31–35.
44. Дослідження флавоноїдів мильнянки лікарської / Л. В. Костишин, М. А. Ежнед, А. Р. Бабин, Н. М. Михайлюк. *ВІМСО* : матеріали Буковинського міжнар. медико-фармацевтичного конгресу студентів та молодих вчених, 7–8 квітня 2020 р. Чернівці, 2020. С. 182.
45. Екофлора України. Т. 3 / М. М. Федорчук, Я. П. Дідух та ін. Київ : Фітосоціоцентр, 2002. 496 с.
46. Екстракція рослинної сировини / І. Ю. Сидоров, І. І. Губицька, Р. Т. Конечна, В. П. Новіков. Львів : Видавництво Національного університету «Львівська політехніка», 2008. 334 с.
47. Елементний склад квіток та листків хризантеми садової багаторічної (*Chrysanthemum × hortorum Bailey*) / С. М. Марчишин, О. В. Полонець, М. С. Гарник, О. Л. Демидяк. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. № 5 (52). С. 46–49.
48. Іванов Д. Д. Здоров'я нефрона – запорука стабільного артеріального тиску. *Почки*. 2021. Т. 10, № 3. URL: <http://www.mif-ua.com/archive/article/50990> (дата звернення: 10.03.2023). Назва з екрану.
49. Іванов Д. Д. Як потенціювати дію інгібіторів ренін-ангіотензин-альдостеронової системи? *Почки*. 2021. Т. 10, № 3. URL: <http://www.mif-ua.com/archive/article/509901> (дата звернення: 10.03.2023). Назва з екрану.
50. Іосипенко О. О., Кисличенко В. С., Омельченко З. І. Вивчення амінокислотного складу листя кабачків. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 2. С. 72–80.
51. Карпюк У. В., Кисличенко В. С. Дубильні речовини шкірки та ендосперму насіння гіркокаштану кінського. *Зб. наук. праць співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2015. Вип. 24 (5). С. 113–118.

52. Кініченко О. А. Дослідження амінокислотного складу *Portulaca oleracea* L. та *Portulaca grandiflora* Hook. *Фармацевтичний часопис*. 2016. № 4. С. 5–7.
53. Ковалев С. В. Химическое исследование липофильной фракции травы люцерны серповидной. *Запорожский медицинский журнал*. 2013. № 3 (78). С. 94–97.
54. Ковтун-Водяницька С. М. Мінеральний склад сировини рослин роду *Isodon* (Schrad. ex Benth.) Spach. *Наукові записки НаУКМА. Біологія та екологія*. 2016. Т. 184. С. 29–33.
55. 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.
56. Козир Г. Р., Марчишин С. М. Дослідження цукрознижувальної дії сухого екстракту трави чорнобривців. *Фітотерапія. Часопис*. 2018. № 4. С. 42–45.
57. Койро О. О., Штриголь С. Ю., Міщенко О. Я. Нейропротекторні властивості препаратів яглиці звичайної. *Вода: гігієна і екологія*. 2014. № 1–4 (2). С. 59–66.
58. Костишин Л. В., Валько Т. В., Марчишин С. М. Вивчення гострої токсичності сухого екстракту з трави чорнобривців золотистих (*Tagetes lucida* Cav.). *Хімія природних сполук: матеріали VI Всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 27–28 жовтня 2022 р. Тернопіль : ТНМУ, 2022. С. 115–117.*
59. Костишин Л. В., Марчишин С. М., Горошко О. М. Макро- та мікроелементний склад трави та підземних органів мильнянки лікарської. *Актуальні питання фармакології та фармакотерапії : матеріали Всеукраїнської наук.-практ. конф., 26–27 вересня 2019 р. Тернопіль : ТНМУ, 2019. С. 33–34.*
60. Костишин Л. В., Марчишин С. М., Ляшенко Л. Ю. Порівняльний аналіз якісного складу та кількісного вмісту речовин первинного синтезу у

надземних і підземних органах мильнянки лікарської. *PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА* : матеріали Міжнародної наук.-практ. конф., 19 лютого 2021 р. Київ : ПАЛИВОДА А. В., 2021. С. 113–114.

61. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. М. : Высшая школа, 1980. 272 с.

62. Кривцова М., Грицина М., Саламон І. Хімічний склад та антимікробні властивості ефірної олії *Origanum vulgare* L. різних місцезростань. *Biotechnologia Acta*. 2020. Т. 13, № 3. С. 64–72.

63. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник / под общ. ред. проф. В. В. Меньшикова. М. : Медицина, 1987. 368 с.

64. Лекарственные растения, почки и обмен мочевой кислоты / С. Ю. Штрыголь, О. В. Товчига, О. О. Койро, С. И. Степанова. Х. : Титул. 2014. 424 с.

65. Лікарські рослини: технологія вирощування та використання / Б. Є. Якубенко, В. Г. Біленко, Я. О. Лікар, В. І. Лушпа. Перевид. / За ред. д-ра біол. наук, проф. Б. Є. Якубенка. К.: Ліра-К, 2020. 598 с.

66. Лях В. Р., Конечна Р. Т. Прикладні аспекти застосування лікарських рослин родини *Ranunculaceae* в етномедицині та фармації. *Challenges and achievements of medical science and education*. 2020. С. 203–217.

67. Макро- та мікроелементи (обмін, патологія та методи визначення): монографія / М. В. Погорелов, В. І. Бумейстер, Г. Ф. Ткач та ін. Суми : Вид-во СумДУ, 2010. 147 с.

68. Малюгіна О. О., Мазулін О. В., Мазулін Г. В. Визначення кількісного вмісту флавоноїдів у суцвіттях чорнобривців розлогих і прямостоячих. *Запорожский медицинский журнал*. 2013. № 6 (81). С. 88–91.

69. Марчишин С. М., Блажеєвський М. Є., Козачок С. С. Дослідження кількісного вмісту аскорбінової кислоти у зборі антиалергійному. *Фармацевтичний журнал*. 2012. № 5. С. 101–104.

70. Марчишин С. М., Бердей Т. С., Демидяк О. Л. Макро- та мікроскопічні ознаки і хімічний склад трави рослин роду Чорнобривці. Методичні рекомендації. К., 2013. 32 с.

71. Марчишин С. М., Будняк Л. І., Івасюк І. М., Дослідження дубильних речовин у траві та бульбах смикавця їстівного (чуфи) (*Superus esculentus* L.) методом ВЕРХ. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, № 2 (33). С. 225–229.

72. 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.

73. Марчишин С.М., Гусак Л.В., Демидяк О.Л. Визначення летких сполук чистецю Зібольда (*Stachys Sieboldii* Miq.). *Фітотерапія. Часопис*. 2017. № 3. С. 64–67.

74. Марчишин С. М., Зарічанська О. В., Щербакова Т. О. Визначення якісного складу та кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у сировині рослин роду лілійник (*Heimerocallis* L.). *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2015. № 2,3. С. 101–103.

75. Марчишин С. М., Савич А. О. Фітохімічне вивчення нового рослинного збору з антидіабетичною дією (повідомлення I – речовини первинного синтезу). *Медична та клінічна хімія*. 2016. Т. 18. № 1. С. 45–46.

76. Марчишин С. М., Сіра Л. М., Данилюк Б. Б. Морфолого-анатомічна будова трави чорнобривців золотистих (*Tagetes patula* L.). *Фармацевтичний часопис*. 2014. № 1. С. 40–46.

77. Марчишин С. М., Стойко Л. І., Мосула Л. М. Визначення флавоноїдів тирличу хрещатого трави (*Gentiana cruciata* L.). *Фітотерапія. Часопис*. 2018. № 2. С. 58–61.

78. Марчишин С. М., Сушко Н. О. Лікарські рослини Тернопільщини. Тернопіль : Навчальна книга – Богдан, 2007. С. 69–70.

79. Марчишин С. М., Щокіна К. Г., Наконечна С. С. Вплив густого

екстракту трави фіалки триколірної (*Viola tricolor* L.) на видільну функцію нирок інтактних щурів. *Фармацевтичний журнал*. 2013. № 1. С. 92–95.

80. Машковська С. П. Алелопатичні та біохімічні особливості видів роду Чорнобривці (*Tagetes* L.) : дис. ... канд. біол. наук : 03.00.12 / НАН України; Національний ботанічний сад ім. М. М. Гришка. К., 2002. 22 с.

81. Методика підготовки та проведення лабораторних занять з фармакогнозії: навч.-метод. посіб. : у 2 т. / В. С. Кисличенко, С. М. Марчишин, З. І. Омельченко та ін. ; за ред. В. С. Кисличенко, С. В. Огарь. Тернопіль : ТДМУ, 2016. Т. 1. 395 с.

82. Методика підготовки та проведення лабораторних занять з фармакогнозії : навч.-метод. посіб. : у 2 т. / В. С. Кисличенко, С. М. Марчишин, З. І. Омельченко та ін.; за ред. В. С. Кисличенко, С. М. Марчишин. Тернопіль : ТДМУ, 2018. Т. 2. 304 с.

83. Мильнянка лікарська [Електронний ресурс] Корисні властивості мильнянки. URL: <https://filters.od.ua/poleznye-svojstva-mylnyanki/> (дата звернення: 2.09.2022). Назва з екрану.

84. Михайленко О. О., Ковалев В. М., Кречун А. В. Дослідження ліпофільної фракції листя *Iris hungarica* (*Iridaceae*). *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, 13–16 верес. 2016 р. Х., 2016. Т. 1. С. 118–119.

85. Михалюк О. Б. Дослідження ліпофільної фракції листків і плодів лимонника китайського. *Український біофармацевтичний журнал*. 2013. № 5. С. 45–49.

86. Мінарченко В. М. Лікарські судинні рослини України (медичне та ресурсне значення). К. : Фітосоціоцентр, 2005. С. 34.

