

АНОТАЦІЯ

Лісова (Цикало) Т. О. Фармакогностичне дослідження видів роду Рижій (*Camelina Crantz*). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація». – Запорізький державний медичний університет, МОЗ України, Запоріжжя, 2020.

Запорізький державний медичний університет, МОЗ України, Запоріжжя, 2021.

Робота виконана на базі кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету протягом 2017-2020 років.

Дисертаційна робота присвячена комплексному порівняльному фармакогностичному дослідженню трави та насіння рижію посівного (*Camelina sativa L. Crantz*) та рижію дрібноплодою (*Camelina microcarpa Andr.*), отриманню лікарських рослинних субстанцій, розробці методів контролю якості на лікарську рослинну сировину та одержану лікарську субстанцію рослинного походження для створення лікарських засобів з гіпоглікемічною, гіполіпідемічною та антирадикальною активністю.

Для дослідження було обрано два види роду Рижій – рижій посівний та рижій дрібноплодий, які поширені на території України. Досліджували траву та насіння обох видів.

За допомогою якісних реакцій, паперової (ПХ), тонкошарової (ТШХ), високоефективної рідинної (ВЕРХ), газової хроматографії (ГХ), атомно-емісійної спектрографії (АЕС) було встановлено наявність в об'єктах дослідження ряду груп біологічно активних речовин (БАР): фенольних сполук (флавоноїдів, кислот гідроксикоричних, поліфенолів), моносахаридів, аміно-, карбонових та жирних кислот (ЖК), пігментів, макро- та мікроелементів. Встановлено кількісний вміст даних БАР.

Попередньо фенольні сполуки визначали за допомогою якісних реакцій та методом ТШХ. У траві обох видів ідентифіковано рутин та хлорогенову кислоту. У насінні обох видів було ідентифіковано рутин.

Також наявність цих індивідуальних сполук підтвердили методом ВЕРХ і встановили, що вміст рутину у рижію посівного траві склав $(0,35 \pm 0,01) \%$, у насінні – $(0,34 \pm 0,01) \%$; у рижію дрібноплодоного траві – $(0,054 \pm 0,001) \%$, у насінні – $(0,36 \pm 0,01) \%$. Вміст кислоти хлорогенової у рижію посівного траві $(0,036 \pm 0,001) \%$, а у рижію дрібноплодоного траві – $(0,28 \pm 0,01) \%$.

Кількісне визначення суми флавоноїдів проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на рутин. Після статистичної обробки результатів встановили, що у рижію посівного траві міститься $(1,17 \pm 0,08) \%$, у насінні – $(0,81 \pm 0,02) \%$; у рижію дрібноплодоного траві – $(0,97 \pm 0,02) \%$, у насінні – $(0,56 \pm 0,05) \%$.

Кількісне визначення суми кислот гідроксикоричних проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на кислоту хлорогенову. Встановили, що їх вміст склав у рижію посівного траві $(1,47 \pm 0,03) \%$, у насінні цієї рослини – $(0,90 \pm 0,04) \%$; у рижію дрібноплодоного траві – $(0,72 \pm 0,03) \%$, у насінні – $(0,70 \pm 0,02) \%$.

Вміст суми поліфенольних сполук також визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на кислоту галову. Встановили, що у рижію посівного траві даних БАР міститься $(2,11 \pm 0,03) \%$, у насінні – $(1,26 \pm 0,02) \%$; у рижію дрібноплодоного траві – $(1,40 \pm 0,03) \%$, у насінні – $(1,17 \pm 0,03) \%$.

Методом ВЕРХ вивчили якісний склад і кількісний вміст амінокислот в траві та насінні досліджуваних видів. У результаті дослідження амінокислотного складу сировини обох видів ідентифіковано 17 амінокислот, домінантними сполуками були глютамінова і аспарагінова кислоти.

