Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет
Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ЛІСОВА (ЦИКАЛО) ТЕТЯНА ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК: 615.322:582.683.2]-047.37

ДИСЕРТАЦІЯ

ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВИДІВ РОДУ РИЖІЙ *(CAMELINA CRANTZ)*

22 – Охорона здоров'я
226 – Фармація, промислова фармація

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

_____Т. О. Лісова (Цикало)

Науковий керівник: Тржецинський Сергій Дмитрович, доктор біологічних наук, професор

Запоріжжя – 2021

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, 2021.

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 дрібноплодого (*Camelina microcarpa Andrz.*), 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 хроматографій (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±0,01) %, у насінні – (0,34±0,01) %; у рижію дрібноплодого траві – (0,054±0,001) %, у насінні – (0,36±0,01) %. Вміст кислоти хлорогенової у рижію посівного траві (0,036±0,001) %, а у рижію дрібноплодого траві – (0,28±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±0,08) %, у насінні – (0,81±0,02) %; у рижію дрібноплодого траві – (0,97±0,02) %, у насінні – (0,56±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±0,03) %, у насінні цієї рослини – (0,90±0,04) %; у рижію дрібноплодого траві – (0,72±0,03) %, у насінні – (0,70±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±0,03) %, у насінні – (1,26±0,02) %; у рижію дрібноплодого траві – (1,40±0,03) %, у насінні – (1,17±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 глутамінова і аспарагінова кислоти.

Визначено, що у найбільшій кількості у рижію посівного траві були такі амінокислоти: глутамінова (1,83 г/100 г), аспарагінова (1,65 г/100 г) кислоти, пролін (1,58 г/100 г), лейцин (0,97 г/100 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 дрібноплодого 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 дрібноплодого 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 дрібноплодого 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 трави та насіння було ідентифіковано D-галактозу, D-глюкозу та L-арабінозу. У рижію дрібноплодого 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 дрібноплодого 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 дрібноплодого 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 дрібноплодого 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±0,05) %, що значно більше, ніж у рижію дрібноплодого траві (0,54±0,01) %. У насінні обох видів визначено дуже малу кількість органічних кислот (0,03±0,001) % та (0,01±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 дрібноплодого траві вміст ЖК 3,58 %, ідентифіковано 4 ЖК (2 насичені та 2 ненасичені). Вміст насичених ЖК у рижію дрібноплодого траві складає 64,02 %, а ненасичених – 35,98 %. Визначено, що найбільший вміст серед ЖК займають пальмітинова та α-ліноленова кислоти. У рижію дрібноплодого насінні ЖК складають 44,24 % і виявлено 11 ЖК (4 насичених та 7 ненасичені). Вміст насичених ЖК у рижію дрібноплодого 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 дрібноплодого 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 дрібноплодого траві (5795,11 мг/100 г), найменший – у рижію дрібноплодого насінні (1173,99 мг/100 г).

Найвищі показники коефіцієнту біологічного накопичення (КБН) були для калію, фосфору та маґнію. Високий рівень акумуляції даних елементів виявлений у рижію дрібноплодого траві і їх КБН складають: К – 15, Р – 2,75 і Mg – 1,07 та у рижію дрібноплодого 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 дрібноплодого трави 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 трави 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 дрібноплодого цільний. Плід – стручечок, відрізняється формою і розміром: у рижію посівного більший і обернено-яйцеподібний, у рижію дрібноплодого – дещо менший і грушоподібної форми. Насіння також відрізняється розміром та кольором: у рижію посівного більше та жовто-оранжевого кольору, навіть рудого. У рижію дрібноплодого 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 проєкти 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 дрібноплодого), кислот гідроксикоричних (не менше 1,30 % для рижію посівного та не менше 0,65 % для рижію дрібноплодого), поліфенольних сполук (не менше 2,00 % для рижію посівного та не менше 1,30 % для рижію дрібноплодого).

Для проведення фармакологічних досліджень було вирішено отримати субстанцію, яка містить фенольні сполуки. На основі отриманих результатів зроблено висновок, що трава рижію посівого 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 підтверджені

методом ВЕРХ та встановлено їх вміст: рутин – (2,04±0,02) %, кислота хлорогенова – (1,83±0,01) %. Спекрофотометричним методом визначено кількісний вміст суми флавоноїдів, що склав (5,15±0,26) %, кислот гідроксикоричних – (4,52±0,03) %, поліфенольних сполук – (6,05±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 – $ЛД_{50} \geq 5000$ 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±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.

ABSTRACT

Lisova (Tsykalo) T.O. Pharmacognostic Study of Species of the Genus *Camelina Crantz*. - Qualifying research paper, manuscript copyright.

Thesis for the degree of Doctor of Philosophy (PhD) in specialty 226 "Pharmacy, industrial pharmacy". – Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Healthcare of Ukraine, Zaporizhzhia, 2021.

Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Healthcare of Ukraine, Zaporizhzhia, 2021.

The research was performed at the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany of Zaporizhzhia State Medical University within the period of 2017-2020.

The dissertation work is devoted to the complex comparative pharmacognostic research of herb and seeds of Camelina sativa and Camelina microcarpa, to the design of herbal medicines, to the development of methods of quality control on medicinal plant raw materials and the received medicinal products of plant origin for to create drugs with hypoglycemic, hypolipidemic and antiradical activity.

Two commonly found in Ukraine species of the genus *Camelina (L.) Crantz* were selected for the study – *Camelina sativa (L.) Crantz* variety Slavutych and *Camelina microcarpa Andrz*. The herb and seeds of both representatives were examined.

With the help of qualitative reactions, paper chromatography, thin-layer chromatography, high-performance liquid chromatography, gas chromatography, atomic emission spectrography, the presence of a number of groups of biologically active substances (BAS) in the study objects was established: phenolic compounds (flavonoids, hydroxycinnamic acids, polyphenols), monosaccharides, carboxylic, amino-, and fatty acids, pigments, macro- and microelements. The quantitative content of BAS data has been established.

Previously phenolic compounds were determined by qualitative reactions and TLC. Rutin and chlorogenic acid have been identified in the grass of both species. Rutine was identified in the seeds of both species.

Also, the presence of these individual compounds was confirmed by HPLC and it was found that the content of rutin in the herb of *Camelina sativa* is (0.35±0.01) %, and in the seeds it is (0.34±0.01) %; in the herb of *Camelina microcarpa* – (0.054±0.001) %, and in the seeds – (0.36±0.01) %. The herb of *Camelina sativa* contains (0.036±0.001) % of chlorogenic acid, and in the herb of *Camelina microcarpa* this acid makes (0.28±0.01) %.

The amount of flavonoids was calculated by spectrophotometric method with reference to rutin. After statistical processing of the results, it was found that *Camelina sativa* herb contains (1.17±0.08) %, and its seeds contain (0.81±0.02) %. The herb of *Camelina microcarpa* contains (0.97±0.02) %, and its seeds – (0.56±0.05) %.

The amount of hydroxycinnamic acids was calculated with spectrophotometric method with reference to chlorogenic acid. It was found that their content in the herb of *Camelina sativa* is (1.47±0.03) %, in the seeds of the same plant – (0.90±0.04) %. *Camelina microcarpa* herb contains (0.72±0.03) % of hydroxycinnamic acids, and the seeds – (0.70±0.02) %.

The content of the sum of polyphenolic compounds was also calculated with spectrophotometric method with reference to gallic acid. It was found that in the herb of *Camelina sativa* these BAS content makes (2.11±0.01) %, and in the seeds – (1.26±0.02) %. In the herb of *Camelina microcarpa*, BAS content makes (1.40±0.03) %, and in the seeds – (1.17±0.03) %.

The qualitative composition and quantitative content of amino acids in herb and seeds were studied with HPLC. As a result of the study of the amino acid composition of both species raw materials, 17 amino acids were identified, the dominant compounds were glutamic and aspartic acids.

The following amino acids were found in the largest amount in *Camelina sativa* herb: glutamic (1.83 g/100 g), asparagine (1.65 g/100 g), proline

(1.58 g/100 g), leucine (0.97 g/100 g). Cysteine (0.093 g/100 g) and methionine (0.025 g/100 g) acids were found in the smallest amounts. In *Camelina sativa* seeds, the predominant amino acids were: glutamine (4.29 g/100 g), asparagine (2.02 g/100 g), arginine (1.75 g/100 g), lysine (1.50 g/100 g). Cysteine (0.16 g/100 g) and methionine (0.22 g/100 g) were detected in the smallest amount.