87. Мірзоєва Т. В. Щодо питання економічної ефективності виробництва лікарських рослин і лікарської рослинної сировини. *Проблеми економіки*. 2018. № 3 (37). С. 267–272.

88. Мусієнко С. Г., Кисличенко В. С. Дослідження фенольних сполук сировини лавра благородного. *Зб. наук. праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2014. Вип. 23 (4). С. 341–344.

89. Науменко Л. С., Попова Н. В. Дослідження вуглеводів сировини обліпихи звичайної. *Український біофармацевтичний журнал*. 2020. № 4 (65). С. 64–69.

90. Науменко Л. С., Попова Н. В., Бобрицька Л. О. Гідроксикоричні кислоти обліпихи крушиноподібної. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 4 (61). С. 70–74.

91. Новые перспективы нефропротекции / С. Ю. Штрыголь, О. В. Товчига, О. О. Койро и др. *Буковинський медичний вісник*. 2012. № 3 (63). С. 35–37.

92. Носенко О. М. Можливості застосування міо-інозитулу в репродуктивній медицині [Електронний ресурс]. Здоров'я України. URL: https://health-ua.com/multimedia/userfiles/files/2020/Akush_2_2020/Akysh_2_2020_st22-3.pdf (дата звернення: 16.01.2023). Назва з екрану.

93. Обґрунтування вибору екстрагенту для вилучення комплексу біологічно активних речовин з катрану серцелистого листків і коренів / С. М. Марчишин, О. Я. Скринчук, М. М. Васенда, І. С. Дахим, О. Л. Демидяк. *Фітотерапія. Часопис*. 2021. № 4. С. 66–69.

94. Обґрунтування та розробка технології екстрактів на основі функціональної фітокомпозиції «Антистрес» адаптогенного призначення / О. М. Ройко, Л. Ю. Арсеньєва, О. Ю. Ройко, О. П. Паламарчук. *Вчені записки ТНУ імені В.І. Вернадського*. 2019. Т. 30 (69), ч. 2, № 4. С. 111–116.

95. Определение флавоноидов и гидроксикоричных кислот в траве *Tagetes erecta* L., *Tagetes patula* L. и *Tagetes tenuifolia* Cav. методом ВЭЖХ / С. М. Марчишин, Т. С. Бердей, С. С. Козачок, О. Л. Демидяк. *Медицина и*

образование в Сибири. 2013. № 6. URL: http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1205.

96. Определитель высших растений Украины / Д. Н. Доброчаева, М. И. Котов, Ю. Н. Прокудин [и др.]. 2-е изд., стереот. К. : Фитосоциоцентр, 1999. 548 с.

97. Панасенко О. І., Горяча Л. М., Гуцол В. В. Дослідження органічних кислот у сировині амброзії полинолістої. *Медична та клінічна хімія.* 2018. Т. 20, № 1. С. 16–20.

98. Пат. № 127365 Україна, МПК А61К 9/08 (2006.01) А61К 36/53 (2006.01) В01D 11/04 (2006.01) А 61Р 3/10 (2006.01). Отримання рослинної субстанції з гіпоглікемічною активністю / Марчишин С. М., Гусак Л. В., Міщенко Л. Т. № u 2018 02292 ; заявл. 05.03.2018 ; опубл. 25.07.2018, Бюл. № 14.

99. Перспективи вивчення застосування препаратів кверцетину в лікуванні COVID-1 / І.А. Зупанець, О.А. Голубовська, А.В. Шкурба та ін. *Укр. мед. часопис.* 2020. Т. 1, № 2 (136). С. 75–78.

100. Перспективи використання сапонінів в медичній практиці / Л. В. Костишин, С. М. Марчишин, О. І. Захарчук, О. М. Горошко, І. М. Сахацька, М. А. Ежнед, М. Р. Матушак. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали V міжнародної наук.-практ. інтернет-конф., 26 листопада 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 251–255.

101. Повний атлас лікарських рослин / укладач І. С. Алексеев. Донецьк : ТОВ «Глорія Трейд», 2013. С. 215.

102. Попов С. Б., Слюсаренко І. Т. Вивчення ефективності та переносимості препарату Гліцисед-КМП у хворих з вегетосудинними розладами. *Health-ua.com.* URL: <https://health-ua.com/article/18681-vivchennya-efektivnost-ta-perenosimost-preparatu-gltsisedkmp-u-hvorih-z-veg> (дата звернення: 4.01.2023). Назва з екрану.

103. Попова Н. В., Ткаченко М. Ф., Липовецький П. В. Дослідження летких сполук цмину піскового. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шутика*. 2014. Вип. 23 (4). С. 363–369.

104. Практикум з ідентифікації лікарської рослинної сировини : навч. посіб. / В. М. Ковальов, С. М. Марчишин, О. П. Хворост та ін. ; за ред. В. М. Ковальова, С. М. Марчишин. Тернопіль : ТДМУ, 2014. С. 184–185.

105. Прозоровский В. Б. Практическое пособие по ускоренному определению средних эффективных доз и концентрации биологически активных веществ. СПб, 1992. 42 с.

106. Розробка технології отримання та дослідження екстракту сухого зі збору анагетичної та протизапальної активності / А. І. Крюкова, І. С. Коноваленко, І. М. Владимірова, В. О. Тарасенко. *Український журнал військової медицини*. 2022. Т. 3. С. 68–79.

107. 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.

108. Сафонов М. М. Повний атлас лікарських рослин. Тернопіль : Навчальна книга – Богдан, 2011. С. 149–150.

109. Сидоров К. К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. *Токсикология новых промышленных химических веществ*. М., 1973. Вып. 13. С. 47–57.

110. Скринчук О. Я., Марчишин С. М., Будняк Л. І. Порівняльний аналіз летких сполук катрану серцелистого і катрану коктебельського. *Медична та клінічна хімія*. 2019. Т. 21, № 2. С. 79–84.

111. Скринчук О. Я., Марчишин С. М., Гудзь Н. А. Дослідження органічних кислот у листках катрану серцелистого (*Crambe cordifolia* Steven) та катрану коктебельського (*Crambe koktebelica* (Junge) N. Busch). *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.-практ.

конф. з міжнар. участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармац. працівника України, 19–20 вересня 2019 р. Харків, 2019. С. 234–235.

112. Слащева А. В. Дослідження антиоксидантної активності екстракту кореня селери. *Вісник НТУ "ХПИ"*. 2017. № 23. С. 182–187.

113. Собаче мило клейке. *Вікіпедія*. URL: <https://uk.wikipedia.org/wiki> (дата звернення: 30.08.2022). Назва з екрану.

114. Солодовниченко Н. М., Журавльов М. С., Ковальов В. М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати: Посіб. з фармакогнозії з основами біохімії лікарських рослин. Х. : Вид-во НФАУ: Золоті сторінки, 2001. 408 с.

115. Спектрофотометричне визначення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у сировині чорнобривців золотистих (*Tagetes lucida* SAV.) / Л. В. Костишин, С. М. Марчишин, В. В. Валько, Л. В. Слободянюк, С. П. Машковська. *PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА* : матеріали III наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 180-річчю Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, 18 лютого 2022 р. Київ, 2022. Т. 2. С. 66–68.

116. Стан забезпеченості макро- і мікроелементами у практично здорових людей різного віку / Ю. В. Гавалко, М. С. Романенко, Л. Л. Синюк та ін. *Проблемы старения и долголетия*. 2015. № 3–4. С. 266–278.

117. Товчига О. В., Штриголь С. Ю. Влияние лекарственных растений на выделительную функцию почек. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2009. № 3. С. 50–59.

118. Товчига О. В., Штриголь С. Ю., Койро О. О. Лекарственные растения и выделительная функция почек. *Буковинський медичний вісник*. 2012. Т. 16, № 3 (63). Ч. 2. С. 39–41.

119. Фармацевтична енциклопедія / Гол. ред. ради та автор передмови В. П. Черних. 3-тє вид. паєреробл. і доповн. К. : МОРІОН, 2016. С. 350.

120. Федосов А. І. Дослідження амінокислотного складу артишоку суцвіть. *Фармацевтичний часопис*. 2017. № 3. С. 25–30.

121. Федосов А. І., Кисличенко В. С., Новосел О. М. Визначення кількісного вмісту суми фенольних сполук в артишоку суцвіттях, часнику листі та цибулинах. *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20, № 1. С. 100–104.

122. Фітол. *Вікіпедія*. URL: <https://uk.wikipedia.org/wiki> (дата звернення: 4.02.2023). Назва з екрану.

123. Флора УРСР. К. : Вид-во АН УРСР, 1962. Т. IV. С. 645–646.

124. Цикало Т. О., Тржецинський С. Д. Дослідження фенольних сполук рижію посівного (*Camelina sativa (L.) Crantz*) та рижію дрібноплодоного (*Camelina microcarpa Andr.*). *Фармацевтичний часопис*. 2020. № 4. С. 18–24.

125. Чопик В. І., Федорончук М. М. Флора Українських Карпат. Тернопіль : ТзОВ, 2015. С. 113, 139.

126. Чорна Н. С., Яковлєва Л. В. Діуретична активність густого екстракту з листя берези бородавчастої. *Український біофармацевтичний журнал*. 2013. № 5 (28). С. 21–24.

127. Экспресс-метод определения среднесмертельных доз химических веществ / Т. В. Пастушенко, Л. Б. Маруший, Л. Л. Жуков, Ю. А. Пилипенко. *Гигиена и санитария*. 1985. № 6. С. 46–48.

128. Acclimatization study of *Tagetes lucida* L. in Egypt and the chemical characterization of its essential oils / E. A. Omer, S. F. Hendawy, R. F. Ismail et al. *Nat. Prod. Res.* 2017. Vol. 31, № 13. P. 1509–1517.

129. Albertoni G., Schor N. Resveratrol plays important role in protective mechanisms in renal disease-mini-review. *J. Bras. Nefrol.* 2015. Vol. 37, № 1. P. 106–114.