Визначено, що у найбільшій кількості у рижію посівного траві були такі амінокислоти: глютамінова $(1,83 \text{ г}/100 \text{ г})$, аспарагінова $(1,65 \text{ г}/100 \text{ г})$ кислоти, пролін $(1,58 \text{ г}/100 \text{ г})$, лейцин $(0,97 \text{ г}/100 \text{ г})$. У найменшій кількості знайдено

цистеїн (0,09 г/100 г) і метіонін (0,03 г/100 г). У рижію посівного насінні превалюючими амінокислотами були: глутамінова (4,29 г/100 г), аспарагінова (2,02 г/100 г) кислоти, аргінін (1,75 г/100 г), лізин (1,50 г/100 г). У найменшій кількості визначено цистеїн (0,16 г/100 г) і метіонін (0,22 г/100 г).

У рижію дрібноплодоного траві в найбільшій кількості виявлено: кислоти глутамінову (1,53 г/100 г) та аспарагінову (1,01 г/100 г), пролін (0,93 г/100 г), аргінін (0,83 г/100 г). У найменшій кількості знайдено цистеїн (0,05 г/100 г) та ізолейцин (0,11 г/100 г). У рижію дрібноплодоного насінні в найбільшій кількості встановлено: кислоти глутамінову (4,13 г/100 г) та аспарагінову (1,94 г/100 г), гліцин (1,52 г/100 г), аргінін (1,48 г/100 г). У найменшій кількості – цистеїн (0,14 г/100 г), метіонін (0,20 г/100 г).

Найбільший вміст суми амінокислот було визначено у рижію посівного насінні (19,57 г/100 г), а в найменшій кількості у рижію дрібноплодоного траві (8,11 г/100 г).

Методом ТШХ досліджено мономерний склад полісахаридних фракцій (водорозчинних полісахаридів (ВРПС), пектинових речовин (ПР) та геміцелюлоз (ГЦ)), отриманих із сировини видів роду Рижій. У гідролізатах даних фракцій рижію посівного траві та насіння було ідентифіковано D-галактозу, D-глюкозу та L-арабінозу. У рижію дрібноплодоного траві та насінні було встановлено наявність D-галактози, D-глюкози, L-арабінози та D-ксилози.

Також проведено кількісне визначення полісахаридних комплексів спектрофотометричним методом. Встановлено, що у рижію посівного траві міститься ВРПС – (3,64±0,07) %, ПР – (2,99±0,14) %, ГЦ А – (0,53±0,04) %, ГЦ Б – (4,32±0,21) %. У рижію посівного насінні: ВРПС – (1,59±0,24) %, ПР – (0,45±0,03) %, ГЦ А – (0,59±0,07) %, ГЦ Б – (1,21±0,15) %.

Кількісний вміст полісахаридних фракцій у рижію дрібноплодоного траві склав: ВРПС – (2,24±0,36) %, ПР – (2,52±0,06) %, ГЦ А – (1,03±0,19) %, ГЦ Б – (2,33±0,23) %. У рижію дрібноплодоного насінні: ВРПС – (1,12±0,23) %, ПР – (0,57±0,10) %, ГЦ А – (0,34±0,02) %, ГЦ Б – (1,81±0,19) %.

Методом ТШХ в сировині обох видів визначено якісний склад вільних органічних кислот. У рижію посівного траві було визначено наявність щавлевої, яблучної, аскорбінової та бензойної кислот. У рижію дрібноплодоного траві знайдено щавлеву, яблучну та бензойну кислоти. У насінні обох видів встановлено наявність щавлевої та бензойної кислот.

Кількісне визначення суми вільних органічних кислот провели титриметричним методом. Найвищий вміст переважає у рижію посівного траві ($4,08 \pm 0,05$) %, що значно більше, ніж у рижію дрібноплодоного траві ($0,54 \pm 0,01$) %. У насінні обох видів визначено дуже малу кількість органічних кислот ($0,03 \pm 0,001$) % та ($0,01 \pm 0,001$) % відповідно.

Методом ГХ-МС дослідили вміст жирних кислот (ЖК) у сировині досліджуваних представників. Так, у рижію посівного траві вміст ЖК 2,04 %, ідентифіковано 5 ЖК (з яких 2 насичені та 3 ненасичені). Вміст насичених ЖК у рижію посівного траві складає 64,80 %, а ненасичених – 35,20 %. Визначено, що найбільший вміст серед ЖК займають пальмітинова та α -ліноленова кислоти. У рижію посівного насінні вміст ЖК 40,31 % і виявлено 11 ЖК (4 насичених та 7 ненасичених). Вміст насичених ЖК у рижію посівного насінні складає 13,06 %, ненасичених – 86,94 %. Встановлено, що найбільший вміст серед ЖК займають α -ліноленова, ейкозенова та лінолева кислоти.