In *Camelina microcarpa* herb, the following amino acids were revealed in the largest amount: glutamic acid (1.53 g/100 g), aspartic acid (1.01 g/100 g), proline (0.93 g/100 g), arginine (0.83 g/100 g). Cysteine (0.051 g/100 g) and isoleucine (0.106 g/100 g) were found in the smallest amounts. In the seeds of *Camelina microcarpa*, the following amino acids were found in the largest amounts: glutamic acid (4.13 g/100 g), aspartic acid (1.94 g/100 g), glycine (1.52 g/100 g), arginine (1.48 g/100 g). Cysteine (0.139 g/100 g) and methionine (0.198 g/100 g) were found in the smallest amount.

The highest content of the amino acids sum was determined in the seeds of *Camelina sativa* (19.58 g/100 g); in the smallest amount, it was found in the herb of *Camelina microcarpa* (8.81 g/100 g).

The monomeric composition of polysaccharide fractions (water-soluble polysaccharides (WSPS), pectin substances (PS) and hemicellulose (HC)) obtained from raw materials of the genus *Camelina* species was investigated with TLC. Galactose, glucose and arabinose were detected in the hydrolysates of these fractions of *Camelina sativa* herb and seeds. The presence of galactose, glucose, arabinose and xylose was found in *Camelina microcarpa* herb and seeds.

Polysaccharide complexes were calculated with spectrophotometric method. It was found that *Camelina sativa* herb contains WSPS – (3.64±0.07) %, PS – (2.99±0.14) %, HC A – (0.53±0.04) %, HC B – (4.32±0.11) %. Seeds of *Camelina sativa* contain: WSPS – (1.59±0.24) %, PS – (0.45±0.03) %, HC A – (0.59±0.07) %, HC B – (1.21±0.15) %.

The quantitative content of polysaccharide fractions in *Camelina microcarpa* herb was: WSPS – (2.24±0.36) %, PS – (2.52±0.06) %, HC A – (1.03±0.19) %, HC

B – (2.33±0.23) %. In *Camelina microcarpa* seeds, this content was: WSPS – (1.12±0.23) %, PS – (0.57±0.10) %, HC A – (0.34±0.02) %, HC B – (1.81±0.19) %.

The qualitative composition of free organic acids in the raw materials of both species was determined by TLC. The presence of oxalic, malic, ascorbic and benzoic acids was determined in *Camelina sativa* herb. Oxalic, malic and benzoic acids were found in *Camelina microcarpa* herb. The presence of oxalic and benzoic acids was registered in the seeds of both species.

Quantitative determination of the amount of free organic acids was performed with titrimetric method. The highest content is predominant in the herb of *Camelina sativa* (4.08±0.05) %, which is much higher than in the herb of *Camelina microcarpa* (0.54±0.01) %. In the seeds of both species, a very small amount of organic acids was revealed: (0.03±0.001) % and (0.01±0.001) %, respectively.

The content of fatty acids (FA) in the raw materials of the studied species was investigated by the GC-MS method. Thus, the content of FA in the *Camelina sativa* herb is 2.04% and 5 FA (of which 2 saturated and 3 unsaturated) have been identified. The content of saturated FA in the herb of *Camelina sativa* is 64.80 %, and unsaturated – 35.20 %. It was determined that palmitic and linolenic acids have the highest content among FA. The content of FA in the *Camelina sativa* seeds is 40,31% and 11 FA (4 saturated and 7 unsaturated) have been identified. The content of saturated FA in *Camelina sativa* seeds is 13.06 %, and unsaturated – 86.94 %. It is established that linolenic, eicosenic and linoleic acids have the highest content among FA.

The content of FA in the *Camelina microcarpa* Andrz. herb is 3.58%, 4 FA (2 saturated and 2 unsaturated) have been identified. The content of saturated FA in the herb of *Camelina microcarpa* is 64.02 %, and unsaturated – 35.98 %. It was determined that palmitic and linolenic acids have the highest content among FA. The content of FA In Camelina microcarpa Andrz. seeds is 44.24% and 11 FA were detected (4 saturated and 7 unsaturated). The content of saturated FA in *Camelina microcarpa* seeds is 12.53 %, and unsaturated – 87.47 %. It was found that linolenic, eicosenic and linoleic acids have the highest content among FA. As a result of

comparative analysis, it was estimated that the identical components of the fatty acid composition of all studied objects were arachic, palmitic, linoleic and linolenic acids.

The obtained experimental data on the macro- and microelement composition of *Camelina sativa* and *Camelina microcarpa* raw materials indicate the presence of at least 19 elements. Comparative analysis of the elemental composition of the samples demonstrated that both types of raw materials have the same elemental composition, which differs only quantitatively.

The highest total content of elements was determined in the herb of *Camelina microcapa* – 5795.11 mg/100 g, and the smallest was found in the seeds – 1173.99 mg/100 g.

Potassium, phosphorus and magnesium showed the highest rates of biological accumulation. A high level of accumulation of these elements was found in the herb (K – 15, P – 2.75 and Mg – 1.07) and in the seeds of *Camelina microcapa* (K – 3.36). In the raw material of *Camelina sativa*, phosphorus showed the highest value of biological accumulation rates – 1.57 in seeds. In *Camelina sativa* herb, the level of accumulation was much lower in contrast to the herb of *Camelina microcapa* and these figures were considerably lower: K – 0.52, P – 0.3 and Mg – 0.12. The lowest rates of biological accumulation values were for silicon, iron and aluminum.

The morphological features of both species of the genus *Camelina Crantz* herb were determined. Common macroscopic features include: leaves are sessile, alternate, pubescent, oblong-lanceolate with an arrow-shaped base. Besides, both plants have distinctive macroscopic features. The leaf of *Camelina sativa* is larger in size and has a serrated edge. The edge of *Camelina microcarpa* leaf is whole. The fruit differs in shape and size: in the *Camelina sativa*, it is larger and inverted-ovate; in *Camelina microcarpa*, it is a little smaller and pear-shaped. The seeds also differ in size and color: in *Camelina sativa*, they are bigger and yellow-orange, even red. In *Camelina microcarpa*, seeds are smaller and dark brown.

Common microscopic features are: dorso-ventral leaf blade, amphistomatic. Respiratory apparatus of the anisocyte type, there are numerous simple hairs, one-, two- and three-ended. The vascular-fibrous bundle of the petiole is collateral. Stem

rounded, densely pubescent with simple hairs, in the axial cylinder vascular-fibrous bundles, the type of structure is transitional. In the petals, the vascular-fibrous bundle is represented by spiral vessels. As for the distinctive microscopic features, we can say that there are almost no differences.

The projects of quality control methods (QCM) for herb of both species has been developed, and research of 5 raw materials series on conformity to parameters of standardization has been carried out. It is proposed to control the quality of herb of both species with the following parameters: identification by morphological and anatomical features, the presence of flavonoids, hydroxycinnamic acids, weight loss during drying, total ash, the content of impurities. Quantitative content of flavonoids (not less than 1.0% for *Camelina sativa* and not less than 0.90 % for *Camelina microcarpa*), hydroxycinnamic acids (not less than 1.30 % for *Camelina sativa* and not less than 0.65 % for *Camelina microcarpa*), polyphenolic compounds (not less than 2.00 % for *Camelina sativa* and not less than 1.30 % for *Camelina microcarpa*).

For pharmacological studies, it was necessary to obtain a substance containing phenolic compounds. Based on the obtained results, it was concluded that *Camelina sativa* herb is the most promising for further research. Therefore, it was found that the optimal extractant for the extraction of phenolic compounds from *Camelina sativa* is 70 % ethanol solution and the ratio of raw material-extractant should be 1: 5. The technology of obtaining a thick extract (ECS) from this raw material has been developed.

Besides, to study the biological activity of the raw material, oil (OCS) was obtained from seeds of *Camelina sativa* with exhaustive extraction with hexane in the Soxclet apparatus. The choice was made in favor of this plant because it has a lower content of erucic acid (within the allowable limit of up to 5 %), as well as a higher content of α-linolenic acid.

Rutin and chlorogenic acid were identified in a thick extract of *Camelina sativa*. These compounds were confirmed by HPLC and their content was established: rutin – (2.04±0.02) %, chlorogenic acid – (1.83±0.01) %. The quantitative content of the sum of flavonoids, which amounted to (5.15±0.26) %,

hydroxycinnamic acids – (4.52±0.03) %, polyphenolic compounds – (6.05±0.16) %, was determined by spectrophotometric method.

