

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

Фармацевтичний факультет
Кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри _____
Світлана МАРЧИШИН
«___» _____ 202_ р.

УДК 615.07.322:581.43:582.795.20

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

На тему:
«ФІТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПІДЗЕМНИХ ОРГАНІВ ДЯГЕЛЮ
ЛІКАРСЬКОГО»

Виконала здобувачка вищої освіти 5 курсу
заочної форми навчання
спеціальності 226 Фармація, промислова фармація
_____ Ірина ГУМЕНЮК

Науковий керівник:
кандидат фармацевтичних наук, доцент,
доцент закладу вищої освіти кафедри фармакогнозії
з медичною ботанікою
_____ Людмила СЛОБОДЯНЮК

ТЕРНОПІЛЬ 2024

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	4
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1 БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД ТА ЗАСТОСУВАННЯ ДЯГЕЛЮ ЛІКАРСЬКОГО (Огляд літератури).....	8
1.1 Ботанічна характеристика дягелю лікарського.....	8
1.2 Хімічний склад та застосування дягелю лікарського.....	10
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	14
2.1 Ідентифікація основних груп БАР кореневищ і коренів дягелю лікарського.....	14
2.2 Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів	16
2.3 Визначення кількісного вмісту суми гідроксикоричних кислот.....	17
2.4 Визначення кількісного вмісту суми поліфенолів.....	18
2.5 Дослідження летких сполук.....	20
2.6 Визначення суми кумаринів.....	21
2.7 Дослідження елементного складу у досліджуваній сировині.....	22
2.8 Визначення числових показників якості підземних органів дягелю лікарського.....	23
РОЗДІЛ 3 ЯКІСНИЙ СКЛАД І КІЛЬКІСНИЙ ВМІСТ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У КОРЕНЕВИЩАХ І КОРЕНЯХ ДЯГЕЛЮ ЛІКАРСЬКОМУ.....	26
3.1 Визначення вмісту суми флавоноїдів	26
3.2 Вміст суми гідроксикоричних кислот	27
3.3 Визначення кількісного вмісту суми поліфенолів	29
3.4 Дослідження летких сполук.....	31
3.5 Визначення вмісту суми кумаринів.....	34
3.6 Визначення елементного складу сировини дягелю лікарського.....	36
3.7 Визначення числових показників у сировині дягелю лікарського.....	38
3.7.1 Визначення втрати в масі при висушуванні	38
3.7.2 Визначення золи загальної	39

3.7.3 Визначення золи, нерозчинної у 10 % розчині кислоти хлоридної.....	39
ВИСНОВКИ.....	41
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	42
ДОДАТКИ.....	49

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАР – біологічно активні речовини;

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;

ГХ/МС – газова хроматографія з мас-спектрометричним детектором;

ДФУ – Державна Фармакопея України;

ЛРС – лікарська рослинна сировина;

ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Лікарські рослини, які людина здавна використовує в народній медицині, є джерелом багатьох біологічно активних речовин (гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, органічних кислот, дубильних речовин, тощо). Комплекс речовин, що містяться в рослинах, обумовлює полівалентність їх дії, впливаючи на різні системи та органи організму людини. Метою використання лікарських рослин є контроль метаболічних порушень, оскільки рослинні метаболіти близькі до метаболітів організму людини.

Не дивлячись на значний прогрес у розробці синтетичних препаратів для лікування різноманітних захворювань, у сучасній медицині з'явилася тенденція до призначення рослинних препаратів. З огляду на постійно зростаючі потреби промисловості в рослинній сировині для виготовлення ліків, актуальним завданням сучасної фармацевтичної науки є розширення існуючих і пошук нових рослинних джерел.

В останні десятиліття вчені цікавляться фітохімічним складом і фармакологічними властивостями рослинної сировини родини зонтичні (*Ariaceae*). Встановлено, що рослини цієї родини завдяки різноманіттю представників і універсальності біологічно активних речовин є перспективною сировиною для вивчення їх складу та властивостей для подальшого обґрунтованого використання в медичній практиці. Багато видів рослин родини *Ariaceae* широко використовуються у фармацевтичних цілях, а саме дягель лікарський (*Angelica archangelica* L.).

Однак спостерігається обмежена кількість опублікованих даних про хімічний склад дягелю лікарського. Таким чином, метою нашого дослідження було визначення основних груп БАР у кореневищах і коренях дягелю лікарського.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами

Наукова робота виконана в рамках науково-дослідної програми кафедри

фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України «Фармакогностичний аналіз лікарських рослин та вивчення фармакологічної активності біологічно активних речовин субстанцій, одержаних на їх основі" (номер Державної реєстрації 0124 U000874).

Мета та завдання дослідження. Метою досліджень було провести фітохімічний аналіз дягелю лікарського кореневищ і коренів.

Для досягнення даної мети були поставлені наступні завдання:

- проаналізувати та дослідити джерела наукової літератури щодо ботанічної характеристики, хімічного складу, фармакологічної дії дягелю лікарського;

- провести ідентифікацію головних біологічно активних речовин дягелю лікарського кореневищ і коренів;

- встановити кількісний вміст головних біологічно активних речовин у дягелю лікарського кореневищ і коренів;

- дослідити вміст макро- та мікроелементів у дягелю лікарського кореневищах і коренях.

Об'єкт дослідження – комплексне фітохімічне дослідження кореневищ і коренів дягелю лікарського.

Предмет дослідження. Визначення якісного складу та встановлення кількісного вмісту головних БАР дягелю лікарського кореневищ і коренів.

Методи дослідження. При виконанні наших досліджень використані хімічні, фізико-хімічні, фізичні, фітохімічні та статистичні методи аналізу.

Наукова новизна одержаних результатів. Проведено вивчення якісного складу і визначення кількісного вмісту основних груп БАР кореневищ і коренів дягелю лікарського. Виявлено наявність та визначено кількісний вміст фенольних сполук (кислот гідроксикоричних, флавоноїдів, поліфенолів), летких сполук та кумаринів; визначені головні числові показники досліджуваної сировини дягелю лікарського.

Практичне значення одержаних результатів. Визначено якісний склад і

кількісний вміст основних груп БАР кореневищ і коренів дягелю лікарського. Доведено подальшу перспективність дослідження дягелю лікарського і використання його біологічно активних речовин у фармацевтичній та медичній галузях.

Апробація результатів дослідження і публікації. Результати дослідження були представлені на всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2023» (м. Запоріжжя, 23-24 листопада 2023 р.). За результатами кваліфікаційної роботи було опубліковано 1 статтю у фаховому журналі та 1 тези.

Обсяг і структура роботи. Наукова робота складається зі вступу, огляду літератури, двох розділів власних досліджень, висновків, списку використаних джерел літератури та додатків. Обсяг основного тексту наукової роботи складає 49 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 9 таблицями і 9 рисунками. Перелік використаних джерел містить 65 найменування, з яких кирилицею 10, латиною – 55.

РОЗДІЛ 1

БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД ТА ЗАСТОСУВАННЯ ДЯГЕЛЮ ЛІКАРСЬКОГО (огляд літератури)

1.1 Ботанічна характеристика дягелю лікарського

Рід *Angelica* (родина *Apiaceae*) є великим і таксономічно складним родом, що складається з багатьох (90-110) видів і різновидів, серед яких понад 60 видів широко визнані лікарськими рослинами [58]. Вважається високо поліморфною групою через величезну анатомічну різноманітність морфології плодів і листя [51]. Через це дуже важко розрізнити таксони дягелю [50].

Одним із найважливіших представників цього роду є вид дягель лікарський (*Angelica archangelica* L.), лікарська та ароматична рослина, що походить з Європи, з довгою історією використання у медичних цілях [56].

Angelica archangelica L. (*A. archangelica*) (рис. 1.1) — дворічна або багаторічна трав'яниста рослина родини *Apiaceae* із зеленувато-білими квітками та великими складними перисто-складними листками. Дягель лікарський має вкорочене циліндричне кореневище до 5 см завтовшки і численні вертикальні корені до 1 см завтовшки і 30 см завдовжки. Корені довгі, товсті, звивисті, м'ясисті, темно-коричневого кольору з характерним ароматним запахом. Корені 10–25 см завдовжки, циліндричної форми, веретеноподібні, розгалужені на кілька дрібних корінців. Свіжі корені жовтувато-коричневого кольору. Він росте у вологому ґрунті з нейтральним або лужним рН середовищем [12].

У перший рік вирощування дягель лікарський утворює розетку великих (30–70 см довжиною) складних листків із порожнистим трубчастим черешком. Протягом першого року життя рослина накопичує поживні речовини в довгих товстих веретеноподібних коренях із жовтувато-сірим епідермісом. Протягом другого року життя дягель лікарський утворює прямостоячі квітконоси до 2 м висотою, з ребрами та борозенками, порожнисті, пурпурові, не сизуваті. Прикореневі листки великих розмірів, двічі перисті та голі. Стеблові листки

двічі перисті з черешками, достатньо опушеними біля основи, а верхні листки зведені до роздутих піхв, які охоплюють розвиток суцвіть зонтиковидного типу. Зонтики кулясті (10-15 см і більше в діаметрі), з зеленувато-білими квітками. Це самозапильна рослина. Плід — шизокарпій, що складається з двох мерикарпіїв, довгастих, злегка дорсо-вентрально сплюснених (рис. 1.2) [18].



Рисунок 1.1 - Дягель лікарський

Представник родини зонтичних *Ariaceae*, дягель лікарський зазвичай зустрічається в північних регіонах світу з помірним кліматом, включаючи Фінляндію, Норвегію, Швецію, Данію та Гренландію. Для нормального росту йому потрібні вологі тіністі місця, і тому часто зустрічається дана рослина біля берегів річок та ставків. *A. archangelic* входить до Європейської, Української та Британської фармакопей [29].



Рисунок 1.2 - *Angelica archangelica* L.

1.2 Хімічний склад та застосування дягелю лікарського

Дягель лікарський широко використовувався в народній медицині і є однією з найбільш використовуваних лікарських рослин у північних країнах, де його культивували у середніх віках [28]. Серед вторинних метаболітів, які присутні у *A. archangelica* основними є ефірні олії та фуранокумарини, яких у коренях і насінні більше, ніж у листках [14].