130. Alpha-Linolenic Acid: An Omega-3 Fatty Acid with Neuroprotective Properties – Ready for Use in the Stroke Clinic? / N. Blondeau, R. H. Lipsky, M. Bourourou et al. *BioMed Research International*. 2015. Vol. 2015. P. 519830.

131. Analysis of carbohydrates in *Saponaria officinalis* L. using GC/MS method / L. Slobodianiuk, L. Budniak, S. Marchyshyn et al. *Pharmacia*. 2021. Vol. 68, № 2. P. 339–345.

132. Analysis of lipophilic fraction of the common pussytoes herb / R. Yu. Basaraba, S. M. Marchyshyn, M. V. Kyryliv, I. R. Bekus. *Медицина та клінічна хімія*. 2019. Т. 21, № 1 (78). С. 32–37.

133. Analysis of phenolic compounds from *Polymnia sonchifolia* Poepp. et Endl. leaves by HPLC-method / S. Marchyshyn, N. Hudz, I. Dakhym, L. Husak, L. Mishchenko. *The Pharma Innovation Journal*. 2017. Vol. 6, № 7. P. 980–983.

134. Analysis of the monosaccharide composition of purified polysaccharides in *Ganoderma atrum* by capillary gas chromatography / Y1. Chen, M. Y. Xie, Y. X. Wang et al. *Phytochem Anal*. 2009. Vol. 20. № 6. P. 503–510.

135. Antidepressant-like activity of *Tagetes lucida* Cav. is mediated by 5-HT(1A) and 5-HT(2A) receptors / H. Bonilla-Jaime, G. Guadarrama-Cruz, F. J. Alarcon-Aguilar et al. *J. Nat. Med.* 2015. Vol. 69, № 4. P. 463–470.

136. Antidepressant-like effect of *Tagetes lucida* Cav. extract in rats: involvement of the serotonergic system / G.-C. Gabriela, A.-A. F. Javier, V.-A. Elisa et al. *Am. J. Chin. Med.* 2012. Vol. 40, № 4. P. 753–768.

137. Antifungal and antibacterial activities of *Mexican tarragon* (*Tagetes lucida*) / C. I. Ceã Spedes, J. G. Avila, Marti'nez, A. S., Serrato et al. *J. Agric. Food Chem.* 2006. Vol. 54. P. 3521–3527.

138. Antihypertensive and vasorelaxant mode of action of the ethanol-soluble extract from *Tagetes lucida* Cav. aerial parts and its main bioactive metabolites / S. Estrada-Soto, Ma. E. González-Trujano, P. Rendón-Vallejo et al. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021. Vol. 266. P. 113399.

139. Anti-inflammatory effects of the main constituents and epoxides derived from the essential oils obtained from *Tagetes lucida*, *Cymbopogon citratus*, *Lippia alba* and *Eucalyptus citriodora* / J. C. Sepúlveda-Arias, L. A. Veloza, L. M. Escobar et al. *J. Essent. Oil Res.* 2013. Vol. 25. P. 186–193.

140. Antimicrobial Activity of *Tagetes lucida* / T. Hernandez, M. Canales, C. Flores et al. *Pharmaceutical Biology*. 2006. Vol. 44, № 1. P. 19–22.

141. Antimicrobial, antioxidant, and immunomodulatory properties of essential oils: a systematic review / M. Valdivieso-Ugarte, C. Gomez-Lorente, J. Plaza-Díaz, A. Gil Á. *Nutrients*. 2019. Vol. 11, № 11. pii E2786.

142. Antioxidant, antimicrobial activity and total phenolic content within the aerial parts of *Artemisia absinthum*, *Artemisia santonicum* and *Saponaria officinalis* / M. Sengul, S. Ercisli, H. Yildiz et al. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2011. Vol. 10, № 1. P. 49–56.

143. Antiproliferative quillaic acid and gypsogenin saponins from *Saponaria officinalis* L. roots / Y. Lu, D. Van, L. Deibert et al. *Phytochemistry*. 2015. Vol. 113. P. 108–120.

144. Application of HPLC method in the determination of amino acids in the some medicinal plants / L. V. Slobodianiuk, L. I. Budniak, S. M. Marchyshyn, L. V. Kostyshyn, O. Ya. Skrynychuk. *Current trends in pharmaceutical chemistry and standardization of medicines* : матер. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 25–26 травня 2021 р. Тернопіль : ТНМУ, 2021. С. 58–59

145. Ashraf M., Foolad M. R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*. 2007. Vol. 59. P. 206–216.

146. Asutosh Kar. *Pharmacognosy and Phytobiotechnology*. New Age International Publishers, 2008. 879 p.

147. Bizzarri M., Carlomagno G. Inositol: History of an effective therapy for Polycystic Ovary Syndrome. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2014. Vol. 18, № 13. P. 1896–1903.

148. Bötger S, Melzig MF. Triterpenoid saponins of the *Caryophyllaceae* and *Illecebraceae* family. *Phytochemistry Letters*. 2011. Vol. 4. P. 59–68.

149. Cano A. L. M. *Flora Medicinal de Veracruz. Inventario Etnobotanico* [Medicinal Flora of Veracruz. Ethnobotanical Inventory]. Veracruz : Universidad Veracruzana, 1997. P. 318.

150. Chandra S., Rawat D. S., Bhatt A. Phytochemistry and pharmacological activities of *Saponaria officinalis* L.: A review. *Notulae Scientia Biologicae*. 2021. Vol. 13, № 1. P. 10809.

151. Chemical composition and biological properties of the leaf essential oil of *Tagetes lucida* Cav. from Cuba / E. L. Regalado, M. D. Fernandez, J. A. Pino *J. Essent. Oil Res.* 2011. Vol. 23. P. 63–67.

152. Chemical composition and in vitro anthelmintic activity of extracts of *Tagetes patula* against a multidrug-resistant isolate of *Haemonchus contortus* / F. A. S. Politi, A. A. J. Souza, R. R. Fantatto et al. *Chem. Biodivers.* 2017. Vol. 15. P. e1700507.

153. Chemical constituents, antibacterial and antioxidant properties of the essential oil flower of *Tagetes minuta* grown in Cala community Eastern Cape, South Africa / A. Igwaran, B. C. Iweriebor, S. O. Okoh et al. *BMC Complement. Altern. Med.* 2017. Vol. 17. P. 351.

154. Cherevach E. I., Shchekaleva R. K. Justification of *Saponaria officinalis* (*S. officinalis*) cultivation in the soil and climatic conditions of the Primorsky region (Russia) and analysis of saponin- containing root extracts. *Journal of Central European Agriculture*. 2020. Vol. 21, № 2. P. 420–430.

155. Ciccio J. F. A source of almost pure methyl chavicol: volatile oil from the aerial parts of *Tagetes lucida* (*Asteraceae*) cultivated in Costa Rica. *Revista de Biologia Tropical*. 2004. Vol. 52. P. 853–857.

156. Combined aliskiren and L-arginine treatment has antihypertensive effects and prevents vascular endothelial dysfunction in a model of renovascular hypertension / C. H. Santuzzi, R. V. Tiradentes, V. Mengal et al. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2015. Vol. 48, № 1. P. 65–76.

157. Comparison of the structural characterization and biological activity of acidic polysaccharides from *Cordyceps militaris* cultured with different media / F. Wu, H. Yan, X. Ma et al. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2012. Vol. 28, № 5. P. 2029–2038.

158. Constituents of *Tagetes lucida* Cav. ssp. *Lucida* essential oil / C. Bicchi, M. Fresia, P. Rubiolo et al. *Flavour Fragr J.* 1997. Vol. 12. P. 47–52.
159. Cytotoxic activity in *Tagetes lucida* Cav. / J. A. Mejia-Barajas, E. N. Del Rio Rosa, E. Martinez-Muñoz Rosa et al. *J. Food Agric.* 2012. Vol. 24, № 2. P. 142–147.
160. Cytotoxic activity of four Mexican medicinal plants / E. Vega-Avila, A. Espejo-Serna, F. Alarcón-Aguilar, R. Velasco-Lezama. *Proc. West Pharmacol. Soc.* 2009. Vol. 52. P. 78–82.
161. Determination of amino acids content in two samples of the plant mixtures by GC-MS / A. Savych, S. Marchyshyn, M. Harnyk, V. Kudria, A. Ocheretniuk. *Pharmacia.* 2021. Vol. 68, № 1. P. 283–289.
162. Determination of amino acids content of the *Tagetes lucida* Cav. by GC/MS / L. Slobodianiuk, L. Budniak, S. Marchyshyn, L. Kostyshyn, M. Ezhne. *Pharmacia.* 2021. Vol. 68, № 4. P. 859–867.
163. Determination of amino acids in medicinal plants from *Southern Sonora*, Mexico / E. F. Moran-Palacio, O. Tortoledo-Ortiz, G. A. Yanez-Farias et al. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* 2014. Vol. 13, № 4. P. 601–606.
164. Determination of amino acids of plants from *Angelica* L. genus by HPLC method / L. Budniak, L. Slobodianiuk, S. Marchyshyn, I. Potishnyi. *Pharmacia.* 2022. Vol. 69, № 2. P. 437–446.
165. Determination of amino acids of some plants from *Gentianaceae* family / L. Budniak, L. Slobodianiuk, S. Marchyshyn, O. Demydiak, I. Dakhym. *Pharmacia.* 2021. Vol. 68, № 2. P. 441–448.
166. Determination of *Arnica foliosa* Nutt. fatty acids content by GC/MS method / L. Budniak, L. Slobodianiuk, S. Marchyshyn, O. Demydiak. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science».* 2020. № 6 (28). P. 14–18.
167. Determination of Carbohydrates of *Chrysanthemum morifolium* L. Leaves and Flowers by GS/MS / S. Marchyshyn, O. Polonets, A. Savych, S. Nakonechna. *Pharmakeftiki.* 2020. Vol. 32. P. 202–212.