The parameters of standardization of *Camelina sativa* herb thick extract were studied; 5 series of it were investigated for compliance with these parameters and the project of QCM "Camelina sativa herb thick extract" was developed. It is proposed to control the quality of the obtained ECS according to the following indicators: description, identification with TLC for the content of flavonoids, hydroxycinnamic acids, microbiological purity, content of heavy metals, quantitative standardization for the content of dry residue, flavonoids (not less than 5.00 %), hydroxycinnamic acids (not less 4.50 %), polyphenolic compounds (not less than 6.00 %).

Pharmacological studies were performed in vivo and the acute toxicity of the obtained extracts was determined. The studied extracts of ECS and OCS are classified as class V toxicity of compounds according to the classification by K.K. Sidorov (practically non-toxic substances – LD50 ≥ 5000 mg / kg).

It was found that a thick extract of herb and oil from the seeds of *Camelina sativa* variety Slavutych at a dose of 200 mg/kg show hypoglycemic activity and reduce glucose levels during OTTG by 30.28 % and 24.71 %, respectively, compared with the control group. It was also noted that ECS helped to improve lipid metabolism, disturbed by the metabolic syndrome.

The antiradical activity of in vitro ECS in interaction with the DPPH radical, which showed the maximum percentage inhibition of (98.85±0.22) % at a concentration of 200 mg/ml, was also investigated.

Key words: *Camelina sativa (L.) Crantz*, *Camelina microcarpa Andrz.*, phytochemical study, biologically active substances, extract, oil, hypoglycemic activity, antiradical activity.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

1. Дослідження елементного складу рижію посівного *(Camelina sativa (L.) Crantz)* та рижію дрібноплодого *(Camelina microcarpa Andrz.)* / 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 дрібноплодого (*Camelina microcarpa Andrz.*). *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 A61K 36/00, A61P 3/06, A61P 3/10, A61P 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).*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ 22
ВСТУП 24
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНИЙ СТАН ДОСЛІДЖЕНЬ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ РИЖІЙ (Огляд літератури) 32
1.1 Ботанічна характеристика видів роду Рижій, їх поширення та культивування 32
1.2 Хімічний склад рослин роду Рижій 42
1.3 Застосування в медичній практиці та інших галузях 45
1.4 Фітотерапія метаболічного синдрому та цукрового діабету 2-го типу 48
ВИСНОВКИ 51
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕНЬ 53
2.1 Об'єкти дослідження 53
2.2 Відомості про прилади, методи та реактиви 54
2.3 Виявлення та визначення кількісного вмісту біологічно активних речовин у сировині видів роду Рижій 56
2.3.1 Флавоноїди 56
2.3.2 Гідроксикоричні кислоти 58
2.3.3 Поліфенольні сполуки 59
2.3.4 Фенольні сполуки методом ВЕРХ 62
2.3.5 Амінокислоти 63
2.3.6 Вуглеводи 65
2.3.7 Органічні кислоти 67
2.3.8 Жирні кислоти 68
2.3.9 Елементний склад 70
2.3.10 Пігменти 71
2.4 Вивчення морфолого-анатомічних ознак рижію посівного та 72

рижію дрібноплодого
2.5 Визначення показників якості та технологічних параметрів сировини 73
2.6 Вивчення фармакологічної активності 74
2.6.1 Гостра токсичність 74
2.6.2 Гіпоглікемічна активність 75
2.6.3 Антирадикальна активность 77
2.7 Статистична обробка результатів досліджень 78
РОЗДІЛ 3. ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО ТА КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН В СИРОВИНІ ВИДІВ РОДУ РИЖІЙ 79
3.1 Флавоноїди 79
3.2 Гідроксикоричні кислоти 80
3.3 Поліфенольні сполуки 82
3.4 Фенольні сполуки методом ВЕРХ 84
3.5 Амінокислоти 87
3.6 Вуглеводи 91
3.7 Вільні аліфатичні органічні кислоти 95
3.8 Жирні кислоти 97
3.9 Елементний склад 103
3.10 Пігменти 106
ВИСНОВКИ 107
РОЗДІЛ 4. ВИВЧЕННЯ МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНОЇ БУДОВИ РИЖІЮ ПОСІВНОГО ТА РИЖІЮ ДРІБНОПЛОДОГО СИРОВИНИ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ЇЇ ЧИСЛОВИХ ПОКАЗНИКІВ І ПАРАМЕТРІВ СТАНДАРТИЗАЦІЇ 110
4.1 Морфолого-анатомічний аналіз рижію посівного 110
4.2 Морфолого-анатомічний аналіз рижію дрібноплодого 115
4.3 Визначення показників якості в сировині обох видів 120

4.4 Визначення технологічних параметрів рижію посівного трави 121
4.5 Стандартизація рижію посівного трави 122
4.6 Стандартизація рижію дрібноплодого трави 127
ВИСНОВКИ 131
РОЗДІЛ 5. ОДЕРЖАННЯ СУБСТАНЦІЙ З СИРОВИНИ РИЖІЮ ПОСІВНОГО ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ 132
5.1 Одержання субстанції з рижію посівного трави та дослідження її хімічного складу 132
5.2 Стандартизація рижію посівного трави екстракту густого 138
5.3 Вивчення гострої токсичності 144
5.4 Первинний фармакологічний скринінг 145
5.5 Дослідження гіпоглікемічної активності 148
5.6 Вивчення антирадикальної активності 153
ВИСНОВКИ 155
РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ 156
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ 171
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 172
ДОДАТКИ 194

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АРА – антирадикальна активність
АЕС – атомно-емісійна спектрографія
БАР – біологічно активні речовини
ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія
ВРПС – водорозчинні полісахариди
ВФД – високофруктозна дієта
ГКК – гідроксикоричні кислоти
ГХ-МС – газова хроматографія з мас-спектрометрією
ГЦ А – геміцелюлоза А
ГЦ Б – геміцелюлоза Б
ДФУ – державна фармакопея України
ЕРП – екстракт густий рижію посівного трави
ЖК – жирні кислоти
ЗХ – загальний холестерин
ІР – інсулінорезистентність
КБН – коефіцієнт біологічного накопичення
ЛРС – лікарська рослинна сировина
МКЯ – методи контролю якості
МС – метаболічний синдром
ОРП – олія рижію посівного
ОТТГ – оральний тест толерантності до глюкози
ППГК – площа під глікемічними кривими
ПР – пектинові речовини
ПХ – паперова хроматографія
ТШХ – тонкошарова хроматографія
РП – рижій посівний
РД – рижій дрібноплодий

ТГ – тригліцериди

ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок

Х.ч. – хімічно чистий

ЦД – цукровий діабет

Ч.д.а. – чистий для аналізу

DPPH – 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразил

IDF – International Diabetes Federation

ВСТУП

Обґрунтування теми дослідження. Метаболічний синдром (МС) є однією з найактуальніших та найскладніших проблем сучасної медицини. Цим терміном позначають комплекс клінічних і метаболічних порушень, асоційованих з підвищеним кардіоваскулярним ризиком та збільшенням рівня загальної сметрності, що зберігається навіть після нормалізації/усунення окремих компонентів. Експерти ВООЗ характерезують МС як пандемію XXI століття. Цей синдром об'єднує низку чинників серцево-судинного ризику, а саме: артеріальну гіпертензію, абдомінальне ожиріння, дисліпідемію та інсулінорезистентність.

МС – одна з найсерйозніших причин виникнення цукрового діабету 2 типу (ЦД), який є найбільш поширеною метаболічною хворобою в світі. Згідно з дослідженнями International Diabetes Federation (IDF), у 2019 році в світі було зареєстровано понад 463 млн хворих на ЦД (20-79 років). Прогнозується зростання їх кількості до 2045 року на 51%, до 700 млн хворих. До того часу, коли винайшли інсулін (1922 рік) та пероральні синтетичні цукрознижуючі препарати (з середини 50-х років минулого століття) саме фітотерапія була єдиним методом лікування хворих.

Фітопрепарати можуть проявляти широкий терапевтичний спектр, впливати на більшість ланок патогенезу захворювання. Рослинні препарати можна тривало застосовувати, вони мають меншу кількість побічних ефектів на організм людини, є можливість використовувати в педіатрії та геріатрії. Ще однією перевагою фітотерапії є доступність і відносна дешевизна порівняно з синтетичними лікарськими препаратами.