Усі представники роду *Angelica* містять фурукумарини, сполуки з хімічною структурою, подібною до псоралену. У 1964 році Ван Дейк і Берренс повідомили про фітофотодерматит, який був викликаний *A. archangelica* [63]. Через кілька років Нільсен ідентифікував 5-метоксипсорален і 8-метоксипсорален у рослині, а також у ряді інших видів дягелю. Використовуючи високоефективну рідинну хроматографію для аналізу додаткових кумаринів у *A. archangelica* встановлено наявність бергаптену, ксантотоксину, імператорину, ізоімператорину, фелоптерину та архангеліцину (рис. 1.3) [4, 25]. Дослідження кумаринів дягелю лікарського показали багатообіцяючу дію, наприклад, протипухлинну, нейротоксичну, протигрибкову,

протисудомну, антиульцерогенну та гепатопротекторну [19, 31].

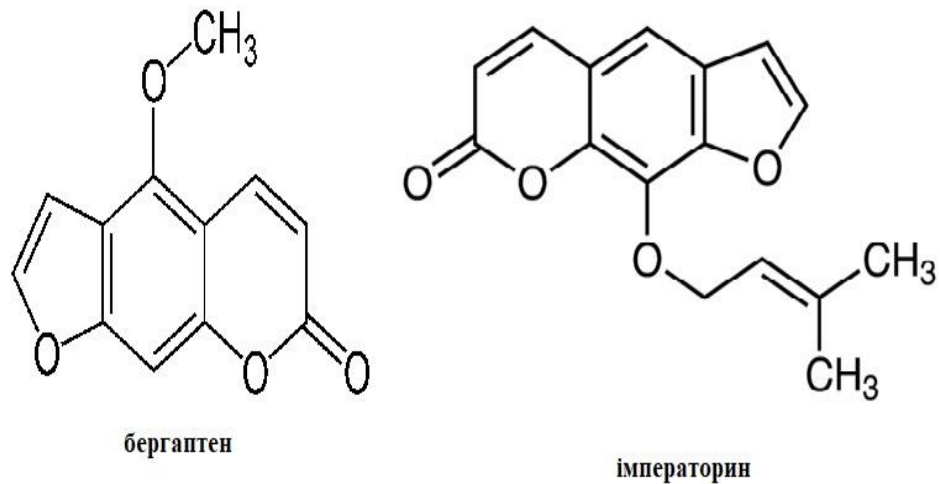


Рисунок 1.3 - Структурні формули бергаптену та імператорину, які присутні у *A. archangelica*

Знаходяться нові напрямки використання *A. archangelica* як лікарської рослини, оскільки рослина містить фурукумарини, які представляють особливу цікавість для фармакологічної галузі застосування. Фурукумарини застосовують для лікування різних шкірних захворювань, наприклад псоріазу, вітиліго та Т-клітинної лімфоми. Сьогодні лікування фотохіміотерапією (псорален плюс UVA-випромінювання) використовується для лікування деяких із зазначених вище шкірних захворювань. Псорален вважається фурукумарином, але має властивості, які іноді спричиняють небажані побічні ефекти, водночас є мутагенним і канцерогенним разом з ультрафіолетовим випромінюванням. Це викликано здатністю псоралену втручатися в ДНК і викликати ракові захворювання. Відомо, що фурукумарин ангеліцин, який міститься в *A. archangelica*, виконує роль псоралену, що забезпечує більш безпечне лікування пацієнтів із шкірними захворюваннями. Найбільшою перевагою використання ізостерів ангеліцину для лікування псоріазу є те, що він не здатний перехресно зв'язуватися з ДНК, а отже, зменшує серйозні токсичні побічні ефекти при лікуванні фотохіміотерапією [55].

Дягель лікарський містить ефірну олію та флавоноїди [52]. Досліджено,

що *A. archangelica* стимулює секрецію шлунка та підшлункової залози. Кореневище з кореннями цієї рослини використовували внутрішньо при проблемах з травленням, включаючи виразку шлунка [21, 45, 32].

У народній медицині *A. archangelica* використовувався при респіраторному катарі, диспепсії, астмі, нервовій анорексії, ревматичних захворюваннях і захворюваннях периферичних судин [58]. У традиційній індійській медицині дягель лікарський використовують при нервових розладах, таких як тривога, анорексія та мігрень. Він також використовується для лікування церебральних захворювань у традиційній китайській медицині [19].

У терапевтичному посібнику з фітотерапії, виданому «Німецькою комісією Е» монографії, детально описано використання плодів і кореня *A. archangelica* при анорексії, диспепсії, лихоманці, застуді та інфекції сечовивідних шляхів. За традицією, лікарська користь рослини була вперше записана Паркінсоном у його книзі «Paradisi in sole», підкреслюючи важливість застосування рослини дягелю лікарського як кровоочисного засобу. Терапевтична важливість рослин була відома протягом століть; сік рослини використовувався як лікувальний напій під назвою «кармелітська вода» від головного болю, як релаксant і протиотрута. У традиційній медицині дягель лікарський вважався «Ангелом» через його неймовірні цілющі властивості. Згідно з аюрведичною медичною системою, його використовували для лікування апасмари (епілепсії), сваси (астми), канду (свербежу), котхи (гангрени), соти (набряку) та при різних шкірних захворюваннях [40].

У народній медицині *A. archangelica* вважався основним продуктом для лікування шлунково-кишкових розладів і хвороб кровообігу. Оскільки відомо, що дягель стимулює кровообіг у кінцівках, тому він показаний для лікування запального стану кровоносних судин, відомого як хвороба Бюргера [36]. Дягель лікарський також застосовують у народній медицині як антисептичний, відхаркувальний, сечогінний та протиблювотний засіб, а також при зубних болях, ревматизмі, шкірних висипах, лихоманці та при головному болі. Ця рослина є хорошим засобом при кашлі, застуді, плевриті, кишкових кольках,

хворобах сечовивідних шляхів, хоча його не слід давати пацієнтам, які мають схильність до цукрового діабету, оскільки він викликає збільшення цукру в сечі [19].

Згідно літературних даних у сировині дягелю лікарського присутні флавоноїди, органічні кислоти, стероїди, сапоніни, алкалоїди, прості цукри та жири [54]. *A. archangelica* може ефективно регулювати діяльність травної системи, стимулювати імунну систему та покращувати стійкість нервової системи при тривозі та деменції [38, 42, 43]. Він також виявляє бактерицидну, фунгіцидну та протизапальну дії [33]. Екстракти *in vitro* та *in vivo* з кореня дягелю мають протипухлинний потенціал проти клітин раку молочної залози [47]. Плоди дягелю раніше використовувалися в менших масштабах. В даний час вони вважаються багатим джерелом кумаринових сполук з потенційно широким спектром застосування в різних терапевтичних цілях [20, 27].

Згідно наукових даних відомо, що ефірна олія кореню *A. archangelica* виявляє хорошу антимікробну дію проти *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Cladosporium cladosporioides*, *Clostridium difficile*, *C. perfringens*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Eubacterium limosum*, *Penicillium venetum*, *Peptostreptococcus anaerobius* та *Staphylococcus aureus* [17, 62], а також проти *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea* та *Fusarium* sp. [21]. Ефірну олію з кореня *A. archangelica* можна використовувати як природний консервант і як природний антибіотик для лікування інфекційних захворювань, спричинених цими збудниками, а також як засіб проти боротьби з патогенними для рослин грибами в природних композиціях [17].

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом для досліджень були дягелю лікарського (*Angelica archangelica* L.) кореневища і корені, які заготовляли на території Тернопільської області, після відмирання надземної частини рослини, у жовтні 2022 року (рис. 2.1).



Рисунок 2.1 – Різані кореневища і корені дягелю лікарського

2.1 Ідентифікація основних груп БАР кореневищ і коренів дягелю лікарського

Для визначення основних груп біологічно активних речовин кореневищ і коренів дягелю лікарського використовували хімічні реакції ідентифікації [9].

Виявлення флавоноїдів

Ідентифікацію флавоноїдів у кореневищі і коренях дягелю лікарського проводили у порівнянні з розчином рутину. Для цього в пробірки вносили по 1 мл етанольного екстракту кореневищі і коренях дягелю лікарського та 0,05 % етанольного розчину рутину. Ціанідінова реакція (за Бріантом) До 1 мл водно-

етанольного витягу кореневищ і коренях дягелю лікарського додавали 2-3 краплі кислоти хлоридної концентрованої і 1-2 щіпочки металічного магнію. До забарвленого продукту ціанідинової реакції додавали 1/3 частину бутанолу (за об'ємом), розбавляли водою до розділення шарів, струшували та відзначали перехід пігментів у водну або органічну фази. Пігменти глікозидів флавоноїдів залишаються у воді, а флавоноїдів-агліконів переходять в шар органічного розчинника. Малинове забарвлення водного шару і темно-оранжеве забарвлення шару бутанолу свідчить про наявність у досліджуваному екстракті кореневищ і коренях дягелю лікарського агліконів та глікозидів флавоноїдів.

Реакція з алюмінію хлоридом

До 1 мл етанольно-водної витяжки кореневищ і коренів дягелю лікарського додавали 1 мл 2 % етанольного розчину алюмінію хлориду. Спостерігалось жовте забарвлення.

Реакція з плюмбуму ацетатом

До 1 мл етанольно-водної витяжки кореневищ і коренів дягелю лікарського додавали 3–5 краплі 10 % водного розчину плюмбуму ацетату. Спостерігалось утворення осаду. Результати наведених реакцій свідчать про наявність у сировині флавоноїдів.

Виявлення гідроксикоричних кислот

Для виявлення даної групи сполук використовували етанольно-водну витяжку та проводили реакцію з 1 % розчином ферум (III) хлориду, спостерігали зелено-сіре забарвлення, яке свідчить про наявність у досліджуваному об'єкті сполук фенольної природи, в тому числі кислот гідроксикоричних.

Виявлення кумаринів

Лактонна проба

До 2 мл етанольно-водної витяжки кореневищ і коренів дягелю лікарського додавали 5 крапель 10% розчину калію гідроксиду, нагрівали на

водяній бані протягом 5 хвилин. Вміст пробірки охолоджували, додавали 2 мл очищеної води, добре перемішували, додавали 10% розчин хлоридної кислоти до кислої реакції (за лакмусом). Виникнення опалесценції, помутніння або утворення осаду вказує на можливу присутність кумаринів в сировині. У витяжці з кореневищ і коренів дягелю лікарського з'явилася опалесценція.