168. Determination of carboxylic acids of *Tagetes lucida* Cav. / S. M. Marchyshyn, L. V. Slobodianiuk, I. S. Dakhym, L. V. Kostyshyn. *Contemporary Pharmacy: Issues Challenges and Expectations 2022 autumn* : the 12th International Pharmacy Conference, 21 October 2022. Kaunas : Lithuanian University of Health Sciences, 2022. P. 37.
169. Determination of composition of fatty acids in *Saponaria officinalis* / L. L. Budniak, L. Slobodianiuk, S. Marchyshyn, L. Kostyshyn, O. Horoshko. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2021. № 1 (29). P. 25–30.
170. Determination of phenolic profiles of *Herniaria polygama* and *Herniaria incana* fractions and their *in vitro* antioxidant and anti-inflammatory effects / J. Kolodziejczyk-Czepas, S. Kozachok, Ł. Pecio, S. Marchyshyn, W. Oleszek. *Phytochemistry*. 2021. Vol. 190. P. 112861.
171. Determination of the optimum extraction regime of reducing compounds and flavonoids of *Primula denticulata* Smith leaves by a dispersion analysis / L. Budniak, M. Vasenda, S. Marchyshyn, K. Kurylo. *Pharmacia*. 2020. Vol. 67, № 4. P. 373–378.
172. Dianchinosides A and B, two new saponins from *Dianthus chinensis* / H.-Y. Li, K. Koike, T. Ohmoto, K. Ikeda. *Journal of natural products*. 1993. Vol. 56, № 7. P. 1065–1070.
173. Diuretic Activity of Compatible Triterpene Components of *Alismatis rhizoma* / X. Zhang, X.-Y. Li, N. Lin et al. *Molecules*. 2017. Vol. 22, № 9. P. 1459.
174. Dixit P., Tripathi S., Verma K. N. A brief Study on Marigold (*Tagetes* species). *International Research Journal of Pharmacy*. 2013. Vol. 4, № 1. P. 43–48.
175. Duke J. A., Bogenschutz-Godwi M. J., Ottesen A. R. Medicinal Plants of America. Taylor and Francis Group CRC Press, USA, 2009. 688 p.
176. Effect of synthetic surfactants and soapwort (*Saponaria officinalis* L.) extract on skin-mimetic model lipid monolayers / I. Jurek, I. Góral, Z. Mierzynska et al. *Biochim. Biophys. Acta-Biomembr.* 2019. Vol. 1861. P. 556–564.

177. Effect of triterpenoid saponins of field scabious, alfalfa, red clover and common soapwort on growth of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and *Fusarium culmorum* / J. Czaban, J. Mołdoch, B. Wróblewska et al. *Allelopathy Journal*. 2013. Vol. 32. P. 79–90.

178. El-Sheikh A. A., Morsy M. A., Al-Taher A. Y. Protective mechanisms of resveratrol against methotrexate-induced renal damage may involve BCRP/ABCG2. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2016. Vol. 30, № 5. P. 406–418.

179. Essential oils as antimicrobial agents – myth or real alternative? / K. Wińska, W. Mączka, J. Łyczko et al. *Molecules*. 2019. Vol. 24, № 11. P. E2130.

180. Essential oils of herbs of some species of marigold genus (*Tagetes* L.) / L. Kostyshyn, T. Valko, S. Marchyshyn, S. Mashkovska. *1st Natural Cosmetics International*, September 22nd-24th 2021. Rzeszów, 2021. P. 61.

181. Essential oils with insecticidal activity against larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) / S. S. Vera, D. F. Zambrano, S. C. Mendez-Sanchez et al. *Parasitol. Res.* 2014. Vol. 113. P. 2647–2654.

182. Fatty acid composition of vegetable marrows and zucchini leaves / O. O. Iosypenko, V. S. Kyslychenko, Z. I. Omelchenko, I. S. Burlaka. *Pharmacia*. 2019. Vol. 66, № 4. P. 201–207.

183. Fatty acids composition study of *Cyperus esculentus* L. / L. Slobodianiuk, L. Budniak, S. Marchyshyn, I. Ivasiuk. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2021. Vol. 53. P. 20–23.

184. Flavonoids as important biocomponents in some plant species and their mixtures with a wide range of pharmacological properties / A. Savych, S. Marchyshyn, O. Scrynychuk, L. Kostushyn, T. Lemishka, M. Kohut, L. Liashenko. *Scientific Collection «InterConf»*, (45) : with the Proceedings of the 3th International Scientific and Practical Conference «Scientific Community: Interdisciplinary Research», March 16–18, 2021. Hamburg : Busse Verlag GmbH, 2021. P. 269–273.

185. Flavonoids as natural phenolic compounds and their role in therapeutics: an overview / R. E. Mutha, A. U. Tatiya, S. J. Surana. *Future Journal of*

Pharmaceutical Sciences. 2021. Vol. 7, № 25. P. 1–13.

186. Flavonoids as nutraceuticals / P. K. Jain, M. D. Kharya, A. Gajbhiye et al. *Herba Polonica*. 2010. Vol. 56, № 2. P. 105–116.

187. Gallic acid and p-coumaric acid attenuate type 2 diabetes-induced neurodegeneration in rats / A. Abdel-Moneim, A. I. Yousef, S. M. Abd El-Twab et al. *Metab. Brain Dis.* Vol. 32. P. 1279–1286.

188. Genistein Ameliorates Ischemia/Reperfusion-Induced Renal Injury in a SIRT1-Dependent Manner / W. F. Li, K. Yang, P. Zhu et al. *Nutrients*. 2017. Vol. 9, № 4. P. 403.

189. Genova J., Zheliaskova A., Mitov M. D. Monosaccharides (fructose, glucose) and disaccharides (sucrose, trehalose) influence the elasticity of SOPC membranes. *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*. 2007. Vol. 9, № 2. P. 427–430.

190. Góral I., Jurek I., Wojciechowski K. How Does the Surface Activity of Soapwort (*Saponaria officinalis* L.) Extracts Depend on the Plant Organ? *J. Surfact. Deterg.* 2018. Vol. 21, № 6. P. 797–807.

191. Góral I., Wojciechowski K. Surface activity and foaming properties of saponin-rich plants extracts. *Adv. Colloid Interface Sci.* 2020. Vol. 279. P. 102145.

192. Greenberg A. K., Donoghue M. J. Molecular systematics and character evolution in *Caryophyllaceae*. *Taxon*. 2021. Vol. 60, № 6. P. 1637–1652.

193. GS/MS analysis of fatty acids in flowers and leaves of *Chrysanthemum × hortorum* Bailey Belgo and *Pectoral'* variants / S. Marchyshyn, O. Polonets, O. Zarichanska, M. Garnyk. *The Pharma Innovation Journal*. 2017. Vol. 6, № 11. P. 463–466.

194. Hepatoprotective effects of *Tagetes lucida* root extract in carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in Wistar albino rats through amelioration of oxidative stress / S. Ali El-Newary, R. F. Ismail, N. M. Shaffie et al. *Pharm. Biol.* 2021. Vol. 59, № 1. P. 986–997.

195. Hepatoprotective, Therapeutic and in vivo anti-oxidant activities of

Tagetes lucida leaves alcoholic extract against paracetamol-induced hepatotoxicity rats / S. A. El-Newary, R. F. Ismail, N. M. Shaffie, S. F. Hendawy, E. A. Omer. *International Journal of PharmTech Research*. 2016. Vol. 9, № 12. P. 327–341.

196. Herniarin, Dimethylfraxetin and Extracts from *Tagetes lucida*, in Psychosis Secondary to Ketamine and Its Interaction with Haloperidol / S. L. Porrás-Dávila, E. Jiménez-Ferrer, R. R. Ramos et al. *Plants*. 2022. Vol. 11. P. 2789.

197. Highly Polar Triterpenoid Saponins from the Roots of *Saponaria officinalis* L. / B. Moniuszko-Szajwaj, M. Masullo, M. Kowalczyka et al. *Helv. Chim. Acta*. 2016. Vol. 99. P. 347–354.

198. High-speed countercurrent chromatographic recovery and off-line electrospray ionization mass spectrometry profiling of bisdesmodic saponins from *Saponaria officinalis* possessing synergistic toxicity enhancing properties on targeted antitumor toxins / M. Thakur, G. Jerz, D. Tuwalska, et al. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2014. Vol. 955–956. P. 1–9.

199. HPLC analysis of flavonoids contained in the plant components of antidiabetic mixture / A. Savych, S. Marchyshyn, L. Mosula, L. Kravchyk. *PhOL*. 2021. Vol. 3. P. 129–139.

200. HPLC-DAD assay of flavonoids and evaluation of antioxidant activity of some herbal mixtures / A. Savych, S. Marchyshyn, O. Polonets, O. Mala, I. Shcherba, L. Morozova. *Pharmacia*. 2022. Vol. 69, № 3. P. 873–881

201. HPLC-DAD assay of phenols profile in *Antennaria dioica* (L.) Gaertn R. Basaraba, A. Savych, S. Marchyshyn, N. Muzyka, P. Ilashchuk. *Pharmacia*. 2022. Vol. 69, № 2. P. 393–399.

202. Hydroxycinnamic acids in the raw material of hybrid bearded iris / A. V. Krechun, O. O. Mykhailenko, V. M. Kovalov et. al. *Запорожский медицинский журнал*. 2020. Т. 22, № 2 (119). С. 256–260.

203. Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy / N. P. Seeram, R. Lee, H. S. Scheuller, D. Heber. *Food Chemistry*. 2006. Vol. 97, №. 1. С. 1–11.