При створенні нових фітозасобів вчені звертають особливу увагу на рослини, які здавна використовуються в народній медицині.

Перспективними у цьому плані є широко розповсюджені в Україні види роду Рижій *(Camelina (L.) Crantz)* – рижій посівний *(Camelina sativa (L.) Crantz)*

та рижій дрібноплодий *(Camelina microcarpa Andrz.)* з родини Капустяні (*Brassicaceae)*.

Відомо, що у народній медицині рижію трава та олія мають широкий спектр фармакологічної активності – антибактеріальну, протизапальну, регенеруючу, антидіабетичну, гіполіпідемічну, протипухлинну, і тому застосовуються для лікування та профілактики багатьох захворювань, таких як, серцево-судинні та онкологічні хвороби, цукровий діабет, атеросклероз, захворювання печінки.

У той же час в офіцинальній медицині рижій посівний та рижій дрібноплодий не використовуються, оскільки хімічний склад та біологічна активність сировини даних представників вивчені недостатньо. Тому комплексне фармакогностичне дослідження рослин роду Рижій для створення нових фітозасобів та подальшої стандартизації перспективних видів є актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідних програм кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету: «Експериментальне виявлення речовин синтетичного і природного походження, що мають гіпоглікемічну, гіполіпідемічну, гепатопротекторну, нефропротекторну, депримуючу, антиоксидантну та протизапальну активність» (номер Державної реєстрації 0115U003877), «Пошук та дослідження нових джерел лікарської рослинної сировини, створення субстанцій та лікарських засобів на їх основі» (номер Державної реєстрації 0120U102600). Особиста участь полягає у комплексному фармакогностичному дослідженні двох видів роду *Camelina Crantz* – рижію посівного та рижію дрібноплодого.

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було комплексне порівняльне фармакогностичне дослідження трави та насіння рижію посівного та рижію дрібноплодого роду Рижій (*Camelina Crantz*) та отримання субстанцій

на їх основі, фітохімічне та фармакологічне вивчення для створення лікарських засобів з гіпоглікемічною, шіполіпідемічною та антирадикальною активністю.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- провести інформаційний пошук та проаналізувати сучасні вітчизняні та закордонні першоджерела щодо ботанічних ознак, географічного розповсюдження, хімічного складу, використання в медицині рижію посівного та рижію дрібноплодого;
- виявити біологічно активні речовини та встановити їх кількісний вміст у траві та насінні представників роду Рижій, обґрунтувати найбільш перспективні види сировини для подальших досліджень;
- вивчити анатомічну будову і встановити діагностичні морфолого-анатомічні ознаки трави досліджуваних видів, визначити показники якості та стандартизувати нову ЛРС;
- опрацювати оптимальну схему одержання субстанцій із перспективних видів сировини, провести їх фітохімічне вивчення та стандаритизацію.
- дослідити фармакологічну дію отриманих субстанцій.

Об'єкт дослідження – фармакогностичне дослідження сировини рижію посівного та рижію дрібноплодого, отримання субстанцій, дослідження біологічної активності.

Предмет дослідження – ідентифікація та визначення кількісного вмісту БАР (фенольних сполук, вуглеводів, органічних, аміно- та жирних кислот, мікро- та макроелементів, пігментів); визначення макро- і мікроскопічних діагностичних ознак рослинної сировини; розробка технології отримання екстрактів, встановлення гострої токсичності та фармакологічної дії цих екстрактів; стандартизація рослинної сировини та фармакологічної субстанції, розробка відповідних проєктів МКЯ.

Методи дослідження. В експериментальному дослідженні використано такі методи: хроматографічні (паперова хроматографія, тонкошарова хроматографія, високоефективна рідинна хроматографія; газова хроматографія;

спектрометричні (хромато-мас-спектрометрія, спектрофотометрія; атомно-емісійна спектрографія); хімічні (кольорові реакції, реакції осадження і комплексоутворення, титриметричні методи) – для ідентифікації і визначення кількісного вмісту БАР. Також використовували фізичні методи: визначення втрати в масі при висушуванні, виходу речовин, розчинності. Анатомічну будову сировини вивчали морфолого-анатомічними методами. Дослідження біологічної активності проводили фармакологічними методами *in vivo* та *in vitro*. Математичну обробку отриманих експериментальних даних проводили за допомогою статистичних методів.

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше в Україні проведено комплексне порівняльне фармакогностичне дослідження вітчизняної сировини видів роду Рижій – трави та насіння рижію посівного та рижію дрібноплодого. Методами якісного та хроматографічного аналізу визначено наявність та встановлено кількісний вміст основних груп БАР: фенольної природи (флавоноїдів, кислот гідроксикоричних, поліфенольних сполук), органічних, аміно- та жирних кислот, полісахаридів (зокрема моноцукрів), макро- та мікроелементів, пігментів. Вперше проведено фітохімічне дослідження трави та насіння рижію дрібноплодного.

У результаті проведеного фітохімічного аналізу рижію посівного трави було виявлено 1 кислоту гідроксикоричну (хлорогенову) та 1 флавоноїд (рутин); 5 кислот жирних та їх естерів, 3 моноцукри, 4 кислоти карбонові; 17 амінокислот; 19 макро- та мікроелементів.

У рижію посівного насінні виявлено 1 флавоноїд (рутин); 11 кислот жирних та їх естерів, 3 моноцукри, 2 кислоти карбонові; 17 амінокислот; 19 макро- та мікроелементів.

У рижію дрібноплодого траві виявлено 1 кислоту гідроксикоричну (хлорогенову) та 1 флавоноїд (рутин); 4 кислоти жирні та їх естери, 4 моноцукри, 3 кислоти карбонові; 17 амінокислот; 19 макро- та мікроелементів.

У рижію дрібноплодого насінні виявлено 1 флавоноїд (рутин); 11 кислот жирних та їх естерів, 4 моноцукри, 2 кислоти карбонові; 17 амінокислот; 19 макро- та мікроелементів.

Уточнено морфолого-анатомічні особливості будови стебла, листка, квітки рижію посівного та рижію дрібноплодого, встановлено основні спільні та відмінні діагностичні ознаки досліджуваної сировини.

Визначено технологічні параметри рижію посівного сорту Славутич трави. Встановлено закономірності екстрагування основних груп БАР та виявлено, що оптимальні умови екстрагування БАР: співвідношення сировина – екстрагент 1:5, екстрагентн – 70 % етанол.

Вперше одержано та стандартизовано рижію посівного трави екстракт густий. Досліджено гостру токсичність та гіпоглікемічну активність екстракту густого та олії. Додатково визначено антирадикальну активність екстракту густого.

Наукова новизна одержаних результатів дослідження підтверджена патентом України на корисну модель №144188 від 10.09.2020 р. «Гіпоглікемічний рослинний засіб».

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати дозволяють розширити відомості про хімічний склад обох рослин та біологічну активність рижію посівного. Це створює передумови для введення у номенклатуру офіцинальних рослин.

Розроблено проєкти МКЯ на нову лікарську рослинну сировину «Рижію посівного сорту Славутич трава» та «Рижію дрібноплодого трава».

На одержаний ЕРП також розроблено проєкт МКЯ «Рижію посівного трави екстракт густий», встановлено його гостру токсичність, гіпоглікемічну та антирадикальну активність.

Результати досліджень упроваджено в навчальний процес та науково-дослідну роботу: кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету; кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету ім.

І. Я. Горбачевського МОЗ України; кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету; кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету; кафедри ботаніки Національного фармацевтичного університету; кафедри фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії Київського медичного університету; кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; Державної установи "Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України".

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Дисертантка самостійно провела інформаційно-патентний пошук, проаналізувала доступні джерела літератури щодо розповсюдження, хімічного складу та використання рижію посівного і рижію дрібноплодого в народній та офіцинальній медицині. Автором проведено фітохімічний і хроматографічний аналіз лікарської рослинної сировини та встановлено наявність у ній флавоноїдів, кислот гідроксикоричних, поліфенольних сполук, органічних, аміно- та жирних кислот, вуглеводів, пігментів, макро- та мікроелементів, визначено числові показники, технологічні параметри сировини, проведено статистичну обробку отриманих експериментальних даних, оформлено всі розділи дисертаційної роботи. Дисертанткою взято безпосередню участь в оформленні статей, тез доповідей та патенту України на корисну модель.