Реакція з діазореактивом в лужному середовищі

До 2 мл етанольно-водної витяжки з кореневищ і коренів дягелю лікарського додавали 5 крапель 10 % етанольного розчину калію гідроксиду і нагрівали на водяній бані протягом 3-5 хвилин, після чого додавали 5 крапель свіжоприготованого розчину діазотованої кислоти сульфанілової. Реакція заснована на властивості кумаринів утворювати забарвленні продукти із ароматичними амінопохідними. Витяжка з кореневищ і коренів дягелю лікарського набула малиново-червоного забарвлення, що може свідчити про присутність у сировині кумаринів.

2.2 Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів

Кількісний вміст суми флавоноїдів визначали у перерахунку на рутин.

Вихідний розчин. 1,00 г (точна наважка) подрібненої сировини, просіяної крізь сито з діаметром отворів 2 мм, поміщали у колбу зі шліфом місткістю 100 мл, додавали 30 мл етанолу (70 %, об/об) *P* та зважували. Колбу із зворотним холодильником нагрівали на водяній бані протягом 2 год, періодично струшували для змивання часток сировини зі стінок. Після охолодження до кімнатної температури колбу зважували, при необхідності додавали етанол 70 % *P* до первинної маси. Витяг фільтрували через паперовий фільтр та відділяли перші 20 мл.

Випробовуваний розчин. 1 мл вихідного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 25 мл, додавали 2 мл розчину 30 г/л алюмінію хлориду *P* в етанолі 96 % *P*, доводили об'єм розчину етанолом 96 % *P* до позначки і перемішували.

Компенсаційний розчин. 1 мл вихідного розчину поміщали у мірну колбу

місткістю 25 мл і доводили етанолом 96 % *P* до позначки, перемішували.

Оптичну густина випробовуваного розчину вимірювали через 40 хв при довжині хвилі 415 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм на спектрофотометрі Lambda 25 UV (Perkin Elmer, USA) [5, 7].

Паралельно вимірювали оптичну густина розчину ФСЗ рутину, приготовленого аналогічно досліджуваному розчину.

Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на рутин і абсолютно суху сировину, у відсотках, обчислювали за формулою 2.1:

$$X = \frac{A \times m_0 \times 30 \times 100 \times 100}{A_0 \times m \times (100 - W) \times 100}, \quad (2.1)$$

де: A – оптична густина випробовуваного розчину;

A_0 – оптична густина ФСЗ рутину;

m – маса наважки сировини, г;

m_0 – маса наважки ФСЗ рутину, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Приготування стандартного зразка рутину: 0,050 г (точна наважка) стандартного зразка рутину, попередньо висушеного при температурі 130 °С протягом 3 год, розчиняли в етанолі 70 % *P* у мірній колбі на 100 мл, доводили до позначки [5, 7].

2.3 Визначення кількісного вмісту суми гідроксикоричних кислот

Кількісне визначення суми кислот гідроксикоричних у дягелю лікарському ґрунтується на спектофотометричному методі [3].

2,0 г (точна наважка) подрібненої сировини поміщали у колбу місткістю 200 мл і заливали 70 мл 20 % етанолу. Колбу приєднували до зворотного холодильника і нагрівали на водяному нагрівнику протягом 15 хвилин.

Екстракцію проводили тричі. Екстракт охолоджували і фільтрували через паперовий фільтр використовуючи лійку Бюхнера. Витяг кількісно переносили у мірну колбу місткістю 250 мл і доводили об'єм розчину 20 % етанолом до мітки (розчин А). У мірну колбу місткістю 50 мл вносили 1 мл розчину А і доводили до мітки 20 % етанолом. Оптичну густину розчину вимірювали на спектрофотометрі LabAnalyt SP-V1000 при довжині хвилі 327 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Для порівняння використовували 20 % етанол.

Вміст гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту та на абсолютно суху сировину у відсотках (X) обчислювали за формулою 2.2:

$$X = \frac{A \times 250 \times 50 \times 100}{E^{1\%}_{1cm} \times m \times 1 \times (100 - W)}, \quad (2.2)$$

де: A – оптична густина досліджуваного розчину;

250 – об'єм розчину, мл;

m – маса сировини, г;

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

W – втрата в масі при висушуванні, %.

2.4 Визначення кількісного вмісту суми поліфенолів

Кількісний вміст суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол в рослинній сировині визначали модифікованим методом УФ-спектрофотометрії [1].

Таніни. 0,500 г подрібненої на порошок досліджуваної сировини поміщали у круглодонну колбу місткістю 250 мл, додавали 150 мл води P . Нагрівали протягом 30 хв на водяній бані, охолоджували під проточною водою та кількісно переносили в мірну колбу місткістю 250 мл. Круглодонну колбу обполіскують водою P , промивні води переносили в мірну колбу і доводили об'єм розчину водою до 250 мл. Давали осаду осісти та рідину фільтрували

крізь фільтрувальний папір діаметром 125 мм. Відкидали перші 50 мл фільтрату.

Сума поліфенолів. 5 мл фільтрату доводили водою P до 25 мл. Суміш 2 мл одержаного розчину 1 мл фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву P і 10 мл води P доводили розчином 290 г/л натрію карбонату P до об'єму 25 мл. Через 30 хв вимірювали оптичну густину розчину при довжині хвилі 760 нм (A_1), використовуючи як компенсаційний розчин воду P .

Поліфеноли, що не абсорбуються шкірним порошком. До 10 мл фільтрату додавали 0,10 г ФСЗ шкірного порошку і енергійно струшували протягом 60 хв. Суміш фільтрували і доводили 5 мл фільтрату водою P до об'єму 25 мл.

Суміш 2 мл одержаного розчину, 1 мл фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву P і 10 мл води P доводили розчином 290 г/л натрію карбонату P до об'єму 25 мл. Через 30 хв вимірювали оптичну густину розчину при довжині хвилі 760 нм (A_2), використовуючи як компенсаційний розчин воду P .

Стандартний розчин. Безпосередньо перед випробовуванням 0,050 г пірогалолу P розчиняли у воді P і доводили об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл. 5 мл одержаного розчину доводили водою P до об'єму 100 мл (рис. 2.2).

Суміш 2 мл одержаного розчину, 1 мл фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву P і 10 мл води P доводили розчином 290 г/л натрію карбонату P до об'єму 25 мл. Через 30 хв вимірювали оптичну густину розчину при довжині хвилі 760 нм (A_3), використовуючи як компенсаційний розчин воду P [5, 10].

Вміст суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол у % обчислювали за формулою 2.3:

$$X = \frac{62,5 \times A_1 \times m_2}{A_3 \times m_1}, \quad (2.3)$$

де: m_1 – маса випробовуваного зразка, г;

m_2 – маса пірогалолу, г [5].

Статистично результати досліджень опрацювали методами математичної статистики, застосувавши пакет прикладних програм Microsoft Office Excel. Статистичне опрацювання результатів хімічних експериментів здійснили за методикою ДФУ [2].

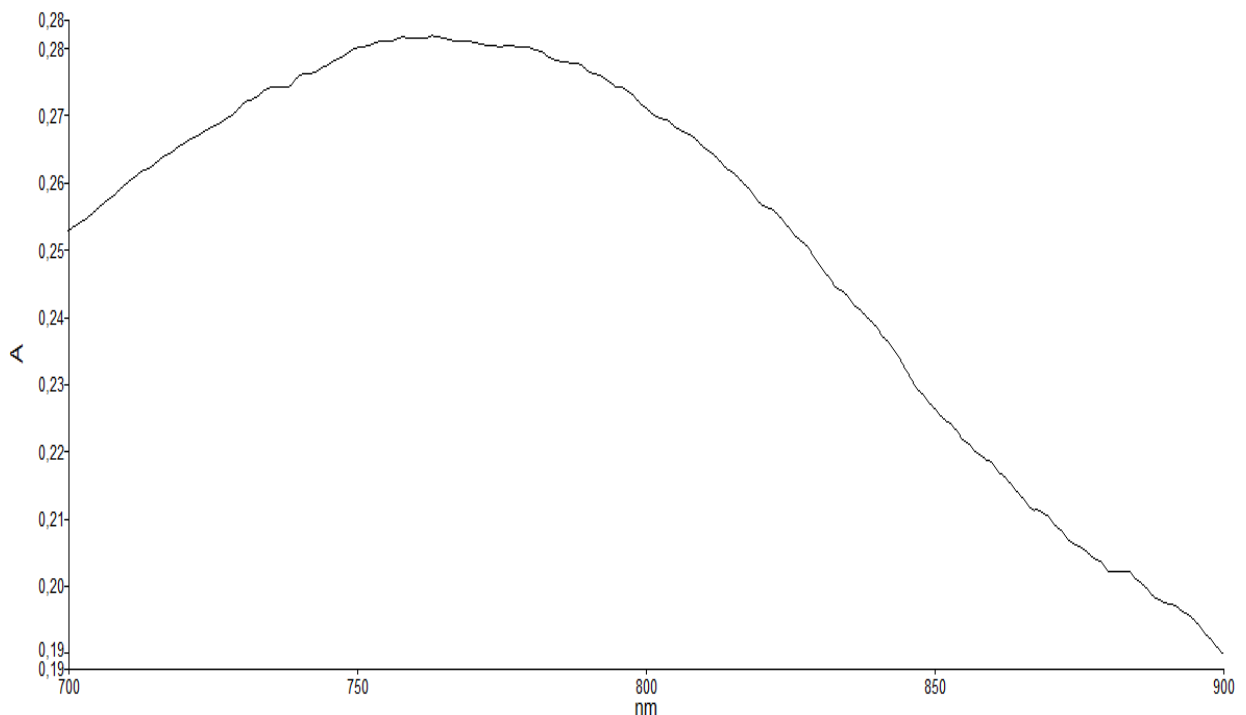


Рисунок 2.2 - УФ-область спектру поглинання стандартного зразку пірогалолу

2.5 Дослідження летких сполук

Якісний склад та кількісний вміст (мкг/г) летких сполук у підземних органах дягелю лікарського визначали хромато-мас-спектрометричним методом на хроматографі Agilent Technologies 6890 з мас-спектрометричним детектором 5973 [24].

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), з додаванням внутрішнього стандарту – тридекану. Умови хроматографування: швидкість газу-носія (гелію) – 1,0 мл/хв; температура нагрівача введення проби – 250 °С; температура термостату програмувалася від 50 до 320 °С зі швидкістю 4 град/хв.

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 NIST08 у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS и NIST 08.