204. Identification of some bioactive metabolites and inhibitory receptors in the antinociceptive activity of *Tagetes lucida* Cav. / M. E. González-Trujano, C. Gutiérrez-Valentino, M. Y. Hernández-Arámburo et al. *Life Sciences*. 2019. Vol. 231. P. 116523.

205. Insecticidal activity of an essential oil of *Tagetes patula* L. (*Asteraceae*) on common bed bug *Cimex lectularius* L. and molecular docking of major compounds at the catalytic site of clache1 / F. A. Politi, J. D. Nascimento, A. A. da Silva et al. *Parasitol. Res.* 2017. Vol. 116. P. 415–424.

206. Investigation of phenolic compounds of *Primula veris* L. / L. G. Shostak, S. M. Marchyshyn, S. S. Kozachok, R. V. Karbovska. *Journal of Education, Health and Sport*. 2016. Vol. 6, № 5. P. 424–432.

207. Investigation of phenolic compounds of the leaves of *Crambe cordifolia* Steven and *Crambe koktebelica* (Junge) N. / S. Marchyshyn, O. Skrynychuk, L. Budniak, L. Mosula. *The Pharma Innovation Journal*. 2020. Vol. 9, №. 1. P. 14–17.

208. Investigation of traditional medicinal floral knowledge of Sarban hills, Abbottabad, KP, Pakistan / F. Ijaz, Z. Iqbal, I. U. Rahman et al. *J. Ethnopharmacol.* 2016. Vol. 179. P. 208–233.

209. *In-vivo* hypoglycemic and hypolipidemic properties of *Tagetes lucida* alcoholic extract in streptozotocin-induced hyperglycemic Wistar albino rats / S. A. Abdel-Haleem, A. Y. Ibrahim, R. F. Ismail et al. *Annals of Agricultural Sciences*. 2017. Vol. 62, № 2. P. 169–181.

210. Jakimiuk K., Wink M., Tomczyk M. Flavonoids of the Caryophyllaceae. *Phytochem. Rev.* 2022. Vol. 21. P. 179–218.

211. Jámbor A., Molnar-Perl I. Quantitation of amino acids in plasma by high performance liquid chromatography: Simultaneous deproteinization and derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride. *Journal of Chromatography A*. 2009. Vol. 1216. P. 6218–6223.

212. Jia Z., Koike K., Nikaido T. Major triterpenoid saponins from *Saponaria officinalis*. *J. Nat. Prod.* 1998. Vol. 61, № 11. P. 1368–1373.

213. Jia Z., Koike K., Nikaido T. Saponarioside C, the first α -D-galactose containing triterpenoid saponin, and five related compounds from *Saponaria officinalis*. *J. Nat. Prod.* 1999. Vol. 62. P. 449–453.
214. Jiang Y., Satoh K., Watanabe S. Inhibition of chlorogenic acid induced cytotoxicity by CoC12. *Anticancer Res.* 2001. Vol. 21. P. 3349–3353.
215. Jurado Gonzalez P., Sørensen P. M. Characterization of saponin foam from *Saponaria officinalis* for food applications. *Food Hydrocoll.* 2020. Vol. 101. P. 105541.
216. Kiokias S., Oreopoulou V. A. Review on the Antioxidant Activity of Phenolics in o/w Emulsions along with the Impact of a Few Important Factors on Their Interfacial Behaviour. *Colloids Interfaces.* 2022. Vol. 6, № 79. P. 1–16.
217. Kiokias S., Oreopoulou V. A. Review on the health protective effects of phenolic acids against a range of severe pathologic conditions (incl Coronovrus based infections). *Molecules.* 2021. Vol. 26. P. 5405.
218. Koike K., Jia Z., Nikaido T. New triterpenoid saponins and sapogenins from *Saponaria officinalis*. *J. Nat. Prod.* 1999. Vol. 62. P. 1655–1659.
219. Korkmaz M., Ozcelik H. Economic importance of *Gypsophila* L., *Ankyropetalum* Fenzl and *Saponaria* L. (*Caryophyllaceae*) taxa of Turkey. *African Journal of Biotechnology.* 2011. Vol. 10. P. 9533–9541.
220. Kumar R., Vijayalakshmi S., Nadasabapathi S. Health Benefits of Quercetin. *Def. Life Sci. J.* 2017. Vol. 2, № 2. P. 142–151.
221. Kurpis J., Serrato-Cruz M. A., Feria Arroyo T. P. Modeling the effects of climate change on the distribution of *Tagetes lucida* Cav. (*Asteraceae*). *Global Ecology and Conservation.* 2019. Vol. 20. P. e00747.
222. Kurzyna-Szklarek M., Cybulska J., Zdunek A. Analysis of the chemical composition of natural carbohydrates – An overview of methods. *Food Chemistry.* 2022. Vol. 394. P. 133466.
223. Leontiiev B., Khvorost O., Fedchenkova Yu. Fatty acids in the components of *Viburnum opulus* fruit. *Norwegian. Journal of development of the*

International Science. 2019. Vol. 29. P. 59–61.

224. Ma B., Liang S. Progress report on extraction and separation of chlorogenic acid from eucomialmoides. *Shanxi For. Sci. Technol.* 2003. Vol. 4. P. 74–79.

225. Marchyshyn S. M. The content of fatty acids in lipophilic extracts of *Veronica chamaedrys* L. and *Veronica officinalis* L. / S. M. Marchyshyn, I. I. Milian. *Journal of Education, Health and Sport*. 2016. Vol. 6, № 3. P. 91–96.

226. Marchyshyn S., Kudrja V., Zarichanska O. The phenolic compounds profile of *Sanguisorba officinalis*' roots and herb. *The Pharma Innovation Journal*. 2017. Vol. 6, № 8. P. 274–277.

227. Matkowski A., Jamiolkowska-Kozłowska W., Nawrot I. Chinese Medicinal Herbs as Source of Antioxidant Compounds – Where Tradition Meets the Future. *Current Medicinal Chemistry*. 2013. Vol. 20, № 8. P. 984–1004.

228. Microencapsulation of sweet orange essential oil (*Citrus aurantium* var. *dulcis*) by liophylization using maltodextrin and maltodextrin/gelatin mixtures: Preparation, characterization, antimicrobial and antioxidant activities / J. S. F. de Araújo, E. L. de Souza, J. R. Oliveira et al. *Int. J. Biol. Macromol.* 2020. Vol. 143. P. 991–999.

229. Monosaccharide composition of *Herniaria glabra* L. and *Herniaria polygama* J. Gay / S. Kozachok, S. Marchyshyn, A. Ostapchuk, L. Zavyalova. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 2016. Vol. 29, № 3. P. 142–144.

230. Muhaisen H. M. H. Introduction and interpretation of flavonoids. *Adv. Sci. Eng. Med.* 2015. Vol. 6. P. 1235–1250.

231. Nectar dynamics and reproductive success in *Saponaria officinalis* (*Caryophyllaceae*) in southern Germany / D. Wolff, T. Witt, A. Jurgens, G. Gottsberger. *Flora. Morphologie, Geobotanik, Oekophysiologie*. 2006. Vol. 201, № 5. P. 353–364.

232. New pharmacological properties of *Medicago sativa* and *Saponaria officinalis* saponin-rich fractions addressed to *Candida albicans* / B. Sadowska,

A. Budzynska, M. Wie et al. *Journal of Medical Microbiology*. 2014. Vol. 63. P. 1076–1086.

233. New triterpenoid saponins from the roots of *Saponaria officinalis* / B. Moniuszko-Szajwaj, L. Pecio, M. Kowalczyk et al. *Natural Product Communications*. 2013. Vol. 8. P. 1687–1690.

234. Nguyen T. V., Alfaro A. C., Young T. Protocol for Methyl ChloroFormate (MCF) Derivatization of Extracted Metabolites from Marine *Bivalve Tissues*. 2018. P. 1–2.

235. Niaz, K., Khan, F., Shah, M. A. Analysis of carbohydrates (monosaccharides, polysaccharides). *Recent Advances in Natural Products Analysis* Vol. 18. P. 621–633.

236. Novel Oleanane-Type Triterpene Glycosides from the *Saponaria officinalis* L. Seeds and Apoptosis-Inducing Activity via Mitochondria / N. Takahashi, T. Iguchi, M. Kuroda [et al]. *Int. J. Mol. Sci.* 2022. Vol. 12, № 23 (4). P. 2047.

237. Omega-3, omega-6, and total dietary polyunsaturated fat for prevention and treatment of type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials / T. J. Brown, J. Brainard, F. Song et al. *BMJ*. 2019. Vol. 366. P. 14697.

238. Parvaiz M. Ethnobotanical studies on plant resources of mangowal, district Gujrat, Punjab, Pakistan. *Avicenna J. Phytomed.* 2014. Vol. 4. P. 364–370.

239. Pavela R. Acaricidal properties of extracts of some medicinal and culinary plants against *Tetranychus urticae* Koch. *Plant Prot. Sci.* 2016. Vol. 52. P. 54–63.

240. Pavela, R. Extract from the Roots of *Saponaria Officinalis* as a Potential Acaricide against *Tetranychus Urticae*. *J. Pest Sci.* 2017. Vol. 90. P. 683–692.

241. Pharmacognostic, Physiochemical and Phytochemical Investigation of *Tagetes erecta* Linn flowers (*Asteraceae*) / P. V. Kadam, C. L. Bhingare,

R. B. Sumbe et al. *Journal of Biological and Scientific Opinion*. 2013. Vol. 1, № 1. P. 21–24.

242. Pharmacokinetics and Tissue Distribution of Coumarins from *Tagetes lucida* in an LPS-Induced Neuroinflammation Model / A. Santibáñez, M. Herrera-Ruiz, M. González-Cortazar et al. *Plants*. 2022. Vol. 11. P. 2805.

243. Phenolic compounds from *Pimpinella saxifraga* L. / S. Marchyshyn, E. Parashchuk, I. Dakhym, L. Husak. *The Pharma Innovation Journal*. 2018. Vol. 7, № 6. P. 600–602.