У рижію дрібноплодоного траві вміст ЖК 3,58 %, ідентифіковано 4 ЖК (2 насичені та 2 ненасичені). Вміст насичених ЖК у рижію дрібноплодоного траві складає 64,02 %, а ненасичених – 35,98 %. Визначено, що найбільший вміст серед ЖК займають пальмітинова та α -ліноленова кислоти. У рижію дрібноплодоного насінні ЖК складають 44,24 % і виявлено 11 ЖК (4 насичених та 7 ненасичені). Вміст насичених ЖК у рижію дрібноплодоного насінні складає 12,53 %, а ненасичених – 87,47 %. Встановлено, що найбільший вміст серед ЖК займають α -ліноленова, ейкозенова та лінолева кислоти. У результаті порівняльного аналізу встановлено, що ідентичними компонентами жирнокислотного складу всіх досліджуваних об'єктів були арахінова, пальмітинова, лінолева та α -ліноленова кислоти.

Отримані експериментальні дані щодо макро- та мікроелементного складу сировини рижію посівного і рижію дрібноплодоного свідчать про наявність у сировині не менше 19 елементів. Порівняльний аналіз елементного складу зразків показав, що обидва види сировини мають однаковий елементний склад, який відрізняється тільки за кількісним вмістом.

Найбільший сумарний вміст елементів визначено у рижію дрібноплодоного траві (5795,11 мг/100 г), найменший – у рижію дрібноплодоного насінні (1173,99 мг/100 г).

Найвищі показники коефіцієнту біологічного накопичення (КБН) були для калію, фосфору та магнію. Високий рівень акумуляції даних елементів виявлений у рижію дрібноплодоного траві і їх КБН складають: К – 15, Р – 2,75 і Mg – 1,07 та у рижію дрібноплодоного насінні: К – 3,36. У сировині рижію посівного найвищий показник КБН був для фосфору у насінні і складав 1,57. У рижію посівного траві рівень акумуляції був значно нижчим на відміну від рижію дрібноплодоного траві і дані показники були у рази менші: К – 0,52, Р – 0,30 і Mg – 0,12. Найнижчі показники КБН були для кремнію, феруму і алюмінію.

Проведено визначення морфологічних ознак траві обох видів роду Рижій. Спільними макроскопічними ознаки є: суцвіття в обох представників китиця, квітки маленькі, світло-жовтого кольору; листя сидяче, чергове, опушене, видовжено-ланцетне зі стрілоподібною основою.

Відмінні макроскопічні ознаки: листок рижію посівного більший за розмірами, має зубчастий край. А край листка рижію дрібноплодоного цільний. Плід – стручечок, відрізняється формою і розміром: у рижію посівного більший і обернено-яйцеподібний, у рижію дрібноплодоного – дещо менший і грушоподібної форми. Насіння також відрізняється розміром та кольором: у рижію посівного більше та жовто-оранжевого кольору, навіть рудого. У рижію дрібноплодоного насіння дрібніше та має темно-коричневе забарвлення.

Спільними мікроскопічними ознаками є: листкова пластинка дорзо-вентрального типу, амфістоматична. Продиховий апарат анізоцитного типу,

зустрічаються багаточисельні прості волоски, одно-, дво- та трикінцеві. Судинно-волокнистий пучок черешка колатеральний. Стебло округлої форми, густоопушене простими волосками, в осьовому циліндрі судинно-волокнисті пучки, тип будови перехідний. В пелюстках судинно-волокнистий пучок представлений спіральними судинами. Що стосовно відмінних мікроскопічних ознак, то можна сказати, що відмінностей майже немає.