Вивчення морфолого-анатомічних особливостей будови надземної частини рижію посівного та рижію дрібноплодого проведено за консультативної допомоги к. фарм. наук, доцента кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Корнієвського Ю. І.

Також автор отримала рижію посівного трави екстракт густий, провела його фітохімічне дослідження.

Фармакологічні дослідження були проведені за консультативної допомоги наукового керівника д-ра біол. наук, професора Тржецинського С. Д.

та к. фарм. наук, старшого викладача кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Носуленко І. С.

Результати експериментальних досліджень самостійно систематизовано, оформлено у вигляді таблиць, рисунків, діаграм, актів впровадження, проєктів МКЯ, фотознімків.

Постановка мети, завдань, обговорення результатів проведено разом з науковим керівником. У наукових працях, опублікованих у співавторстві з Тржецинським С. Д., Рябчуном В. Я, Гришиною О. В., дисертанці належить фактичний матеріал та основний творчий доробок.

Апробація результатів дисертації. Основний зміст дисертаційної роботи був представлений на науково-практичних конференціях: «Актуальні питання сучасної медицини і фармації (до 50-річчя заснування ЗДМУ)», (Запоріжжя, 30 травня 2018 р., 13-17 травня 2019 р.); «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 27-28 вересня 2018 р., 23-24 вересня 2020 р.); XIII міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених (Тернопіль, 15-17 квітня 2019 р.); Хімія природних сполук (Тернопіль, 30-31 травня 2019 р.); Міжнародна науково-практична конференція, присвяченої пам'яті доктора хімічних наук, професора Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження) «PLANTA+. Досягнення та перспективи» (Київ, 20–21 лютого 2020 р.); V Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 26 листопада 2020 р.).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 13 наукових робіт, із них: 4 статті у наукових фахових виданнях (3 статті у наукових фахових виданнях України, 1 статті у виданні країни, що входить до Європейського Союзу (Чехія), 1 патент України на корисну модель та 8 тез доповідей.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 214 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 6 розділів (3 розділи

власних досліджень), загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту 139 сторінок. Робота ілюстрована 27 таблицями, 51 рисунками, 19 формулами. Список використаних джерел містить 212 найменувань, з них 116 кирилицею та 96 латиницею.

РОЗДІЛ 1
СУЧАСНИЙ СТАН ДОСЛІДЖЕНЬ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ РИЖІЙ
(Огляд літератури)

1.1 Ботанічна характеристика видів роду Рижій, їх поширення та культивування

Відділ – Покритонасінні *(Magnoliophyta)*

Клас – Дводольні *(Magnoliopsida)*

Родина – Капустяні *(Brassicaceae)*

Рід – Рижій (*Camelina Crantz)*

Вид – рижій посівний *(Camelina sativa (L.) Crantz),*

рижій дрібноплодий *(Camelina microcarpa Andrz.)*

Brassicaceae (Cruciferae) – економічно важлива родина, яка включає приблизно 380 родів та 4050 видів, що розповсюджені по всій Землі, але найбільша їх різноманітність характерна для країн помірного клімату північної півкулі. В цій родині є рослини, які використовуються як лікарські, декоративні, овочеві, кормові та для отримання технічних і харчових олій [1-3]. Одним із багаточисельних родів даної родини є невеликий рід Рижій, який стає все більш цікавим завдяки постійним дослідженням рижію посівного як високопродуктивної олійної культури для авіаційного біопалива [4, 5].

Рижій (*Camelina Crantz*) – рід, який нараховує 6 видів в Україні та 19 видів в світі. Це однорічні трав'янисті рослини, покриті сидячими ланцетними листками. Стебло висотою 30-100 см, квітки бліді або золотисто-жовті, зібрані у кінцеві суцвіття – китиці. Стручечки багаточисельні, завдовжки 6-12 мм [6, 7].

Деякі види, включаючи *Camelina hispida Boiss.* і *Camelina laxa C. A. Mey*, обмежили своє географічне поширення в межах найвищого видового різноманіття в Туреччині та на Кавказі. Інші види утвердились у всьому світі як космополітичні бур'яни (рижій посівний, рижій дрібноплодий, рижій

румелійський). Дикі види можуть проявляти агрономічно важливі властивості для поліпшення врожаю, тому увага до видів роду Рижію зросла в останній час [8].

Згідно з даними, отриманими вченими Putnam D. N., Budin J. T. [9], можна зробити висновок, що рижій є давньою культурою. Відповідно до археологічних розкопок у Скандинавії найдавніші записи про рижій посівний у Східній та Центральній Європі датуються близько 3000 років до н.е. – в епоху бронзового віку [10-12].

Насіння рижію було знайдено під час розкопки Трипільської культури. Цей дикорослий вид завдяки своїй невибагливості, унікальному біохімічному складу і ряду корисних властивостей привернув увагу селекціонерів [13].

Археологічні записи свідчать про те, що Південно-Східна Європа та південно-західно-азіатські степові регіони, швидше за все, є центром походження рижію [10]. Спостереження з боку переважно карбонізованих насінин та плодів свідчать про те, що еволюція рижію як культури була розпочата, коли дикі види *Camelina microcarpa* та *Camelina alyssum* (синонім: *linicola, macrocarpa, dentata*) були одомашнені в пізньому неоліті у Південно-Східній Європі [9, 13, 14].

З розширенням сільського господарства рижій дуже рано потрапив на землі, які оброблялися, як бур’ян у льоні. Але незабаром було виявлено харчову цінність олії з насіння, і рижій вирощували як монокультуру [15, 16].

Насіння *Camelina alyssum* були важливою частиною раціону людини разом з льоном та з іншими злаками. Вид, який зараз відомий як *Camelina sativa L. Crantz*, ймовірно, виник у доісторичні часи з насаджень *C. microcarpa* та/або *C. alyssum*.

Перші відомості про вирощування рижію стосуються Франції, потім його посіви поширилися в Німеччині, Бельгії, Голландії, Англії. Рижій вважається однією з найдавніших культур у країнах Західної Європи [14].

Рижій, ймовірно, був завезений до Північної Америки як забруднювач насіння льону та інших культур [7, 9]. У Канаді про рижій вперше було повідомлено в Манітобі в 1863 році, де він був навмисно завезений [7].

У російській науковій літературі перше згадування про рижій належить А. Т. Болотову, який коротко виклав основні аспекти його вирощування в Німеччині. У Росії рижій позиціонують як сільськогосподарську культуру з 1880-1886 років [14]. Нині в Росії найпоширенішим видом є рижій дикий або, він ще може називатися, рижій озимий (*Camelina sylvestris*), який в даний час завдяки успішно культивується в Західному і Східному Сибіру, Республіці Башкортостан, Саратовській і Оренбурзькій областях, Республіці Мордовія. У Поволжі щодо врожаю озимий рижій перевершує яровий [17-19].

Рижій – олійна культура. В другій половині XIX століття його стали вводити в культуру майже одночасно в Росії та Франції. В Росії в кінці 40-х на початку 50-х років XX століття рижій займав площі 350-400 тис. га. В наступні роки вирощування рижію в Росії практично припинилося: в 1984-1987 роках площі посіву складали всього 1,2-3,5 тис. га. В теперішній час рижій знову привертає увагу завдяки своїй невибагливості та скоростиглості, високій та стабільній врожайності. За останні 20 років площі, що зайняті рижієм, зросли до 150 тис. га [20].

Сьогодні представники роду Рижій зустрічаються як дикорослі, так і культивовані, майже у всіх регіонах Європи, Азії та Північної Америки (рис. 1.1) [21].

Рисунок 1.1 – Ареал поширення видів роду Рижій в світі

В Україні поширені такі види роду Рижій:

1. Рижій посівний – *Camelina sativa (L.) Crantz*
2. Рижій дрібноплодий – *Camelina microcarpa Andrz.*
3. Рижій румелійський – *Camelina rumelica Velen.*
4. Рижій дикий – *Camelina sylvestris Wallr.*
5. Рижій волосистий – *Camelina pilosa (DC.) N. Zing*
6. Рижій льоновий – *Camelina alyssum (Mill.) Thell.*[6]

Рижій посівний - *C. sativa (L.) Crantz* *(Myagrum sativum L., C. glabrata (DC.) Fritsch, C. caucasica (Sinskaya) Vassilcz., C. glabrata (DC.) Fritsch ex N.W. Zinger)* – давня олійна культура [22].

Являє собою однорічну ярову рослину класу дводольних. Корінь стрижневий, тонкий.