244. Phenolic compounds of *Tagetes lucida* Cav. with antibacterial effect due to membrane damage / P. Y. Villa-Silva, A. Iliná, J. A. Ascacio-Valdés et al. *Boletín latinoamericano y del caribe de plantas medicinales y aromáticas*. 2020. Vol. 19, № 6. P. 580–590.

245. Photoprotective Agents Obtained from Aromatic Plants Grown in Colombia: Total Phenolic Content, Antioxidant Activity, and Assessment of Cytotoxic Potential in Cancer Cell Lines of *Cymbopogon flexuosus* L. and *Tagetes lucida* Cav. Essential Oils / K. Caballero-Gallardo, P. Quintero-Rincón, E. E. Stashenko, J. Olivero-Verbel. *Plants (Basel)*. 2022. Vol. 11, № 13. P. 1693.

246. Phytochemical analysis of *Saponaria officinalis* L. shoots and flowers essential oils / G. M. Petrović, M. D. Ilić, V. P. Stankov-Jovanović et al. *Natural Product Research*. 2018. Vol. 32, № 3. P. 331–334.

247. Phytochemical and Pharmacological Research in *Agrimonia eupatoria* L. Herb Extract with Anti-Inflammatory and Hepatoprotective Properties / N. Huzio, A. Grytsyk, A. Raal, L. Grytsyk, O. Koshovyi. *Plants*. 2022. Vol. 11. P. 2371.

248. Phytochemical, antioxidant and antibacterial activities of the aqueous and ethanol extracts of *Pinus halepensis* / B. Hafsia, S. Noura, F. Guesmi et al. *Discovery Phytomedicine*. 2021. Vol. 8, № 1. P. 24–28.

249. Phytochemicals and their biological activities of plants in *Tagetes* L. / L. W. Xu, J. Chen, H. Y. Qi, Y. P. Shi. *Chinese Herbal Medicines*. 2012. Vol. 4. P. 103–117.

250. Plant Extracts Containing Saponins Affects the Stability and Biological Activity of Hempseed Oil Emulsion System vity of Hempseed Oil Emulsion System / M. Jarzębski, P. Siejak, W. Smulek et al. *Molecules*. 2020. Vol. 25, № 11. P. 2696.

251. Plantas Medicinales de Mexico II Composicion, Usos y Actividad Biologica [Medicinal Plants of Mexico II Composition, Uses and Biological Activity] / C. Marquez, O. F. Lara, R. B. Esquivel, E. R. Mata. Mexico : Universidad Nacional Autonoma de Mexico, 1999. P. 123–124.

252. Potential of extracts from *Saponaria officinalis* and *Calendula officinalis* to modulate *in vitro* rumen fermentation with respect to their content in saponins / A. Budan, D. Bellenot, I. Freuze et al. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2014. Vol. 78. P. 288–295.

253. Protective effects of *Agrostemma githago* L. and *Saponaria officinalis* L. extracts against ionizing radiation-induced oxidative damage in rats / I. Kucukkurt, S. Ince, H. Enginar et al. *Revue de Médecine Vétérinaire*. 2011. Vol. 162, № 6. P. 289–296.

254. Pyrzyńska K., Sentkowska A. Chromatographic analysis of polyphenols. polyphenols in plants. Academic Press, 2019. P. 35–364.

255. Quantification of sugars and organic acids in tomato fruits / C. Agius, von S. Tucher, B. Poppenberger, W. Rozhon. *MethodsX*. 2018. Vol. 5. P. 537–550.

256. Quercetin in brain diseases: potential and limits / F. Dajas, J. A. Abin-Carriquiry, F. Arredondo et al. *Neurochem Int*. 2015. Vol. 89. P. 140–148.

257. Quercetin-loaded freeze-dried nanomicelles: improving absorption and anti-glioma efficiency *in vitro* and *in vivo* / G. Wang, J. J. Wang, X. L. Chen et al. *J Control Rel*. 2017. Vol. 235. P. 276–290.

258. Rahman A. An ethnobotanical investigation on asteraceae family at Rajshahi, Bangladesh. *J. Bus. Admin. Manag. Sci. Res*. 2013. Vol. 2 P. 133–141.

259. Reinvestigation of *Herniaria Glabra* L. Saponins and Their Biological Activity / S. Kozachok, Ł. Pecio, I. E. Orhan et al. *Phytochemistry*. 2020. Vol. 169. P. 1–18.

260. Resveratrol attenuates acute kidney injury by inhibiting death receptor-mediated apoptotic pathways in a cisplatin-induced rat model / H. Qiufa, X. Xiaoyan, Z. Junhui et al. *Mol. Med. Rep.* 2016. Vol. 14, № 4. P. 3683–3689.

261. Role of fumaric acid in anti-inflammatory and analgesic activities of a *Fumaria indica* extracts / A. Shakya, G. K. Singh, S. S. Chatterjee, V. Kumar. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*. 2014. Vol. 3, № 4. P. 173–178.

262. Role of β -Caryophyllene in the Antinociceptive and Anti-Inflammatory Effects of *Tagetes lucida* Cav. Essential Oil / A. Hernandez-Leon, M. E. González-Trujano, F. Narváez-González et al. *Molecules*. 2020. Vol. 25. P. 675.

263. Roles of chlorogenic acid on regulating glucose and lipids metabolism: a review / S. Meng, J. Cao, Q. Feng et al. *Evid Based Complementary Altern. Med.* 2013. P. 801457.

264. Rumen antimethanogenic effect of *Saponaria officinalis* L. phytochemicals *in vitro* / A. Cieslak, P. Zmora, A. Stochmal et al. *J Agric Sci.* 2014. Vol. 152, № 6. P. 981–993.

265. Salvaña F. R. Morphological and histochemical characterization of callus from leaf explant of *Tagetes lucida* Cav. (*Asteraceae*). *Journal on New Biological Reports*. 2019. Vol. 8, № 3. P. 172–178.

266. Samoisy A. K., Mahomoodally F. Ethnopharmacological appraisal of culturally important medicinal plants and polyherbal formulas used against communicable diseases in Rodrigues Island. *J. Ethnopharmacol.* 2016. Vol. 194. P. 803–818.

267. *Saponaria officinalis* L. extract: Surface active properties and impact on environmental bacterial strains / W. Smulek, A. Zdarta, A. Pacholak et al. *Colloids Surf. B Biointerfaces*. 2017. Vol. 150. P. 209–215.

268. Saponins from *Saponaria officinalis* L. augment the efficacy of a rituximab-immunotoxin / R. Gilabert-Oriol, M. Thakur, K. Haussmann et al. *Planta Medica*. 2016. Vol. 82, № 18. P. 1525–1531.

269. Sears B., Perry M. The role of fatty acids in insulin resistance. *Lipids in Health and Disease*. 2015. Vol. 14, № 1. P. 121.

270. Serraj R., Sinclair T. R. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions. *Plant, Cell & Environment*. 2002. Vol. 25. P. 333–341.

271. Simultaneous determination of eight catechins and four theaflavins in green, black and oolong tea using new HPLC–MS–MS method / W. Tao, Z. Zhou, B. Zhao, T. We. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2016. Vol. 131. P. 140–145.

272. Soapwort (*Saponaria officinalis* L.) Extract vs. Synthetic Surfactants—Effect on Skin-Mimetic Models / I. Jurek, A. Szuplewska, M. Chudy, K. Wojciechowski. *Molecules*. 2021. Vol. 26. P. 5628.

273. Soetan K. O., Olaiya C. O., Oyewole O. E. The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants: A review. *African J. of Food Science*. 2010. Vol. 4, № 5. P. 200–222.

274. Some biological activities of *Tagetes lucida* plant cultivated in Egypt / E. Omer, S. F. Hendawy, A. M. N. El-Deen et al. *Adv. Environ. Biol*. 2015. Vol. 9. P. 82–88.

275. Soy protein and genistein improves renal antioxidant status in experimental nephrotic syndrome / M. H. Javanbakht, R. Sadria, M. Djalali et al. *Nefrologia*. 2014. Vol. 34, № 4. P. 483–490.

276. Study of Antispasmodic and Antidiarrheal Activities of *Tagetes lucida* (Mexican Tarragon) in Experimental Models and Its Mechanism of Action / R. Ventura-Martinez, G. E. Angeles-Lopez, M. E. Gonzalez-Trujano et al. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2020. Vol. 2. P. 1–10.

277. *Tagetes lucida* Cav.: Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of its tranquilizing properties / G. Pérez-Ortega, M. E. González-Trujano, G. E. Ángeles-López et al. *Journal of Ethnopharmacology*. 2016. Vol. 181. P. 221–228.

278. *Tagetes* spp. Essential Oils and Other Extracts: Chemical Characterization and Biological Activity / B. Salehi, M. Valussi, M. F. Bezerra Morais-Braga et al. *Molecules*. 2018. Vol. 1, № 23 (11). P. 2847.

279. Talluri M. R., Gummadi V. P., Battu G. R. Chemical Composition and Hepatoprotective Activity of *Saponaria officinalis* on Paracetamol-induced Liver Toxicity in Rats. *Pharmacog. J.* 2018. Vol. 10, № 6. P. 1196–201.

280. The carbohydrates and aminoacids study in common lilac of Charles Joile variety flowers and leaves / A. Popyk, V. Kyslychenko, V. Korol et al. *American Journal of Science and Technologies*. 2015. Vol. 2, № 20. P. 779–785.

281. The Relationship between Body Composition, Fatty Acid Metabolism and Diet in Spinal Muscular Atrophy / K. S. Watson, I. Boukhloufi, M. Bowerman, S. H. Parson. *Brain Sciences*. 2021. Vol. 11, № 2. P. 131.

282. Useful Plants of the World / M. Hotta, K. Ogata, A. Nitta et al. Heibonsha; Tokyo, Japan, 1996. 952 p.

283. 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. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed Life Sci.* 2016. Vol. 1017–1018. P. 241–249.