2.6 Визначення суми кумаринів

Кількісний вміст суми похідних кумаринів визначали спектрофотометричним методом на спектрофотометрі Lambda 25 Perkin Elmer [8]. Виділення суми кумаринів у кореневищах і коренях дягелю лікарського проводили за допомогою екстракції спиртовими сумішами з подальшою обробкою одержаного залишку неполярним розчинником. Для аналізу брали метанольний екстракт і хлороформ у співвідношенні 15:85, потім додавали воду очищену і 2 % розчин NaCl, перемішуючи отриману суміш упродовж 2 хв., залишали до повного розділення фаз. Верхній водний шар переносили в епандорфи з додаванням води очищеної. Оптичну густину отриманого розчину виміряли на спектрофотометрі Lambda 25 Perkin Elmer, у перерахунку на псорален при довжині хвилі 290 нм. Розрахунки проводили за формулою 2.4:

$$X = \frac{A \times 100 \times 100 \times 10}{650 \times m \times 20 \times (100 - W)}, \quad (2.4)$$

де:

A – оптична густина досліджуваного розчину при 290 нм;

650 – питомий показник поглинання псоралену при 290 нм;

m – маса наважки сировини, г;

W – втрата у масі при висушуванні, %

2.7 Дослідження елементного складу у досліджуваній сировині

Встановлення якісного складу та визначення кількісного вмісту макро- і мікроелементів у зразках досліджуваних видів сировини кореневищ і коренів дягелю лікарського проводили методом атомно-адсорбційної спектроскопії (ААС) з атомізацією в повітряно-ацетиленовому полум'ї [6].

Пробопідготовку зразків сировини здійснювали методом сухого і вологого (для визначення кадмію) озолення. Сухе озолення полягало у спалюванні досліджуваної подрібненої сировини у муфельній печі при температурі 450-500 °С, впродовж 6 год. Для проведення вологого озолення до наважки подрібненої повітряно-сухої сировини масою 0,1 г додавали 10 % розчин калію біхромату і 10 мл кислоти сульфатної, кип'ятили до прозорості розчину, який потім висушували в сушильній шафі і сухий залишок використовували для подальшого аналізу.

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

Радіонуклідним рентгенофлуоресцентним методом аналізу визначали вміст аргентуму, барію, бромю, стронцію, рубідію, молібдену та церію.

Вимірювання проводили на флуоресцентному ренгенорадіометричному спектрометрі з кремній-літійовим детектором й ізотопним збудженням. Джерелом збудження були ^{109}Cd , ^{55}Fe і ^{241}Am .

Чутливість даного методу поступово змінювалася від 0,5 % до 0,001 %, відносне стандартне відхилення не перевищувало ± 20 %.

Вміст кальцію та магнію у досліджуваних об'єктах визначали титриметрично.

2.8 Визначення числових показників якості підземних органів дягелю лікарського

Визначення втрати в масі при висушуванні кореневищ і коренів дягелю лікарського

Аналітичну пробу досліджуваної сировини подрібнювали до розміру частинок близько 1 мм, перемішували, відбирали три наважки масою 3,0 г, зважували з похибкою $\pm 0,01$ г. Кожну наважку поміщали в попередньо висушений і зважений з кришкою та без кришки бюкс і ставили у нагріту до 100-105°C сушильну шафу. Перше зважування проводили через 3 години. Висушування проводили до досягнення постійної маси. Постійна маса вважалася досягнутою, коли різниця між двома зважуваннями після 30 хв висушування і 30 хв охолодження в ексікаторі не перевищували 0,01 г. Втрату в масі при висушуванні (X) у відсотках розраховували за формулою:

$$X = (m - m_1) * 100 / m \quad (2.5)$$

Де: m - маса сировини до висушування, г;

m_1 – маса сировини після висушування, г [9].

Визначення загальної золи у кореневищі і коренях дягелю лікарського

Близько 5,0 г (точна наважка) подрібнених кореневищ і коренів дягелю

лікарського поміщали в попередньо прожарений і точно зважений фарфоровий тигель, рівномірно розподіляючи сировину по дні тигля. Потім тиглі обережно нагрівали на електричній плитці, даючи сировині згоріти при як можливо більш низькій температурі. Спалювання частинок вугілля, що залишилися, проводили в муфельній печі при температурі 400 °С. Залишок охолоджували, змочували водою, випарювали на водяній бані та прожарювали. Прожарювання вели при слабкому червоному пропалюванні (при температурі близько 500° С) до постійної маси, уникаючи сплавлення золи та спікання її зі стінками тиглю. Після закінчення прожарювання тигель охолоджували в ексикаторі та зважували [9].

Вміст загальної золи у кореневищі коренях дягелю лікарського (X, %) розраховували за формулою:

$$X = (m_2 - m_1) * 100 * 100 / m * (100 - W) \quad (2.6)$$

Де: m_2 – маса тигля з сировиною, г;

m_1 – маса тигля з золою, г;

m – маса сировини, г;

W – вологість сировини, %.

Визначення вмісту золи, нерозчинної в кислоті хлоридній, у кореневищі і коренях дягелю лікарського

До залишку в тиглі, отриманого після визначення загальної золи, додавали 15 мл 10 % розчину кислоти хлоридної, тигель закривали годинниковим склом і нагрівали 10 хв на киплячій водяній бані. До вмісту тигля додавали 5 мл гарячої води, обмиваючи нею годинникове скло. Отриману рідину фільтрували через беззольний фільтр, переносячи на нього залишок з допомогою гарячої води. Фільтр із залишком промивали гарячою водою до негативної реакції на хлориди в промивних водах, переносили в той же тигель, висушували, спалювали, пропалювали до постійної маси. Вміст золи, нерозчинної в кислоті хлоридній

(X , %), розраховували за формулою:

$$X = (m_2 - m_1) * 100 * 100 / m * (100 - W) \quad (2.7)$$

Де: m_2 - маса тигля з сировиною, г;

m_1 - маса тигля з золюю, г;

m - маса сировини, г;

W - вологість сировини, % [9].

РОЗДІЛ 3

ЯКІСНИЙ СКЛАД І КІЛЬКІСНИЙ ВМІСТ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У КОРЕНЕВИЩАХ І КОРЕНЯХ ДЯГЕЛЮ ЛІКАРСЬКОМУ

3.1 Визначення вмісту суми флавоноїдів

Фенольні сполуки пов'язані з великою кількістю фармакологічних дій на організм людини, особливий інтерес викликає їх антиоксидантна здатність, яка може допомогти захистити клітини від окисного пошкодження, спричиненого вільними радикалами. Антиоксиданти - це сполуки, які можуть інгібувати або затримувати окислення субстрату в ланцюговій реакції. Синтетичні антиоксиданти широко використовуються, але в даний час їх використання обмежене через їхні побічні ефекти на організм людини, тому є актуальним пошук нових рослинних засобів з антиоксидантними властивостями.

Флавоноїди — це вторинні метаболіти, які виконують багато функцій, наприклад, регулюють ріст клітин, залучають комах-запилювачів і захищають від біотичних та абіотичних стресів [30]. Завдяки своїм чудовим антиоксидантним властивостям флавоноїди використовуються в харчовій, косметичній та фармацевтичній промисловості. Флавоноїди проявляють багато різних властивостей, але властивість, пов'язана зі здатністю звільняти радикали та діяти як антиоксиданти, безсумнівно, є найбільш важливою [39]. Дослідження свідчать про захисні ефекти флавоноїдів проти багатьох бактеріальних, вірусних захворювань та дегенеративних захворювань, таких як серцево-судинні, онкологічні захворювання [44].

Спектрофотометричним методом нами визначено кількісний вміст суми флавоноїдів у кореневищах і коренях дягелю лікарського. Загальний кількісний вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин у кореневищах і коренях досліджуваної рослини становив $0,34 \pm 0,01\%$ (табл. 3.1). Дане визначення сполук допоможе в дослідженні фармакологічної активності дягелю лікарського, а саме, у визначенні антиоксидантної активності, основною

групою, відповідальною за прояв такої дії вважаються сполуки фенольної природи.

Таблиця 3.1 – Метрологічна характеристика кількісного вмісту суми флавоноїдів у кореневищі і коренях *Angelica archangelica* L.

m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	$\varepsilon_{\%}$
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
5	4	0,3456	0,34	0,0000	0,0010	0,95	2,78	0,34±0,01	0,78
		0,3398							
		0,3423							
		0,3425							
		0,3412							

3.2 Вміст суми гідроксикоричних кислот

Гідроксикоричні кислоти є найбільш поширеними феноловими кислотами в рослинах. Загалом їх можна визначити як сполуки, отримані з коричної кислоти. Вони присутні у високих концентраціях у багатьох харчових продуктах та у лікарських рослинах. Корична кислота привернула велику увагу в східних дослідженнях, де її використовують як антиоксидант у харчових добавках в Азії та особливо в медичних дослідженнях у Китаї після того, як було доведено, що вона є ефективним компонентом лікарських трав, що використовуються традиційною медициною.

Корична кислота - це фенольна кислота, широко поширена в рослинному світі, яка представляє широкий спектр потенційних терапевтичних ефектів, корисних при лікуванні раку, діабету, легневих і серцево-судинних захворювань, а також проявляє протимікробну та протизапальну дії. Загалом, фармацевтичний потенціал коричної кислоти можна пояснити її здатністю поглинати вільні радикали [37, 64].

Спектрофотометричним методом встановлено нами кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот, у перерахунку на хлорогенову кислоту, який становив у кореневищах і коренях дягелю лікарського $4,08 \pm 0,001$ % (табл. 3.2).

Таблиця 3.2 – Метрологічна характеристика кількісного вмісту суми гідроксикоричних кислот у кореневищі і коренях *Angelica archangelica* L.

m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	ε , %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
5	4	4,0823	4,08	0,0000	0,0013	0,95	2,78	$4,08 \pm 0,001$	0,09
		4,0843							
		4,0827							
		4,0765							
		4,0811							

Хлорогенова кислота ретельно вивчена сполука, оскільки вона широко поширена в багатьох рослинах, є однією із основних представників гідроксикоричних кислот у раціоні людини та має багато корисних властивостей. Виявлено, що хлорогенова кислота має антиоксидантну, протизапальну, протипухлинну, протиліпідемічну, протидіабетичну, антигіпертензивну та антинейродегенеративну активність [15, 23]. Більше того, більшість досліджень щодо користі хлорогенової кислоти для здоров'я було проведено щодо розладів, пов'язаних із метаболічним синдромом, який визначається як група взаємопов'язаних фізіологічних, біохімічних, клінічних і метаболічних факторів, які підвищують ризик серцево-судинних захворювань та цукрового діабету 2 типу. За оцінками, 25 % дорослого населення світу має даний синдром. Крім того, синдром вважається всесвітньою епідемією з високими соціально-економічними витратами та зростаючою поширеністю як у дитинстві, так і в молодому віці [48]. Тому пошук лікарських рослин з високим вмістом гідроксикоричних кислот, в першу чергу хлорогенової кислоти, є актуальним з метою профілактики, лікування метаболічного синдрому та

пов'язаних з ним розладів, включаючи дослідження *in vivo*, клінічні випробування та механізми дії.