Стебло заввишки 30-90 см, голе або волосисте, у верхній частині розгалуджене.

Листки ланцетоподібної форми, сидячі або з короткими черешками. Листкова пластинка цільнокрая або слабозубчаста. Рослина може бути слабоопушена.

Суцвіття – китиця. Квітки невеликі. Завязь верхня, двогнізда. Чашолистки довжиною близько 3 мм, а віночок прилизно 5 мм завдовжки.

Стручечки оберненояйцеподібні, з округлою верхівкою. Плоди не розкриваються до дозрівання. У кожному стручечку міститься 6-8 насінин.

Насіння дрібне, 1-2 мм завдовжки, червонувато-жовтого кольору. Маса 1000 насінин 1-1,5г [7, 9].

Цвіте у червні-серпні [7, 9]. Поширений як бур’ян на полях і засмічених місцях. Росте майже по всій території України [6]. Рижій достатньо врожайна культура: його потенційна врожайність може складати 20–30 ц/га (рис. 1.2) [23-25].

Рисунок 1.2 – Рижій посівний сорту Славутич

Слово «*camelina*» означає «маленький льон», а слово «*sativus*» означає «посаджений, культивований, не дикий» (Gledhill, 1990). Рижій посівний також називають «золото задоволення», «фальшивий льон» [26].

Він також відомий як золотистий льон, лляний льон, крупнонасіннєвий лляний льон, дикий льон (Великобританія), льон голандський, німецький кунжут або сибірський олійник [9, 27]. Хоча деякі з цих назв натякають на подібність рослини до льону, останні три визначення дають змогу вказувати на географічне походження цього виду.

Звичайна назва «несправжній льон» мабуть виникла в ранній Європі, де цей вид був звичайним бур'яном у посівах льону (*Linum usitatissimum L.*), який вирощувався століттями як олійна і волоконна культура. Рижій збирали разом з льоном для одних і тих же господарських потреб [7].

Залишки насіння рижію були знайдені серед насіння льону на кількох археологічних пам'ятках неоліту та хальколіту [16], що підтверджує його первісну присутність у посівах льонових та зернових культур як бур'яну. Відомо, що рижій посівний вирощували в Римській імперії в районах Північного моря, вздовж Рейну, у Східній Європі та на різних римських місцях, включаючи Англію [7].

Рижій посівний розповсюджений в Європі – культивують в Іспанії (15 тис. га), Німеччині (8 тис. га), Франції (3 тис. га), Швейцарії, Австрії, Угорщині, Швеції, Нідерландах, Бельгії; в Північній Африці, Азії, Канаді, Центральній Америці, [28] (рис.1.3).

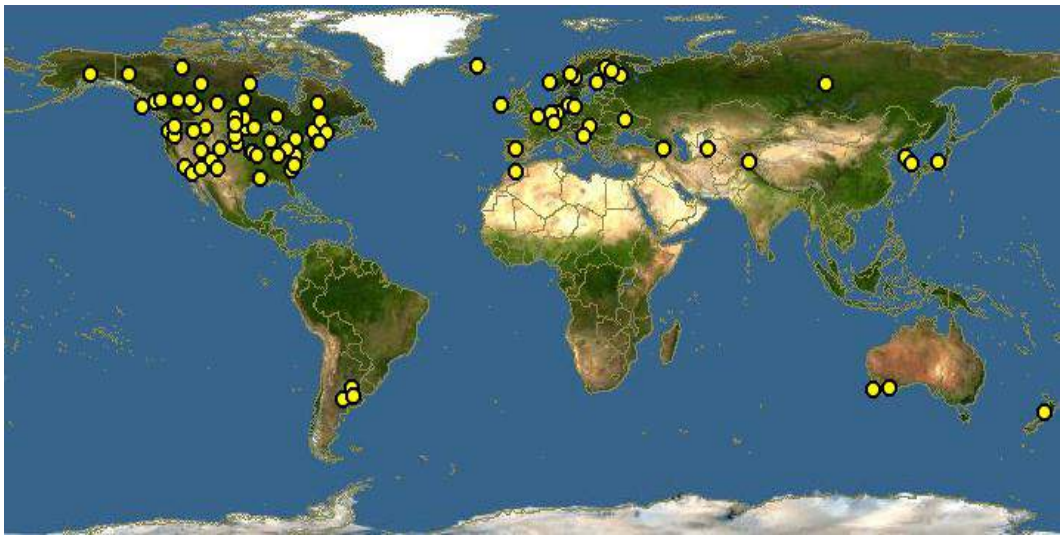


Рисунок 1.3 – Ареал поширення рижію посівного в світі

На території України ця рослина вирощується у всіх ґрунтово-кліматичних зонах [29-31]. У середині 50-х років минулого століття в Україні рижій посівний займав 34 тис. га. Нині в Україні посівна площа рижію близько 5-6 тис. га (3 % всіх олійних рослин), переважно на півночі лівобережного Лісостепу та на незначних площах в Поліссі [13]. Вирощування рижію посівного знизилося ще більше із введенням олійного ріпаку. За словами Кроулі (1999 р.), нижча вартість гідрогенізації ріпакової олії та незнання потенційних масштабних застосувань для олії рижію були головними причинами відсутності інтересу до його вирощування [32].

В Австралії рижій посівний має потенціал як альтернатива олійному насінню ріпаку (*Brassica napus L.*) для помірних, обмежених водою областей обробітку [7, 33].

У середині 20 століття в університеті штату Міннесота було розпочато 30-річну дослідницьку програму, результати якої суттєво додали знань про вирощування та потенційне використання рижію в США [34]. Результати цього

всебічного дослідження показали, що рижій за зрілістю схожий на льон, ріпак, гірчицю, урожайність та вимоги до збиральної техніки та його вирощування супроводжувалося меншими виробничими витратами, ніж будь-яка з інших олійних культур. Випробування, проведені в Канаді, отримали результати, подібні до результатів у США, і призвели до того, що рижій слід серйозно розглянути як потенційну олійну культуру для північних широт [15].

Однак, незважаючи на численні позитивні показники рижію як низькорослої олійної культури, до недавнього часу його не культивували, за винятком невеликих поодиноких насаджень [35].

В останні роки у зв’язку з перенасиченням сівозмін соняшником, а також зі збільшенням попиту на різноманітні за якістю рослинні олії, інтерес до рижію, як додаткового джерела оригінальної олійної сировини, значно зріс. Він також привертає увагу завдяки своїй невибагливості, скоростиглості, стабільній врожайності, великій пластичності і придатності до різних ґрунтово-кліматичних умов [13].

Свій внесок у збільшення різноманітності рижію посівного вносять і селекціонери. До теперішнього часу в Україні зареєстровано чимало сортів рижію посівного, деяка частина яких виведена в Інституті олійних культур НААН в м. Запоріжжя – Зевс, Престиж, Міраж, Славутич. Також існують такі сорти як Гірський, Перемога, Євро 12, Клондайк [36].

На даний момент в Україні створено цінний генофонд рижію, який знаходиться в Національному ботанічному саду ім. М. М. Гришка НАН України [37].

У своїй об'ємній енциклопедії про фауну центральних і південних США Порчер (1863 р.) описав позитивні агрономічні ознаки рижію, вихваляючи його низькі потреби в добривах, високий урожай, ранню зрілість, морозо- та посухостійкість та стійкість до певних комах-шкідників [34].

Рижій посівний добре росте на маргінальних землях (напівзасушливих, малородючих або засолоених ґрунтах), окрім глинистих. Він має короткий вегетаційний період, толерантний до холоду та засухи, що дозволяє йому

ефективно використовувати запаси вологи осінньо-зимових опадів, які випадають у період вегетації. Рижій не вимагає особого застосування добрив, пестицидів і гербіцидів [5, 14].

Через короткий вегетаційний період рижію після збирання його врожаю можна вирощувати інші культури. Також рижій можна використовувати для зайнятого пару і це дає змогу добре підготувати ґрунт та накопичити вологу до посіву озимих культур. Крім того рослина розглядається як альтернатива чистих парів за посушливих умов. Рижій часто використовують як проміжну культуру, а також для пересіву або підсіву у загиблі або зріджені озимі посіви [24, 32].

При сильній забур'яненості посівів рижію втрати врожаю можуть сягати 60 %. Важливою умовою шкодочинності бур'янів є їх конкуренція за мінеральні речовини, вологу, світло. Найважче у вирощуванні рижію ярого - відсутність зареєстрованих гербіцидів проти дводольних бур'янів. Через те, що насіння рижію дуже дрібне, під час обмолоту тяжко отримати чисте насіння. Бур'яни можуть провокувати поширенню хвороб, ускладнювати збір урожаю, погіршувати якість продукції [38].