284. Variability of chemical composition and antioxidant activity of essential oils between *Myrtus communis* var. *Leucocarpa* DC and var. *Melanocarpa* DC / G. L. Petretto, M. Maldini, R. Addis G. et al. *Food Chem.* 2016. Vol. 197. P. 124–131.

285. Veda P. G., Mallikarjuna R. T., Ganga R. B. Antibacterial activity of *Saponaria officinalis* and *Zanthoxylum armatum*. *International Journal of Pharmacology and Toxicology*. 2017. Vol. 5, № 1. P. 1–4.

286. Veda P. G., Mallikarjuna R. T., Ganga R. B. Oxidative stress inhibitory aptitude of *Saponaria officinalis* and *Zanthoxylum armatum*. *International Journal of Science and Nature*. 2017. Vol. 8, № 1. P. 75–80.

287. Wichtl M. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. CRC Press; Boca Raton, FL, USA, 1994. P. 453–454.

ДОДАТОК А

Список публікацій здобувача:

1. Дослідження органічних кислот у траві та підземних органах *Saponaria officinalis* L. / Л. В. Костишин, Л. В. Слободянюк, С. М. Марчишин, О. Л. Демидяк, Л. Ю. Ляшенко. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 4. С. 77–82.
2. Determination of composition of fatty acids in *Saponaria officinalis* / L. L. Budniak, L. Slobodianiuk, S. Marchyshyn, L. Kostyshyn, O. Horoshko. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2021. № 1 (29). P. 25–30. (SCOPUS)
3. Analysis of carbohydrates in *Saponaria officinalis* L. using GC/MS method / L. Slobodianiuk, L. Budniak, S. Marchyshyn, L. Kostyshyn, O. Zakharchuk. *Pharmacia*. 2021. № 68 (2). P. 339–345. (SCOPUS)
4. Determination of amino acids content of the *Tagetes lucida* Cav. by GC/MS / L. Slobodianiuk, L. Budniak, S. Marchyshyn, L. Kostyshyn, M. Ezhne. *Pharmacia*. 2021. № 68 (4). P. 859–867. (SCOPUS)
5. Дослідження флавоноїдів чорнобривців золотистих (*Tagetes lucida* Cav.) / С. М. Марчишин, Л. В. Костишин, Т. В. Валько, В. М. Кіщук, Е. А. Паращук. *Медична та клінічна хімія*. 2021. Т. 23, № 4. С. 95–102.
6. Дослідження впливу природи екстрагента на вилучення комплексу біологічно активних речовин із мильнянки лікарської трави та коренів / Л. Костишин, С. Чолач, С. Марчишин, М. Васенда, О. Демидяк, Н. Горлачук. *Фітотерапія. Часопис*. 2022. № 3. С. 86–92.
7. Костишин Л. В., Марчишин С. М., Горошко О. М. Макро- та мікроелементний склад трави та підземних органів мильнянки лікарської. *Актуальні питання фармакології та фармакотерапії* : матеріали Всеукраїнської наук.-практ. конф., 26-27 вересня 2019 р. Тернопіль : ТНМУ, 2019. С. 33–34.

8. Вміст органічних кислот у лікарських рослинах / О. В. Скринчук, І. М. Івасюк, Л. В. Костишин, С. М. Марчишин. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 23-24 вересня 2020 р. Тернопіль : ТНМУ, 2020. С. 50–51.

9. Дослідження флавоноїдів мильнянки лікарської / Л. В. Костишин, М. А. Ежнед, А. Р. Бабин, Н. М. Михайлюк. *VIMCO* : матеріали Буковинського міжнар. медико-фармацевтичного конгресу студентів та молодих вчених, 7–8 квітня 2020 р. Чернівці, 2020 р. С. 182.

10. Перспективи використання сапонінів в медичній практиці / Л. В. Костишин, С. М. Марчишин, О. І. Захарчук, О. М. Горошко, І. М. Сахацька, М. А. Ежнед, М. Р. Матушак. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали V міжнародної наук.-практ. інтернет-конф., 26 листопада 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 251–255.

11. Костишин Л. В., Марчишин С. М., Ляшенко Л. Ю. Порівняльний аналіз якісного складу та кількісного вмісту речовин первинного синтезу у надземних і підземних органах мильнянки лікарської. *PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА* : матеріали Міжнародної наук.-практ. конф., 19 лютого 2021 р. Київ : ПАЛИВОДА А. В., 2021. С. 113–114.

12. Flavonoids as important biocomponents in some plant species and their mixtures with a wide range of pharmacological properties / A. Savych, S. Marchyshyn, O. Scrynychuk, L. Kostushyn, T. Lemishka, M. Kohut, L. Liashenko. *Scientific Collection «InterConf»*, (45) : with the Proceedings of the 3th International Scientific and Practical Conference «Scientific Community: Interdisciplinary Research», March 16-18, 2021. Hamburg : Busse Verlag GmbH, 2021. С. 269–273.

13. Application of HPLC method in the determination of amino acids in the some medicinal plants / L. V. Slobodianiuk, L. I. Budniak, S. M. Marchyshyn,

L. V. Kostyshyn, O. Ya. Skrynchuk. *Current trends in pharmaceutical chemistry and standardization of medicines* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 25-26 травня 2021 р. Тернопіль : ТНМУ, 2021. С. 58–59.

14. Essential oils of herbs of some species of marigold genus (*Tagetes L.*) / L. Kostyshyn, T. Valko, S. Marchyshyn, S. Mashkovska. *1st Natural Cosmetics International*, September 22nd-24th 2021. Rzeszów, 2021. P. 61.

15. Спектрофотометричне визначення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у сировині чорнобривців золотистих (*Tagetes lucida* SAV.) / Л. В. Костишин, С. М. Марчишин, В. В. Валько, Л. В. Слободянюк, С. П. Машковська. *PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА* : матеріали III наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 180-річчю Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, 18 лютого 2022 р. Київ, 2022. Т. 2. С. 66–68.

16. Валько Т., Костишин Л. Порівняльний аналіз якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот у сировині чорнобривців золотистих. *Матеріали XXVI Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених*, 13-15 квітня 2022 р. Тернопіль, 2022. С. 130–131.

17. Визначення кількісного вмісту суми фенольних сполук у сировині чорнобривців золотистих / Л. В. Костишин, С. М. Марчишин, В. В. Валько, Л. В. Слободянюк. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали IV Міжнародної наук.-практ. інтернет-конф., 8 квітня 2022 р. Х. : НФаУ, 2022. С. 51.

18. Determination of carboxylic acids of *Tagetes lucida* Cav. / S. M. Marchyshyn, L. V. Slobodianiuk, I. S. Dakhym, L. V. Kostyshyn. *Contemporary Pharmacy: Issues Challenges and Expectations 2022 autumn* : the 12th International Pharmacy Conference, 21 October 2022. Kaunas : Lithuanian University of Health Sciences, 2022. P. 37.

19.Костишин Л. В., Валько Т. В., Марчишин С. М. Вивчення гострої токсичності сухого екстракту з трави чорнобривців золотистих (*Tagetes lucida* Cav.). *Хімія природних сполук* : матеріали VI Всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 27-28 жовтня 2022 р. Тернопіль : ТНМУ, 2022. С. 115–117.

ДОДАТОК Б

Відомості про апробацію результатів дисертації:

- Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання фармакології та фармакотерапії» (м. Тернопіль, 26-27 вересня 2019 р.) *(публікація)*;
- VII науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (м. Тернопіль, 23-24 вересня 2020 р.) *(публікація)*;
- Буковинський міжнародний медико-фармацевтичний конгрес студентів та молодих вчених «ВІМСО» (м. Чернівці, 7-8 квітня 2020 р.) *(публікація)*;
- V міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії (м. Харків, 26 листопада 2020 р.) *(публікація)*;
- Міжнародна науково-практична конференція PLANTA+ НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА (м. Київ, 19 лютого 2021 р.) *(публікація)*;
- 3th International Scientific and Practical Conference «Scientific Community: Interdisciplinary Research» (Hamburg, March 16-18, 2021) *(доповідь і публікація)*;
- науково-практична конференція з міжнародною участю «Current trends in pharmaceutical chemistry and standardization of medicines» (м. Тернопіль, 25-26 травня 2021 р.) *(публікація)*;
- 1st Natural Cosmetics International (Rzeszów, September 22nd-24th 2021) *(доповідь і публікація)*;
- III науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 180-річчю Національного медичного університету імені О. О. Богомольця PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА (м. Київ, 18 лютого 2022 р.) *(публікація)*;
- IV Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських

засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (м. Харків, 8 квітня 2022 р.) *(публікація)*;

- XXVI Міжнар. медичний конгрес студентів та молодих вчених (м. Тернопіль, 13-15 квітня 2022 р.) *(публікація)*;

- 12th International Pharmacy Conference. «Contemporary Pharmacy: Issues Challenges and Expectations» Lithuanian University of Health Sciences, Faculty of Pharmacy (Kaunas, Lithuania, 21 October 2022) *(доповідь і публікація)*;

- VI Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (м. Тернопіль, 27-28 жовтня 2022 р.) *(публікація)*.

ДОДАТОК В.1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор ЗВО

Вінницького національного
медичного університету

М. І. Пирогова,

проф. ЗВО, д.мед.н., проф.