3.3 Визначення кількісного вмісту суми поліфенолів

Людський організм продуманий і добре організований механізмом антиоксидантного захисту у формі антиоксидантних ферментів, які протидіють шкідливому впливу вільних радикалів і активних форм кисню. Оскільки ця система антиоксидантного захисту слабшає з часом і віком людини, споживання зовнішніх антиоксидантів стає надзвичайно актуальним для боротьби зі згубним впливом цих вільних радикалів і активних форм кисню. Поліфеноли є важливим представником вторинних метаболітів рослин і мають антиоксидантні властивості [53].

У природі ідентифіковано понад 8000 поліфенолів, які мають широкий спектр екологічних ролей для рослин, включаючи захист від біотичного та абіотичного стресу. Поліфеноли у великій кількості містяться в кожній частині рослин [34]. Вони також є основним компонентом раціону людини, і їх споживання пов'язане з різними позитивними впливами на проблеми, пов'язані зі здоров'ям. Дослідження корисної дії рослин, які багаті на вміст поліфенолів було предметом інтересу серед вчених протягом досить тривалого часу та з популяризацією рослинних продуктів та ліків з рослинної сировини з мінімальними побічними ефектами [41]. Таким чином, враховуючи важливість поліфенолів для людини, і пошук нових рослинних засобів які містять дані сполуки, нами визначено кількісний вміст поліфенолів у досліджуваній сировині.

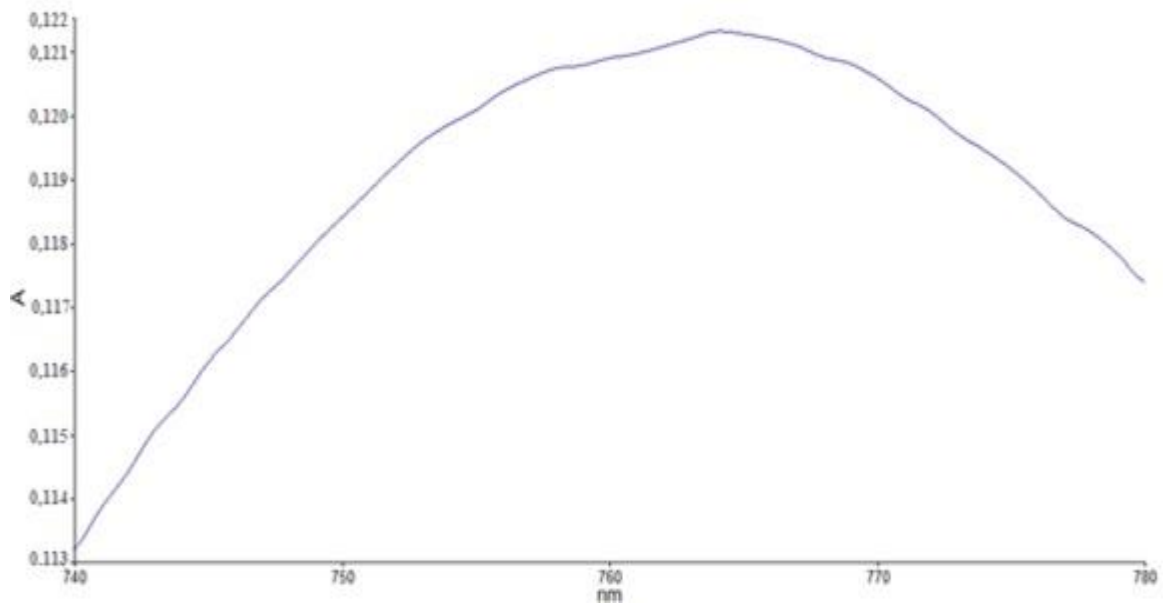


Рисунок 3.1 - УФ-спектр визначення суми поліфенолів у кореневищах і коренях дягелю лікарського

Таблиця 3.3 – Метрологічна характеристика кількісного вмісту суми поліфенолів у кореневищі і коренях *Angelica archangelica* L.

m	n	X_i	$X_{\text{ср}}$	S^2	$S_{\text{ср}}$	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	$\varepsilon_{\text{р}}$, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
5	4	2,6678	2,66	0,0000	0,0025	0,95	2,78	2,66±0,01	0,26
		2,6712							
		2,6613							
		2,6578							
		2,6611							

Як свідчать результати дослідження, вміст суми поліфенолів у кореневищах і коренях дягелю лікарського становить $2,66 \pm 0,01$ %, у перерахунку на пірогалол (табл. 3.3).

3.4 Дослідження летких сполук

Ефірні олії протягом тривалого часу мали велике значення для застосування у фармакологічних, косметичних і ароматичних препаратах через їх приємні, інтенсивні, солодкі та квіткові аромати, а також їхні фіксуючі властивості [13, 57]. Ефірні олії отримують із рослин як вторинні метаболіти, просочені неполярними рідинами, які містять леткі компоненти. Як правило, вони складаються з терпенів і фенілпропанів [11]. Відомо, про лікувальні властивості та дію ефірних олій починаючи від протигрибкової, антибактеріальної, антиоксидантної, протидіабетичної, проти перекисного окислення ліпідів тощо [16]. Лікувальні можливості ефірних олій, як і інших лікарських засобів рослинного походження, ще не повністю реалізовані.

Рослинними вторинними продуктами, як правило, у *Ariaceae* є ефірні олії, включаючи терпеноїди та фенілпропаноїди, кумарини та фуранокумарини, сесквітерпенелактони та поліацетилен [22]. Найхарактернішими вторинними метаболітами *A. archangelica* є ефірні олії та фуранокумарини, яких у коренях і насінні більше, ніж у листках. Тому, щоб повною мірою використати ресурси дягелю лікарського, важливо визначити концентрацію та склад ефірних олій, витягнутих із підземних органів цієї рослини.

Ефірні олії рослин можуть містити багато різних ізомерів, і важко точно ідентифікувати ці сполуки. Газова хромато-мас-спектрометрія (ГХ-МС) є корисним методом для якісного та кількісного аналізу ефірних олій.

Результати, отримані при якісному та кількісному аналізі досліджуваних сполук ефірних олій у кореневищах з коренем *A. archangelica*, наведені на рисунку 3.2.

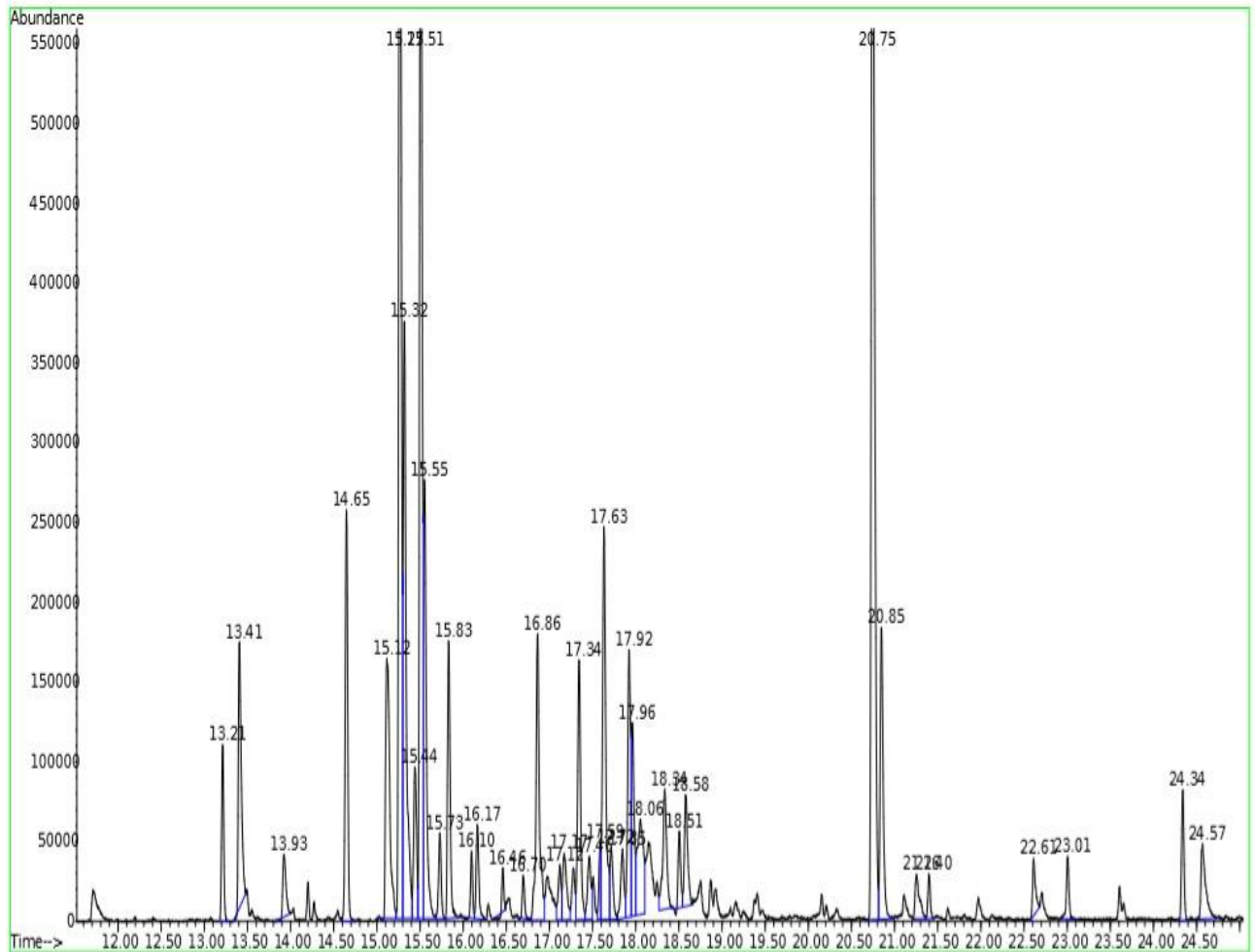


Рисунок 3.2 - ГХ/МС хроматограма компонентів летких сполук кореневищ і коренів дягелю лікарського.