Розроблено проекти МКЯ на траву обох видів та проведено дослідження 5 серій сировини на відповідність параметрам стандартизації. Запропоновано контролювати якість трави обох представників за такими параметрами: ідентифікація за морфолого-анатомічними ознаками, наявністю флавоноїдів, кислот гідроксикоричних, втратою у масі при висушуванні, загальною золою, вмістом сторонніх домішок. Кількісний вміст флавоноїдів (не менше 1,00 % для рижію посівного та не менше 0,90 % для рижію дрібноплодоного), кислот гідроксикоричних (не менше 1,30 % для рижію посівного та не менше 0,65 % для рижію дрібноплодоного), поліфенольних сполук (не менше 2,00 % для рижію посівного та не менше 1,30 % для рижію дрібноплодоного).

Для проведення фармакологічних досліджень було вирішено отримати субстанцію, яка містить фенольні сполуки. На основі отриманих результатів зроблено висновок, що трава рижію посівного найбільш перспективна для подальших досліджень. Тому встановлено, що оптимальним екстрагентом для екстракції фенольних сполук із трави рижію посівного є 70 % етанол та співвідношення сировина-екстрагент 1:5. Опрацьовано технологію отримання густого екстракту (ЕРП) з даної сировини.

Для вивчення біологічної активності сировини була отримана олія (ОРП) з рижію посівного насіння вичерпною екстракцією гексаном в апараті Сокслета. Вибір був зроблений на користь даної рослини тому, що у ній менший вміст ерукової кислоти (в межах допустимої норми до 5 %), а також більший вміст α -ліноленової кислоти.

У рижію посівного трави екстракті густому методом ТШХ було ідентифіковано рутин та кислоту хлорогенову. Дані сполуки підтвержені

методом ВЕРХ та встановлено їх вміст: рутин – $(2,04 \pm 0,02)$ %, кислота хлорогенова – $(1,83 \pm 0,01)$ %. Спекрофотометричним методом визначено кількісний вміст суми флавоноїдів, що склав $(5,15 \pm 0,26)$ %, кислот гідроксикоричних – $(4,52 \pm 0,03)$ %, поліфенольних сполук – $(6,05 \pm 0,16)$ %.

Опрацьовано параметри стандартизації рижію посівного трави екстракту густого, досліджено 5 серій його на відповідність цим параметрам та розроблено проєкт МКЯ «Рижію посівного трави екстракт густий». Запропоновано контролювати якість одержаного ЕРП за такими показниками: опис, ідентифікація методом ТШХ за вмістом флавоноїдів, кислот гідроксикоричних, мікробіологічна чистота, вміст важких металів, кількісна стандартизація за вмістом сухого залишку, флавоноїдів (не менше 5,00 %), кислот гідроксикоричних (не менше 4,50 %), поліфенольних сполук (не менше 6,00 %).

Проведено фармакологічні дослідження *in vivo* та визначено гостру токсичність отриманих екстрактів. Досліджувані екстракти ЕРП та ОРП віднесено до V класу токсичності сполук за класифікацією К. К. Сидорова (практично нетоксичні речовини – $LD_{50} \geq 5000$ мг/кг).

Встановлено, що екстракт густий з трави та олія з насіння рижію посівного сорту Славутич в дозі 200 мг/кг виявляють гіпоглікемічну активність та зменшують рівень глюкози при проведенні орального тесту толерантності до глюкози на 30,28 % та 24,71 % відповідно в порівнянні з контрольною групою. Також було відмічено, що ЕРП сприяв поліпшенню ліпідного обміну, порушеного за умов метаболічного синдрому.

Досліджено антирадикальну активність *in vitro* ЕРП при взаємодії з радикалом DPPH, який виявив максимальне відсоткове інгібування $(98,85 \pm 0,22)$ % при концентрації 200 мг/мл.

Ключові слова: рижій посівний, рижій дрібноплодий, фітохімічне вивчення, біологічно активні речовини, екстракт густий, олія, гіпоглікемічна активність, антирадикальна активність.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