Олег ВЛАСЕНКО

2022 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** хімічний склад мильнянки лікарської.
2. **Установа, автор:** Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою, аспірант Костишин Л. В.
3. **Джерела інформації:**
 1. Analysis of carbohydrates in *Saponaria officinalis* L. using GC/MS method / L. Slobodianiuk, L. Budniak, S. Marchyshyn, L. Kostyshyn, O. Zakharchuk. *Pharmacia*. 2021. № 68 (2). P. 339-345.
 2. Determination of composition of fatty acids in *Saponaria officinalis* / L. L. Budniak, L. Slobodianiuk, S. Marchyshyn, L. Kostyshyn, O. Horoshko. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2021. № 1 (29). P. 25-30.
 3. Дослідження органічних кислот у траві та підземних органах *Saponaria officinalis* L. / Л. В. Костишин, Л. В. Слободянюк, С. М. Марчишин, О. Л. Демидяк, Л. Ю. Ляшенко. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22. № 4. С. 77-82, Встановлено хімічний склад трави і підземних органів мильнянки лікарської.
 4. **Де впроваджено:** кафедра фармації Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.
Протокол засідання кафедри фармації № 19 від 02.05.2022 р.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, у лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань хімічного складу лікарських рослин.
7. **Строки впровадження:** вересень 2021 – квітень 2022 навчального року.

Завідувач кафедри фармації
доктор фарм. наук, професор

Олена КРИВОВ'ЯЗ

ДОДАТОК В.2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Перший проректор
 Івано-Франківського національного
 медичного університету
 проф. Ерстенюк Г. М.
 « 15 » « 12 » 2022 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** хімічний склад мильнянки лікарської.
2. **Установа, автор:** Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою, аспірант Костишин Л. В.
3. **Джерела інформації:**
 1. Analysis of carbohydrates in *Saponaria officinalis* L. using GC/MS method / L. Slobodianiuk, L. Budniak, S. Marchyshyn, L. Kostyshyn, O. Zakharchuk. *Pharmacia*. 2021. № 68 (2). P. 339-345.
 2. Determination of composition of fatty acids in *Saponaria officinalis* / L. L. Budniak, L. Slobodianiuk, S. Marchyshyn, L. Kostyshyn, O. Horoshko. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2021. № 1 (29). P. 25-30.
 3. Дослідження органічних кислот у траві та підземних органах *Saponaria officinalis* L. / Л. В. Костишин, Л. В. Слободянюк, С. М. Марчишин, О. Л. Демидяк, Л. Ю. Ляшенко. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22. № 4, С. 77-82.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармацевтичного управління, технології ліків та фармакогнозії Івано-Франківського національного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, у лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань хімічного складу лікарських рослин.
7. **Строки впровадження:** 2021-2022 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармацевтичного управління,
 технології ліків та фармакогнозії
 доктор фарм. наук, професор

А. Р. Грищик


ДОДАТОК В.3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 В. о. ректора закладу вищої освіти
 Буковинського державного медичного
 університету
 професор  Оксана АНДРИЩУК
 «24» «листопада» 2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** хімічний склад мильнянки лікарської.
2. **Установа, автор:** Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою, аспірант Костишин Л. В.
3. **Джерела інформації:**
 1. Analysis of carbohydrates in *Saponaria officinalis* L. using GC/MS method / L. Slobodianiuk, L. Budniak, S. Marchyshyn, L. Kostyshyn, O. Zakharchuk. *Pharmacia*. 2021. № 68 (2). P. 339-345.
 2. Determination of composition of fatty acids in *Saponaria officinalis* / L. L. Budniak, L. Slobodianiuk, S. Marchyshyn, L. Kostyshyn, O. Horoshko. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2021. № 1 (29). P. 25-30.
 3. Дослідження органічних кислот у траві та підземних органах *Saponaria officinalis* L. / Л. В. Костишин, Л. В. Слободянюк, С. М. Марчишин, О. Л. Демидак, Л. Ю. Ляшенко. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22. № 4. С. 77-82.

Встановлено хімічний склад трави і підземних органів мильнянки лікарської.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармацевтичної ботаніки та фармакогнозії Буковинського державного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, у лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань хімічного складу лікарських рослин.
7. **Строки впровадження:** 2021-2022 навчальний рік.

Відповідальний за впровадження:
 Завідувач кафедри фармацевтичної ботаніки
 та фармакогнозії
 д.мед.н., професор 

Олександр ЗАХАРЧУК

ДОДАТОК Г.1

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

ЗАТВЕРДЖУЮ

Ректор закладу вищої освіти
Тернопільського національного
медичного університету імені
І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор
М. М. Корда
2023 р.



ПРОЄКТ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Мильнянки лікарської коренів екстракт густий
Saponariae officinalis radices extractum densum

Термін введення встановлено з
«__» _____ 202__ р.
«__» _____ 202__ р.

ДОДАТОК Г.2

ЗАТВЕРДЖУЮ
Ректор закладу вищої освіти
Тернопільського національного
медичного університету імені
І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор
М. М. Корда
«20» квітня 2023 р.



Заявник, країна: Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Україна
Виробник, країна: Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Мильнянки лікарської коренів екстракт густий

Saponariae officinalis radices extractum densum

МАРКУВАННЯ

На етикетці мішка або тюка вказують країну, підприємство-виготовлювач і його товарний знак, «Розробка ТНМУ імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль», назву екстракту на латинській та українській мовах, масу екстракту в кілограмах, умови зберігання, номер серії, термін придатності, штриховий код.

У відповідності з макетом графічного оформлення упаковки.

ЗБЕРІГАННЯ

У прохолодному, сухому, захищеному від світла місці.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Сечогінний, нефропротекторний засіб

Розробники:

Професор закладу вищої освіти,
доктор фармацевтичних наук,
завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



С. М. Марчишин

Аспірант кафедри
фармакогнозії з медичною
ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



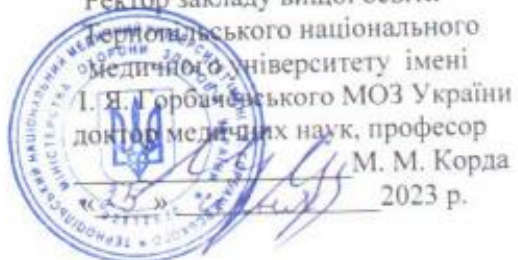
Л. В. Костишин

ДОДАТОК Г.3

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

ЗАТВЕРДЖУЮ

Ректор закладу вищої освіти



Тернопільського національного
медичного університету імені

І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор

М. М. Корда

2023 р.

**ПРОЄКТ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ**

Мильнянки лікарської трави екстракт густий

Saponariae officinale herbae extractum densum

Термін введення встановлено з

«__» _____ 200__ р.

«__» _____ 200__ р.

ДОДАТОК Г.4

ЗАТВЕРДЖУЮ

Ректор закладу вищої освіти
Тернопільського національного
медичного університету імені
І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор
М. М. Корда
2022 р.



Заявник, країна: Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Україна
Виробник, країна: Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Мильнянки лікарської трави екстракт густий

Saponariae officinale herbae extractum densum

МАРКУВАННЯ

На етикетці мішка або тюка вказують країну, підприємство-виготовлювач і його товарний знак, «Розробка ТНМУ імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль», назву екстракту на латинській та українській мовах, масу екстракту в кілограмах, умови зберігання, номер серії, термін придатності, штриховий код.

У відповідності з макетом графічного оформлення упаковки.

ЗБЕРІГАННЯ

У прохолодному, сухому, захищеному від світла місці.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Сечогінний, нефропротекторний засіб

Розробники:

Професор закладу вищої освіти,
доктор фармацевтичних наук,
завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



С. М. Марчишин

Аспірант кафедри
фармакогнозії з медичною
ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



Л. В. Костишин

ДОДАТОК Г.5

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

ЗАТВЕРДЖУЮ

Ректор закладу вищої освіти
Тернопільського національного
медичного університету імені
І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор
М. М. Корда
2023 р.

**ПРОЄКТ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ**

Мильнянки лікарської трава

Saponariae officinale herba

трава, по 50 г , пакети із поліпропіленової плівки

Термін введення встановлено з

«__» _____ 200__ р.

«__» _____ 200__ р.

УПАКОВКА

По 50 г у пакет із плівки поліпропіленової пакувальної. Пакет разом з інструкцією для медичного застосування вкладають у картонну пачку. Допускається текст інструкції для медичного застосування друкувати на пачці.

МАРКУВАННЯ

У відповідності з макетом графічного оформлення упаковки.

ЗБЕРІГАННЯ

У прохолодному, сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25 °С.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Розробники:

Професор закладу вищої освіти,
доктор фармацевтичних наук,
завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



С. М. Марчишин

Аспірант кафедри
фармакогнозії з медичною
ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



Л. В. Костишин

ДОДАТОК Г.6

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

ЗАТВЕРДЖУЮ

Ректор закладу вищої освіти
Тернопільського національного
медичного університету імені
І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор
М. М. Корда
2023 р.



ПРОЄКТ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Чорнобривців золотистих трави екстракт сухий

Tagetes lucidae herbae extractum siccum

Термін введення встановлено з

«__» _____ 200__ р.

«__» _____ 200__ р.

ДОДАТОК Г.7

ЗАТВЕРДЖУЮ
Ректор закладу вищої освіти
Тернопільського національного
медичного університету імені
І. Я. Горбачевського МОЗ України
Доктор медичних наук, професор
М. М. Корда
2023 р.



Заявник, країна: Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Україна
Виробник, країна: Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Чорнобривців золотистих трави екстракт сухий

Tagetes lucidae herbae extractum siccum

МАРКУВАННЯ

На етикетці мішка або тюка вказують країну, підприємство-виготовлювач і його товарний знак, «Розробка ТНМУ імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль», назву екстракту на латинській та українській мовах, масу екстракту в кілограмах, умови зберігання, номер серії, термін придатності, штриховий код.

У відповідності з макетом графічного оформлення упаковки.

ЗБЕРІГАННЯ

У прохолодному, сухому, захищеному від світла місці.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Сечогінний засіб

Розробники:

Професор закладу вищої освіти,
доктор фармацевтичних наук,
завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



С. М. Марчишин

Аспірант кафедри
фармакогнозії з медичною
ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



Л. В. Костишин