Результати летких сполук *A. archangelica* наведені в таблиці 1, більшість складових сполук – терпен, терпеноїди та ациклічні алкани. Хімічний склад ефірних олій, отриманих з кореневищ з корінням, містить 15 сполук, більшість з яких включають *цис*-пінан (644,98 мкг/г), α -фарнезен (472,36 мкг/г) і α -зингіберен (294,73 мкг/г) (табл. 3.4, рис. 3.2).

Таблиця 3.4 - Леткі сполуки (мкг/г) у кореневищі і коренях *Angelica archangelica* L.

Компонент летких сполук	Відсоток співпадіння, %	Час утримування, хв	Кореневища і корені дягелю лікарського, мкг/г
Три декан	внутрішній стандарт		
Копане	96	13.21	82.46±0.02
1-[4-(1-метилетеніл)феніл]-етанон	95	13.41	161.19±0.03
β -кубебен	96	14.02	26.32±0.02
α -каріофілен	97	14.65	179.07±0.03
α -куркумен	95	15.11	201.8±0.04
α -зингіберен	94	15.32	294.73±0.03
α -муролен	95	15.44	82.69±0.01
α -фарнезен	98	15.5	472.36±0.04
β -бісаболен	94	15.55	200.70±0.03
δ -аморфен	95	15.84	118.57±0.02
β -гвайєн	96	16.1	31.27±0.01
<i>транс</i> -хризантемал	92	17.6	188.78±0.03
<i>цис</i> -пінан	90	20.75	644.98±0.04
6,10,14-триметил-2-пентадеканон	91	20.85	145.40±0.02

Фарнезен є простим ациклічним сесквітерпеном терпеноїдів і є важливим компонентом рослинних ефірних олій у природі [49]. В даний час фарнезен відіграє важливу роль у промисловості, сільському господарстві та побуті. У промисловому виробництві фарнезен використовується в мастильних матеріалах, поверхнево-активних речовинах і косметиці завдяки своїм чудовим властивостям. Фарнезен також можна використовувати як попередник вітаміну

Е, який сприяє промислового синтезу вітаміну Е [46]. α -Фарнезен використовується як харчова добавка, ароматизатор, засіб для боротьби зі шкідниками, біопаливо, антимікробний, противірусний засіб і як складова ефірних олій, які можуть зменшити симптоми Covid-19 [59]. Зингіберен, один із п'яти основних сесквітерпенових вуглеводнів, який є природним антиоксидантом і діє як противірусний засіб та використовують як протизапальний засіб. α -Зингіберен відомий своїми гострими та ароматичними властивостями. У *Lipomyces starkeyi*, дріжджів, трансгенні штами, що експресують гени α -зингіберенсинтази, можуть продукувати α -зингіберен, який може бути додатково посилений надмірною експресією вибраних генів мевалонатного шляху. Була також вивчена цитотоксична активність α -зингіберену, яка виявила активність проти ліній пухлинних клітин. Загалом α -зингіберен відіграє певну роль у хімічному складі, ароматі та потенційних лікувальних властивостях рослин [35].

3.5 Визначення вмісту суми кумаринів

Сполуки кумарину, як лікарські препарати, все більше привертають особливий інтерес через їхній внесок у профілактику та лікування різноманітних захворювань. Природні кумарини поділяються на різні класи на основі їх хімічної різноманітності та складності — прості кумарини, ізокумарини, фуранокумарини та піранокумарини (як кутові, так і лінійні), біскумарини та інші кумарини, такі як фенілкумарини [65]. Кумарини мають кілька привабливих властивостей, таких як низька молекулярна маса, проста структура, висока біодоступність, висока розчинність у більшості органічних розчинників і низька токсичність, які разом із їх багатогранною біологічною активністю забезпечують їм помітну роль як провідних сполук у дослідженні і розробці нових рослинних лікарських засобів [26].

Незважаючи на визнання їхньої біологічної активності, кумарини мають ще одну важливу характеристику, яку широко досліджує промисловість: їх люмінесцентні властивості.

Тому нашою метою було дослідити сумарний вміст кумаринів у кореневищах і коренях дягелю лікарського, який згідно літературних джерел містить значну кількість цих сполук [4].

Спектрофотометричним методом у кореневищах і коренях дягелю лікарського у перерахунку на псорален визначено кількісний вміст суми похідних кумаринів. Встановлено, що вміст суми кумаринів у підземних органах дягелю лікарського становив $3,89 \pm 0,01\%$ (табл. 3.5).

Таблиця 3.5 – Метрологічна характеристика кількісного вмісту суми кумаринів у кореневищі і коренях *Angelica archangelica* L.

m	n	X_i	X_{cp}	S^2	S_{cp}	P	t(P, n)	Довірчий інтервал	ε , %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
5	4	3,8954	3,89	0,0001	0,0039	0,95	2,78	3,89±0,01	0,28
		3,8845							
		3,8912							
		3,8967							
		3,8756							

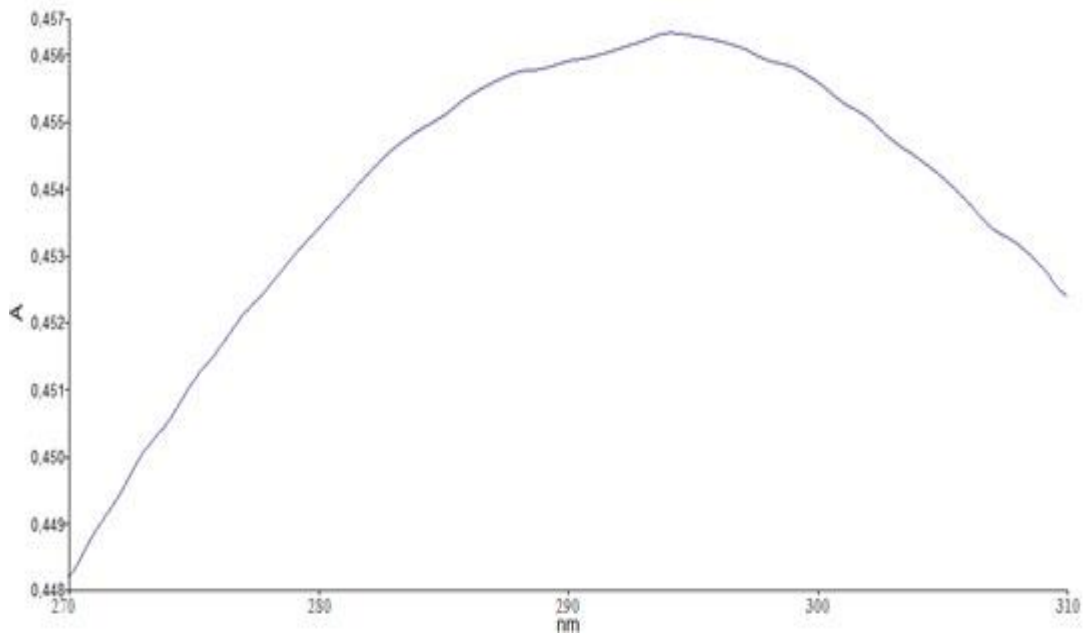


Рисунок 3.3 - УФ-спектр визначення суми кумаринів у кореневищах і коренях дягелю лікарського

Кумарини виявляють кілька фармакологічних ефектів, включаючи антикоагулянтну, протимікробну, протизапальну, нейропротекторну, антидіабетичну, протисудомну та антипроліферативну [60]. Їх важливість також очевидна в харчовій промисловості, де досліджується та використовується їх фунгіцидна та антиоксидантна активність [61].

3.6 Визначення елементного складу сировини дягелю лікарського

Макро- та мікроелементи приймають участь у підтриманні кислотно-основної рівноваги, попередженні ендокринних захворювань, впливають на обмін речовин та функціональний стан кровотворної, нервової та серцево-судинної систем, проявляють протизапальну, антиоксидантну, протиалергічну, кровоспинну дії [6].

Нами досліджено елементний склад кореневищ і коренів дягелю лікарського методом ААС.

У результаті досліджень встановлено, що кореневища і корені досліджуваного об'єкту багаті на макро- і мікроелементи (табл. 3.6).

У результаті проведеного дослідження встановлено наявність та визначено кількісний вміст 14 елементів у кореневищі і коренях дягелю лікарського: 4 – макроелементів (Ca, Na, K, Mg) і 10 – мікроелементів (Si, Mn, Pb, Ni, Zn, Cu, Fe, Mo, Co, Al) (табл. 3.6).

Таблиця 3.6 - Вміст макро- і мікроелементів у кореневищах і коренях дягелю лікарського (у перерахунку на суху сировину)

Зразок	Вміст елемента, мг/100г													
	Fe	Co	Al	Mn	Mg	Pb	Ni	Mo	Ca	Si	Cu	Zn	Na	K
Кореневище і корені	11,4	<0,03	12,04	5,2	907	0,05	0,72	0,06	836	64	0,82	6,5	1413	1698