Основний виробник рижію – Росія, де за даними на 2015 рік площа під рижієм збільшилася з 12 тис. га до 540 тис. га, та виробляється 463 тис. т рижієвої олії на рік. Більшість олії використовується на авіаційний біодизель. Фінляндія – основний виробник біодизеля з російської сировини (авіаційний біокеросин), покупцем якої є – «Luftganza » [13].

Вирощування рижію в Україні має великі перспективи. Технологія виробництва, біологічні особливості, історія вирощування та достатній рівень врожайності в агрокліматичних умовах України вказують на необхідність та перспективність розвитку культури. Завдяки малозатратному екологічнобезпечному вирощуванню й, відповідно, незначному впливу на стан навколишнього середовища, рижій стає улюбленою сільськогосподарською культурою для виробництва органічної продукції [13, 24].

Рижій дрібноплодий – *C. microcarpa Andrz. ex DC.* *(*Синоніми: *C. sativa L. var. microcarpa Schmalh., C. bornmuelleriana Hub.-Mor.&Reese, C. pilosa (DC.) N. W. Zinger; C. sylvestris Wallr.).* Рижій дрібноплодий – озимий однорічник заввишки 30-60 см. Стебло нерозгалуджене, або розгалуджене дистально, помірно опушене. Прикореневі листки після запилення засихають. Стеблові листки ланцетні, видовжені, краї цілі, дуже рідко дрібнозубчасті, кінчики гострі, опушена поверхня. Квітки дрібні з світло-жовтими пелюстками. Плоди грушоподібні з гострим кінчиком. Насіння червонувато-коричневого кольору (рис. 1.4) [6, 7]

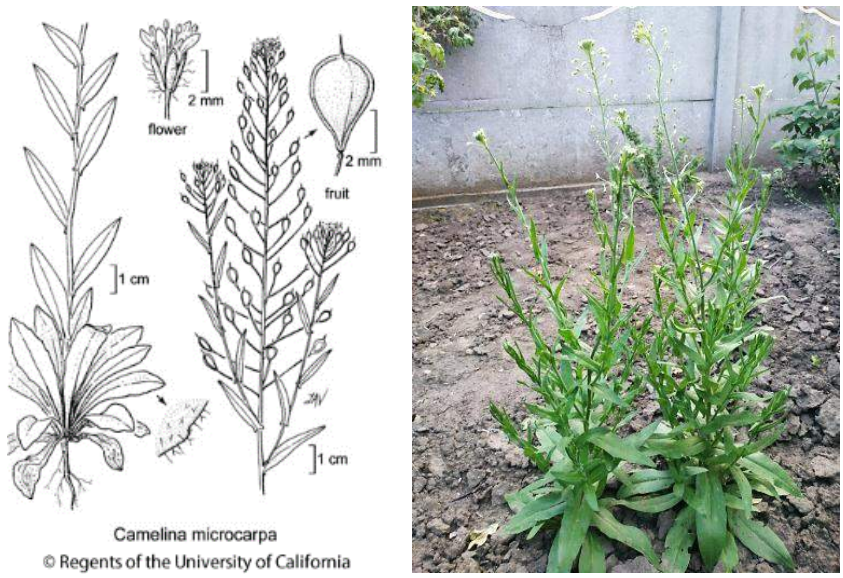


Рисунок 1.4 – Рижій дрібноплодий

Цвіте у травні-липні. Поширений в степах і на схилах як бур’ян. Розповсюджений майже по всій території України, на Поліссі – зрідка [6].

Рижій дрібноплодий також відомий як «мале золото задоволення» [24], дрібнонасінний фальшивий льон [39], західний льон, волохате золото задоволення (Великобританія) [39].

Рижій дрібноплодий походить з Південно-Східної Європи та Південно-Західної Азії. Свого часу його вирощували в Росії для отримання олії [7].

Рижій дрібноплодий – найпоширеніший вид бур’янів із роду рижій як у Словаччині, так і по всій Європі [40]. Рослина поширена у Північній Америці,

з’явився наприкінці XIX століття та згодом з'явився на численних урожайних та необроблених ділянках по всій країні, ймовірно, з вантажем в міру розширення залізниць. Рижій дрібноплодий вперше був зібраний в Манітобі в 1896 році, а згодом з’явилася на численних об’єктах по всій країні, часто біля залізниць та уздовж доріг. Він досяг Британської Колумбії в 20-х роках XX століття, але широко розповсюджувався там лише в 1950-х роках [7].

Рижій дрібноплодий поширений в Північній Африці (Алжир, Лівія, Марокко, Туніс), Азії (Росія, Монголія, Китай, Близький Схід), Європі. Натуралізований в Японії, Північній Америці (Канада, США), Аргентині. Населяє ферми, поля, луки, узбіччя, узлісся, відкриті рідколісся (рис. 1.5) [7, 21].

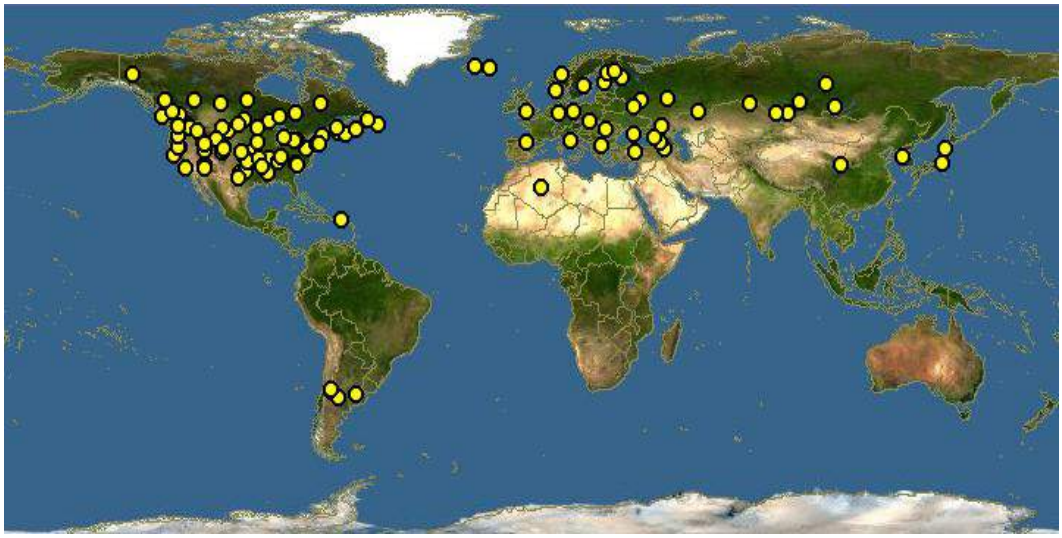


Рисунок 1.5 – Ареал поширення рижію дрібноплодого в світі

Рід Рижій практично не заселяється шкідниками та не уражується хворобами на відміну від інших культур родини Капустяні. Це дозволяє значно знизити рівень витрат на його вирощування в період постійного збільшення цін на енергоносії та пестициди. Особливістю культури є також менша, порівняно з більшістю капустяних культур, забур’яненість посівів, що пояснюється виділенням рослинами рижію ефірної олії, яка пригнічує ріст і розвиток бур’янів від фази стеблоутворення до повної стиглості насіння. Також рижію посівному та рижію дрібноплодому властива висока стійкість стручків проти

розтріскування та обсипання насіння. Це гарантує збирання врожаю прямим комбайнуванням при набагато менших втратах насіння [24, 32].

1.2 Хімічний склад рослин роду Рижій

На сьогоднішній день хімічний склад культивованих та дикорослих рослин роду *Camelina Crantz* досліджений недостатньо.

У наукових джерелах літератури є деяка інформація про дослідження рижію посівного. Відомо, що насіння є джерелом незамінних жирних кислот, особливо омега-3, може містити більше 40 % олії [35, 41]. Близько 90% олії складається з ненасичених жирних кислот [42]. Олія рижію містить велику кількість незамінних поліненасичених кислот, у тому числі: ліноленової – 31%-41%, лінолевої – 16%-20%, олеїнової – 17% і ейкозенової – 15% [43]. Вчені зі Словенії дослідили деякі фізичні властивості олії рижію посівного: показник заломлення 1,4756; щільність 0,92 г/куб. см, виміряна при 25°С, йодне число 105 (г I_2/100 г олії) та значення омилення 187,8 (мг КОН/г олії) [42, 44].