1. Дослідження елементного складу рижію посівного (*Camelina sativa* (L.) Crantz) та рижію дрібноплодоного (*Camelina microcarpa* Andr.) / Т. О. Цикало, С. Д. Тржецинський, О. В. Гришина, В. К. Рябчун. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2018. Т. 11, № 3(28). С. 318–321. (Особистий внесок – брала участь у заготівлі сировини, проведенні літературного пошуку, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті).
2. Цикало Т. О., Тржецинський С. Д. Макро- та мікроскопічне вивчення *Camelina sativa* (L.) Crantz. *Фармац. часопис*. 2019. № 1. С. 33–39. (Особистий внесок – брала участь у заготівлі сировини, проведенні літературного пошуку, проведенні дослідження, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті).
3. Цикало Т. О., Тржецинський С. Д. Дослідження фенольних сполук рижію посівного (*Camelina sativa* (L.) Crantz) та рижію дрібноплодоного (*Camelina microcarpa* Andr.). *Фармац. часопис*. 2020. № 4. С. 18–24. (Особистий внесок – брала участь у проведенні літературного пошуку, отриманні екстрактів, проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті).
4. Tsykalo T. O., Trzhetsynskyi S. D. The study of hypoglycemic and hypolipidemic activity of *Camelina sativa* (L.) Crantz extracts in rats under conditions of high-fructose diet. *Česka a slovenska Farmacie*. 2020. Vol. 69, P. 137–142. (Особистий внесок – брала участь у проведенні літературного пошуку, отриманні екстракту, проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті).
5. Гіпоглікемічний рослинний засіб : пат. 144188 Україна : МПК А61К 36/00, А61Р 3/06, А61Р 3/10, А61Р 5/00. Цикало Т. О., Тржецинський С. Д. ; заявник та патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т та автори. №

- u202002233 ; заявл. 06.04.20 ; опубл. 10.09.20, Бюл. № 17. (*Особистий внесок – брала участь у проведенні літературного пошуку, отриманні екстракту, проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, оформленні патенту*).
6. Тржецинський С. Д., Цикало Т. О. Вивчення анатомічної будови листка рижію посівного. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації (до 50-річчя заснування ЗДМУ) : матеріали всеукр. наук.-практ. конф., 30 трав. 2018 р. Запоріжжя : ЗДМУ, 2018. С. 174–175. (Особистий внесок – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез)*.
 7. Цикало Т. О., Тржецинський С. Д. Дослідження кількісного вмісту пігментів в траві рижію посівного (*Camelina sativa (L.) Crantz*). *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 27-28 вер. 2018 р. Тернопіль : ТДМУ, 2018. С. 49–50. (Особистий внесок – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез)*.
 8. Цикало Т. О. Визначення кількісного вмісту вільних органічних кислот в траві рижію посівного. *Матеріали XIII міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених, 15-17 квіт. 2019 р., Тернопіль : Укрмедкнига, 2019. С. 231–232. (Особистий внесок – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез)*.
 9. Цикало Т. О., Тржецинський С. Д. Гіпоглікемічна активність екстрактів рижію посівного. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019 : зб. тез доп. наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів, 13-17 трав. 2019 р., Запоріжжя : ЗДМУ, 2019. С. 157–158. (Особистий внесок – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез)*.

10. Цикало Т. О., Тржецинський С. Д. Макро- та мікроелементний склад трави рижію посівного (*Camelina sativa* (L.) Crantz). *Хімія природних сполук : матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 30-31 травня 2019 р. Тернопіль : ТДМУ, 2019. С. 63–64. (Особистий внесок – брала участь у обробці одержаних результатів та оформленні тез).*
11. Цикало Т. О., Тржецинський С. Д., Рябчун В. К. Мікроскопічний аналіз рижію дрібноплодого. *PLANTA+. Досягнення та перспективи : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. пам'яті докт. хім. наук, проф. Н.П. Максютіної (до 95-річчя від дня народж.), 20-21 лют. 2020 р., К. : ПАЛИВОДА А. В., 2020. С. 271–273. (Особистий внесок – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез).*
12. Цикало Т. О., Тржецинський С. Д., Рябчун В. К. Порівняльний аналіз вмісту гідроксикоричних кислот у представників роду рижій. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 23-24 вер. 2020 р. Тернопіль : ТНМУ, 2020. С. 53–54. (Особистий внесок – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез).*
13. Цикало Т. О., Тржецинський С. Д. Дослідження полісахаридів сировини видів роду рижій. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії : матеріали V міжнар. наук.-практ. інтернет-конф.. 26 листоп. 2020 р. Х. : НфаУ, 2020. С. 492–493. (Особистий внесок – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез).*