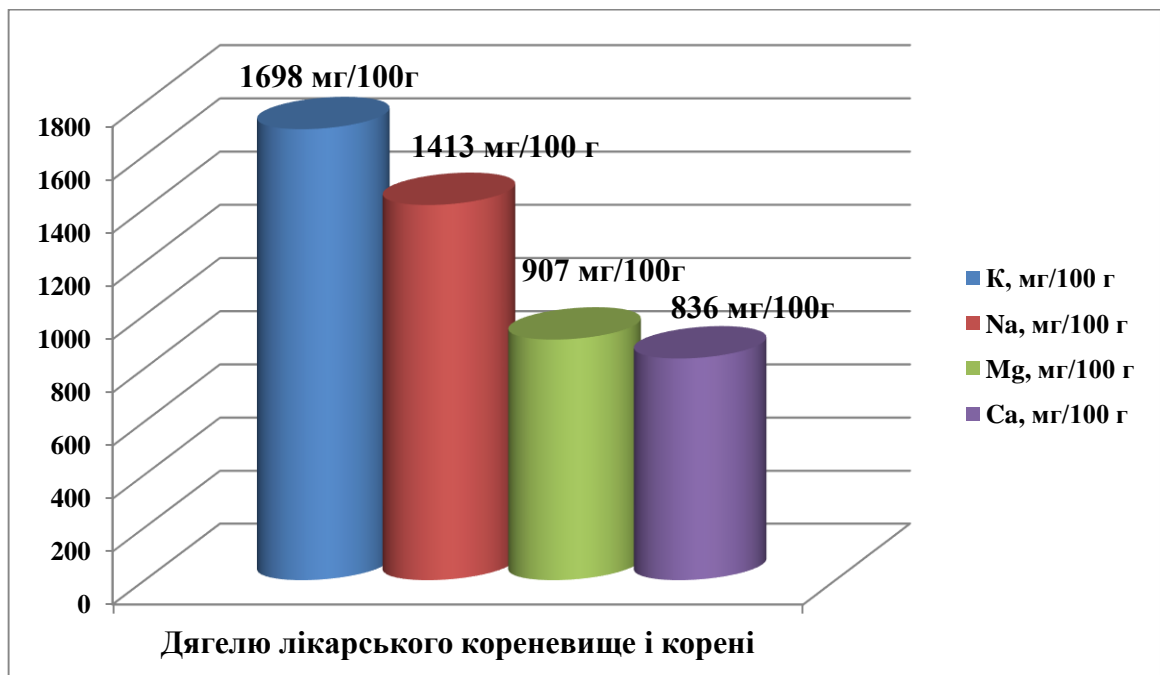


Рисунок 3.4 - Вміст макроелементів у кореневищі і коренях дягелю лікарського

Проаналізувавши одержані результати у кореневищі і коренях дягелю лікарського слід відмітити високий вміст калію (1698 мг/100г), натрію (1413

мг/100г), магнію (907 мг/100г) та кальцію (836 мг/100г) (рис. 3.4). Кальцій має велике значення для діяльності організму, бере участь у роботі всіх органів та систем, у згортанні крові, регуляції серцевої діяльності, має антистресовий та антиалергічний ефект, а також він необхідний для кісткової тканини, так як складає її основу, а дефіцит калію зумовлює порушення функцій нервово-м'язової і серцево-судинної систем, депресії, дискоординації рухів, м'язову та артеріальну гіпотонію. У зв'язку з цим, підземні органи дягелю лікарського, через достатній вміст калію та кальцію, можна рекомендувати для додаткової терапії, при захворюваннях зумовлених нестачею даних елементів [6].

3.7 Визначення числових показників у сировині дягелю лікарського

Доброякісність рослинної сировини має залежність від відповідності її числових показників вимогам нормативної документації. Тому з метою встановлення доброякісності кореневищ і коренів дягелю лікарського нами визначено такі показники: втрата в масі при висушуванні сировини, вміст золи загальної та золи, нерозчинної у 10 % розчині хлоридної кислоти [9].

3.7.1 Визначення втрати в масі при висушуванні

У залежності від морфологічної групи, повітряно-суха рослинна сировина, вміщує до 14 % гігроскопічної вологи та летких речовин. Підвищення значення цього показника призводять до псування сировини: змінюється забарвлення, з'являється неприємний запах та пліснява, руйнуються діючі речовини [9]. Тому нами визначено норму вологості для дягелю лікарського кореневищ і коренів.

Результати визначення втрати в масі при висушуванні в досліджуваному об'єкті сировини наведено у таблиці 3.7.

Таблиця 3.7 - Визначення втрати в масі при висушуванні у сировині дягелю лікарського

№ з/п	Сировина	Втрата в масі при висушуванні, % (m=5)
1.	Кореневища і корені	13,32±0,53
Примітка. Вірогідність похибки P <0,05		

Таким чином, втрата в масі при висушуванні у кореневищах і коренях дягелю лікарського становить (13,32±0,53) %.

3.7.2 Визначення золи загальної

Вміст загальної золи у відсотках у перерахунку на абсолютно суху сировину дягеля лікарського визначали згідно ДФУ, т. 1, 2-вид.

Результати визначення загальної золи в досліджуваних об'єктах наведено у таблиці 3.8.

Таблиця 3.8 - Визначення загальної золи у сировині дягелю лікарського

№ з/п	Сировина	Вміст, % (m=5)
1.	Кореневища і корені	6,63±0,27
Примітка. Вірогідність похибки P <0,05		

3.7.3 Визначення золи, нерозчинної у 10 % розчині кислоти хлоридної

Вміст золи, нерозчинної у кислоті хлористоводневій у відсотках у перерахунку на абсолютно суху сировину дягелю лікарського визначали згідно ДФУ, т. 1, 2-вид.

Результати визначення золи, нерозчинної в 10 % розчині кислоти хлористоводневої, в досліджуваному об'єкті наведено у таблиці 3.9.

Таблиця 3.9 - Визначення золи, нерозчинної в 10 % розчині кислоти хлоридної, у сировині дягелю лікарського

№ з/п	Сировина	Вміст, % (n=5)
1.	Кореневища і корені	3,05±0,09
Примітка. Вірогідність похибки P < 0,05		

ВИСНОВКИ

1. Проведено фітохімічне вивчення кореневищ і коренів дягелю лікарського. Встановлено наявність поліфенолів, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, кумаринів, а також летких компонентів.

2. Визначено у кореневищах і коренях дягелю лікарського кількісний вміст суми поліфенолів ($2,66 \pm 0,01$ %), суми гідроксикоричних кислот ($4,08 \pm 0,01$ %), суми кумаринів ($3,89 \pm 0,01$ %) та суми флавоноїдів ($0,34 \pm 0,01$ %).

3. Досліджено якісний склад та кількісний вміст летких компонентів кореневищ і коренів дягелю лікарського. В ефірній олії досліджуваних підземних органів ідентифіковано 15 компонентів. Основними компонентами ефірної олії кореневищ і коренів дягелю лікарського є *цис*-пінан (644,98 мкг/г), α -фарнезен (472,36 мкг/г) і α -зингіберен (294,73 мкг/г).

4. Визначено якісний склад і кількісний вміст макро- і мікроелементів у кореневищі і коренях дягелю лікарського. Встановлено наявність 4 – макроелементів (Ca, Na, K, Mg) і 10 – мікроелементів (Si, Mn, Pb, Ni, Zn, Cu, Fe, Mo, Co, Al). Встановлено найбільший вміст серед визначених елементів калію, та кальцію.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид., доп. 1. Х.: Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.
2. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 2-е вид., Т. 3. Х.: Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр», 2014. 732 с.
3. 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. № 22(4). С. 91-95.
4. Дослідження кумаринів дягелю лікарського методом високоефективної рідинної хроматографії / С. М. Марчишин, І. М. Потішний, Л. В. Слободянюк, Е. А. Парашук. *Медична та клінічна хімія*. 2023. № 25 (2). С. 75-79.
5. Дослідження фенольних сполук у сировині дягелю лікарського (*Angelica archangelica* L.) / В. П. Сагадюк, І. С. Гуменюк, С. М. Марчишин, Л. В. Слободянюк. *Медична та клінічна хімія*. 2023. №25(4). С. 80-84.
6. Карпюк У. В., Кисличенко В. С. Аналіз елементного складу вегетативних та генеративних органів кукурудзи звичайної. *Фітотерапія. Часопис*. 2014. № 3. С. 52-58.
7. Марчишин С. М., Гусак Л. В., Бердей Т. С. Дослідження флавоноїдів у траві та кореневих бульбах чистецю Зібольда (*Stachys sieboldii* MIQ.). *Фітотерапія. Часопис*. 2017. № 1. С. 27-30.
8. Парашук Е. А., Марчишин С. М., Слободянюк Л. В. Дослідження похідних кумаринів бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifrage* L.). *Фітотерапія. Часопис*. 2019. №1. С. 66-70.

9. Солодовниченко Н. М., Журавльов М. С., Ковальов В. Н. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати: Посіб. з фармакогнозії з основами біохімії лікар. рослин / Харків: Вид-во НФАУ. Золоті сторінки, 2001. 408 с.
10. Спектрофотометричне дослідження дубильних речовину траві *Achillea millefolium* L. / Г. П. Смойловська, О. О. Малюгіна, О. К. Єренко, Т. В. Хортецька. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2023. №16(2). С. 130-134.
11. Active essential oils and their components in use against neglected diseases and arboviruses / E. C. Luna, I. S. Luna, L. Scotti [et al.]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019. Article ID 6587150.
12. *Angelica archangelica* L. - A phytochemical and pharmacological Review / A. Maurya, S. C. Verma, V. Gupta, M. B. Shankar. *Asian Journal of Research in Chemistry*. 2017. №10 (6). P. 852-856.
13. Antioxidant activity of limonene on normal murine lymphocytes: Relation to H₂O₂ modulation and cell proliferation / D. Roberto, P. Micucci, T. Sebastian [et al.]. *Basic & Clinical Pharmacology and Toxicology*. 2010. №106. P. 38-44.
14. Antitumour activity of *Angelica archangelica* leaf extract / S. Sigurdsson, H. M. Ögmundsdottir, J. Hallgrímsson, S. Guðbjarnason. *In vivo*. 2005. №19. P. 191-194.
15. Antimicrobial effect and mode of action of chlorogenic acid on *Staphylococcus aureus* / G. Li, X. Wang, Y. Xu [et al.]. *European Food Research and Technology*. 2014. №238. С. 589–596.
16. Anti-Schistosoma mansoni effects of essential oils and their components / M. T. Islam, M. Martorell, B. Salehi [et al.]. *Phytotherapy Research*. 2020. №34. P. 1761–1769.
17. A Review of the composition of the essential oils and biological activities of *Angelica* species / K. Sowndhararajan, P. Deepa, M. Kim [et al.]. *Scientia Pharmaceutica*. 2017. №85. P. 33.

18. Biological and Chemical Diversity of *Angelica archangelica* L.—Case Study of Essential Oil and Its Biological Activity / M. Acimovic, M. Rat, L. Pezo [et al.]. *Agronomy*. 2022. №12. P. 1570.
19. Bhat Z. A., Kumar D., Shah M. Y. *Angelica archangelica* Linn. is an angel on earth for the treatment of diseases. *The International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*. 2011. №1. P. 36–50.
20. Botanical sources, chemistry, analysis, and biological activity of furanocoumarins of pharmaceutical interest / R. Bruni, D. Barreca, M. Protti [et al.]. *Molecules*. 2019. № 24(11). P. 2163.
21. Chemical composition and antibacterial activity of *Angelica archangelica* root essential oil / M. G. Aćimovića, S. Đ. Pavlovićb, A. O. Vargac [et al.]. *Natural Product Communications*. 2017. №12(2). P. 205-206.
22. Chizzola R. Essential Oil Composition of Wild Growing *Apiaceae* from Europe and the Mediterranean. *Natural Product Communications*. 2010. №5(9). P. 1477-1492.
23. Combined effect of water loss and wounding stress on gene activation of metabolic pathways associated with phenolic biosynthesis in carrot / A. Becerra-Moreno, M. Redondo-Gil, J. Benavides [et al.]. *Frontiers in Plant Science*. 2015. №6. P. 1–15.
24. Comparative analysis of essential oil containing raw materials of honeyherb (*Lippia dulcis* TREVIR.) under different growing conditions / S. Marchyshyn, L. Slobodianiuk, L. Budniak [et al.]. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2023. №6(46). P. 41-46.
25. Computer-assisted, highperformance liquid chromatography with mass spectrometric detection for the analysis of coumarins in *Peucedanum palustre* and *Angelica archangelica* / M. Eeva, J. P. Rauha, P. Vuorela [et al.]. *Phytochemical analysis*. 2004. №15. P. 167-174.
26. Coumarin: A natural, privileged and versatile scaffold for bioactive compounds / S. A. Stefanachi, F. Leonetti, L. Pisani [et al.]. *Molecules*. 2018. №23. P. 250.

27. Coumarins as potential supportive medication for the treatment of epilepsy / J. Bryda, M. Zagaja, A. Szewczyk [et al.]. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*. 2019. №79. P. 126-132.
28. Czygan F.-C. Engelwurz oder Angelikawurzel - *Angelica archangelica* L. *Phytotherapie*. 1998. №19. P. 342-348.
29. Determination of amino acids of plants from *Angelica* L. genus by HPLC method / L. Budniak, L. Slobodianiuk, S. Marchyshyn, I. Potishnyi. *Pharmacia*. 2022. №69(2). P. 437-446.
30. De Luna S. L., Ramírez-Garza R. E., Saldívar S. O. S. Environmentally friendly methods for flavonoid extraction from plant material: Impact of their operating conditions on yield and antioxidant properties. *The Scientific World Journal*. 2020. 6792069.
31. Efficacy of *Angelica archangelica* essential oil, phenyl ethyl alcohol and α -terpineol against isolated molds from walnut and their antiaflatoxigenic and antioxidant activity / B. Prakash, P. Singh, R. Goni [et al.]. *Journal of Food Science and Technology*. 2015. №52. P. 2220-2228.
32. Effect of *Angelica archangelica* L. extract on growth performance, meat quality and biochemical blood parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.), cultivated in a recirculating system / R. Koshinski, K. Velichkova, I. Sirakov, St. Stoyanova. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2020. №26(1). P. 232–237.
33. Fraternali D., Flamini G., Ricci D. Essential oil composition of *Angelica archangelica* L. (*Apiaceae*) roots and its antifungal activity against plant pathogenic fungi. *Plant Biosyst*. 2014. №150(3). P. 558-563.
34. Ganesan K., Xu B. Polyphenol-Rich Dry Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and their health benefits. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017. №8(11). P. E2331.
35. Genetically Engineered Oleaginous Yeast *Lipomyces starkeyi* for Sesquiterpene α -Zingiberene Production / D. Ziyu, R. Kyle, E. A. Pomraning [et al.]. *ACS Synthetic Biology*. 2021. №10(5). P. 1000-1008.

36. Hedayat K. M., Lapraz J. C. The theory of Endobiogeny: Volume 1: Global systems thinking and biological modeling for clinical medicine. Cambridge, Massachusetts: Academic Press. 2019.
37. Hydroxycinnamic acid antioxidants: An electrochemical overview / J. Teixeira, A. Gaspar, E. M. Garrido [et al.]. *BioMed Research International*. 2013. Article ID 251754.
38. Implication of coumarins towards central nervous system disorders / K. Skalicka-Woźniak, I. E. Orhan, G. A. Cordell [et al.]. *Pharmacological Research*. 2016. №103. P. 188-203.
39. Kaleem M., Ahmad A. Flavonoids as nutraceuticals. In *Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods*. Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2018. P. 137–155.
40. Kaur A., Bhatti R. Understanding the phytochemistry and molecular insights to the pharmacology of *Angelica archangelica* L. (garden angelica) and its bioactive components. *Phytotherapy Research*. 2021. P. 1–19.
41. Kennedy D. O. Polyphenols and the human brain: plant secondary metabolite ecologic roles and endogenous signaling functions drive benefits. *Advances in Nutrition*. 2014. №5(5). P. 515-533.
42. Kelber O., Bauer L., Kubelka W. Phytotherapy in functional gastrointestinal disorders. *Dig Dis*. 2017. №35. P. 36-42.
43. Kimura T., Takamatsu J. Ferulic acid and *Angelica archangelica* extracts in dementia: Effects on cognitive functions and behavioral and psychological symptoms of dementia. In: Martin C. R., Preedy V. R., eds. *Diet and nutrition in dementia and cognitive decline*. 2015. P. 993-1001.
44. Kumar S., Gupta A., Pandey A. K. Calotropis procera root extract has capability to combat free radical mediated damage. *ISRN Pharmacology*. 2013. Article ID 691372.
45. Management of irritable bowel syndrome (IBS) in adults: conventional and complementary/alternative approaches / S. L. Yoon, O. Grundmann, L. Koeppe, L. Farrell. *Alternative Medicine Review*. 2011. №16. P. 134-151.

46. Ma T., Deng Z., Liu T. The past and present of vitamin E. *Synthetic biology*. 2020. №1. P. 174–186.
47. Medicinal properties of *Angelica archangelica* root extract: Cytotoxicity in breast cancer cells and its protective effects against in vivo tumor development / C. R. Oliveira, D. G. Spindola, D. M. Garcia [et al.]. *Journal of Integrative Medicine*. 2019. №17(2). P. 132-140.
48. Metabolic syndrome: Definitions and controversies / E. Kassi, P. Pervanidou, G. Kaltsas, G. Chrousos. *BMC Med*. 2011. №9. P. 48.
49. Miyazawa M., Tamura N. Components of the essential oil from sprouts of *Polygonum hydropiper* L. ('Benitade'). *Flavour and Fragrance Journal*. 2007. №22(3). P. 188–190.
50. Molecular systematics of *Angelica* and allied genera (*Apiaceae*) from the Hengduan Mountains of China based on nrDNA ITS sequences: phylogenetic affinities and biogeographic implications / T. Feng, S. R. Downie, Y. Yu [et al.]. *Journal of Plant Research*. 2009. №122(4). P. 403-414.
51. New insights into the phylogeny of *Angelica* and its Allies (*Apiaceae*) with emphasis on East Asian species, inferred from nrDNA, cpDNA, and morphological evidence / C. Y. Liao, S. R. Downie, Q. Li [et al.]. *Systematic Botany*. 2013. №38(1). P. 266-281.
52. Nivinskiene O., Butkiene R., Mockute D. Chemical composition of seed (fruit) essential oils of *Angelica archangelica* L. growing wild in Lithuania. *Chemija*. 2005. №16. P. 51-54.
53. Oxidative stress and antioxidant defense / E. Birben, U. M. Sahiner, C. Sackesen [et al.]. *World Allergy Organ J*. 2012. №5(1). P. 9-19.
54. Pharmacognostical and phytochemical evaluation of *Angelica archangelica* Linn / D. Kumar, Z. A. Bhat, V. Kumar [et al.]. *The International Journal of Drug Development and Research*. 2011. №3(3). P. 173-188.
55. Pyrano[2,3-e]isoindol-2-ones, new angelicin heteroanalogues / P. Barraja, V. Spanò, D. Patrizia [et al.]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2009. P. 1711–1714.

56. Rautio A. M., W. A. Linkowski, L. Östlund. They followed the power of the plant: historical sami harvest and traditional ecological knowledge (Tek) of *Angelica archangelica* in Northern Fennoscandia. *The Journal of Ethnobiology*. 2016. №36(3). P. 617-636.
57. *Salvia* spp. plants-from farm to food applications and phytopharmacotherapy / M. Sharifi-Rad, B. Ozcelik, G. Altın. *Trends in Food Science & Technology*. 2018. №80. P. 242-263.
58. Sarker S. D., Nahar L. Natural Medicine: The Genus *Angelica*. *Current Medicinal Chemistry*. 2004. № 11(11). P. 1479-1500.
59. Schematic Literature Review: Content of α -Farnesene Compounds as an Anti-Virus: Skema Literatur Review: Kandungan Senyawa α -Farnesene sebagai Anti-Virus. Manganite / A. Habibah, G. Zahira, M. F. Angga, D. A. Rokhim. *Journal of Chemistry and Education*. 2023. №2(1). P. 24–29.
60. Srikrishna D., Godugu C., Dubey P. K. A Review on Pharmacological Properties of Coumarins. Mini-Rev. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2016. №18(2). P. 113-141.
61. Sustainable production of natural phenolics for functional food applications / R. Mark, X. Lyu, J. J. L. Lee [et al.]. *Journal of Functional Foods*. 2019. №57. P. 233–254.
62. The in vitro activity of *Angelica archangelica* L. essential oil on inflammation / D. Fraternali, L. Teodori, A. Rudov [et al.]. *Journal of Medicinal Food*. 2018. №21. P. 1238–1243.
63. Van D., Berrens L. Plants as an etiological factor in phytophotodermatitis. *Dermatologica*. 1964. №129. P. 321-328.
64. Zhang H., Tsao R. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*. 2016. №8. C. 33–42.
65. Zhu J. J., Jiang J.G. Pharmacological and Nutritional Effects of Natural Coumarins and Their Structure–Activity Relationships. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2018. №62(14). P. e1701073.

ДОДАТКИ

Список опублікованих робіт

1. Дослідження фенольних сполук у сировині дягелю лікарського (*Angelica archangelica* L.) / В. П. Сагадюк, І. С. Гуменюк, С. М. Марчишин, Л. В. Слободянюк. *Медична та клінічна хімія*. 2023. №25(4). С. 80-84.
2. Дослідження вмісту гідроксикоричних кислот у дягелі лікарському та айстрі новобельгійській / Л. В. Слободянюк, І. С. Гуменюк, В. П. Сагадюк, Д. В. Демидяк. Матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум 2023» 23-24 листопада 2023 р. Запоріжжя, 2023. С. 127.