Олія рижію посівного має хороші смакові якості. Вміст ерукової кислоти відносно низький, що відповідає стандарту (2,0-3,0%). Це дозволяє використовувати рижієву олію в харчуванні [33]. Ерукова кислота вважається токсичною для людини, оскільки, крім усього іншого, спричиняє стеатоз внутрішніх органів та пошкоджує міокард, тому її вміст є визначальним для можливості використання олія в харчуванні людини. Він не повинен перевищувати 5% [19, 44, 45]. Рижієва олія має в своєму складі великий вміст вітамінів, є лікувально-профілактичною та дієтичною [11, 14, 35, 46]. На якість олії рижію найбільшим чином впливає високий вміст омега-3-кислоти [38].

Олія також дуже багата природними антиоксидантами, такими як токофероли, що робить цю високостійку олію дуже стійкою до окислення та згіркнення. Вміст вітаміну Е в олії рижію становить приблизно 110 мг/100 г [42]. В олії рижію посівного представлений сильний антиоксидантний комплекс – вітаміни А, С, Е. Вони активно захищають організм від дії вільних

радикалів і допомагають протистояти старінню та хворобам. Завдяки цим властивостям токоферол ще називають «вітамін молодості» [47-52].

Згідно з даними авторів Москва І. С., Рензяева Т. В. [43, 53] серед макроелементів олії рижію посівного найбільшим вмістом представлений маґній.

Відомо, що насіння рижію посівного містить амінокислоти. До складу насіння рижію входять 20 амінокислот, у тому числі 9 незамінних. Із замінних амінокислот максимальну кількість становлять глутамінова – 20,1 % і аспарагінова кислоти – 10,3 %. Досить висока частка у складі білків припадає на пролін (5,9 %), який значною мірою сприяє стійкості рослини проти стресових ситуацій, зокрема, високо- і низькотемпературного стресу. Гліцин і аланін також досягають досить високого рівня вмісту – 5,9 і 5,3 % відповідно [13, 54, 55].

Загальна поживність макухи і шроту насіння рижію посівного прирівнюється до поживності зернових культур, але в них значно вищий вміст протеїну. За амінокислотним складом, біохімічною цінністю білки макухи і шроту відрізняються від зернових злаків більш високим вмістом лізину, метіоніну, цистину, триптофану, кальцію та фосфору, вітамінів групи В [56, 57].

Відповідно до результатів досліджень авторів Karamać M., Gai F., Peiretti P. G. [58], які вивчали вміст фенольних сполук в метанольних екстрактах з насіння рижію посівного, вирощеного та зібраного в Італії, відомо що у насінні рижію посівного міститься рутин, кверцетин, хлорогенова кислота, кверцетин-3-О-глюкозид. Також автори [58] визначили кількісний вміст суми флавоноїдів, гідроксикоричних кислот та поліфенолів у даній сировині.

Дослідники з Італії встановили наявність у насінні рижію посівного фенолів, дубильних речовин, проантоціанів [5].

Відомо, що в листі рижію посівного, вирощеного в Канаді, міститься кверцетин [59].

Попередні дослідження науковців з США показали, що близько 2 % камеді рижію можна вилучити з насіння рижію, яка є гетерогенним матеріалом і складається з полісахаридів (70%) і білка (12,3%) [60, 61].

Рижієва камедь, вилучена з насіння, має чудову в'язкість та модуль пружності порівняно з товарними камедями каррагінану та гідроксиетилцелюлози, які широко використовуються у харчовій та фармацевтичній промисловості як загусники або стабілізатори [60]. Як і інші камеді, рижієва камедь демонструє потенціал використання як емульгатора, стабілізатора, желюючого агента та клею у харчових та непродовольчих виробництвах [62]. На підставі попередніх досліджень, щоб виділити рижієву камедь, її потрібно розчинити водою та відокремити від нерозчинної частини процесом фільтрації або центрифугуванням, потім камедь осаджують органічним розчинником, таким як етанол, з подальшою сублімаційною сушкою [63].

Вищезгадані дослідники із США встановили, що екстраговані полісахариди із насіння рижію посівного складаються з галактози (58,1%), глюкози (25,0%), рамнози (11,6%) та ксилози (5,2%) [60].

Knud E. Bach Knudsen та Betty W. Li з Меріленду штату США встановили, що насіння рижію містить моносахариди, дисахариди, олігосахариди, полісахариди та клітковину. Моносахариди та дисахариди легко засвоюються, а в організмі людини забезпечують енергію, яка легко метаболізується. Вміст дуже малий, наприклад, сахароза становить близько 5,5%, вона вдвічі вища, ніж в лляному насінні (2,8%), але нижча, ніж у ріпаку (6,8%) [64].

Науковці з Данії досліджували вуглеводи у насінні рижію посівного, вирощеного в різних віддалених місцях Німеччини, Великобританії, Ірландії, Фінляндії та Данії. Олігосахариди: рафіноза та стахіоза в рижію дуже низькі (нижче 1%) [65].

Полісахариди: крохмаль, пектин та слиз. Крохмаль – це полісахарид, що складається з ланцюга різної довжини та ланцюгової амілази і амілопектину,

прив’язаного до ланцюгів. Вміст в рижію дуже низький (1%) [65]. Крохмаль не повністю засвоюється в тонкому кишечнику, але він ферментується мікробами в товстій кишці. Пектин – гетерополісахарид, що складається переважно з D-галактуронової кислоти, зв’язаної з фукозою, ксилозою та галактозою. Це ферментоване волокно має дуже низький вміст у рижію, менше 1% [66]. Слиз – це водорозчинна клітковина, яка утворює гель. Розчинні волокна затримують випорожнення шлунка та транзит через товсту кишку. Розчинні волокна перешкоджають засвоєнню цукрів і жирів. Вони поглинають потенційно шкідливі канцерогенні сполуки всередину [67]. Вміст слизу в рижію становить 6,7 %, менше, ніж в лляному насінні (8 %) [65]. Лігнін – це поліфенольна сполука, пов’язана з харчовими волокнами. Він не розчиняється у воді, а в шлунково-кишковій системі збільшує кількість випорожнень та всмоктування води [68]. Вміст лігніну в рижію становить (7,4 %) [65].

У траві рижію дрібноплодого знайдено стероїдні сапоніни, а у насінні – глікозид глюкокамелін. У насінні міститься близько 27%-34% жирної олії [7, 69].

У достовірних літературних даних є інформація, щодо фармакогностичного дослідження рижію дикого. Відомо, що насіння даної рослини містить флавоноїди (нарцисин, (3-О-рутинозид ізорамнетину), ізорамнетин, нікотифлорин (3-О-рутинозид кемпферолу, кемпферол); 13 жирних кислот. Також досліджена діуретична активність із настойки насіння рижію дикого. Проведено дослідження морфолого-анатомічної будови плодів та насіння даної рослини [70, 71].

1.3 Застосування в медичній практиці та інших галузях

У деяких країнах Східної Європи олія рижію використовується в народній медицині для лікування опіків, ран, запалень очей, а також для лікування виразки шлунку та як загальнозміцнювальний засіб [46].

D. Ni Eidhin, J. Burke, B. Lynch, і D. O'Beirne провели фармакологічні дослідження на тваринах, які показали, що олія рижію може знижувати рівень тригліцеридів та холестерину в свинячій сироватці [72]. Потенційні переваги омега-3 з олії рижію для здоров'я оцінюються в дослідженні ризику раку молочної залози для жінок із надмірною вагою та ожирінням у постменопаузі. Через свою поживну дію олія може привернути значну увагу для використання у виробництві харчових продуктів, що зміцнюють здоров'я [44].

Також відомо, що рижієва олія нормалізує артеріальний тиск, відновлює стійкість та еластичність кровоносних судин, запобігає порушенню жирового обміну та виникненню запальних процесів і рекомендована при серцево-судинних захворюваннях та цукровому діабеті [73, 74].

Roberto Russo і Remo Reggiani з Італії провели дослідження *in vitro*, які показали, що олія рижію посівного має антирадикальну активність [75].

Згідно з літературними даними, у 1940 році в Україні рижій ярий вирощувався як олійна культура другорядного значення. Його посіви займали площу 11,4 тис. га. Згодом за рахунок збільшення площ під вирощування соняшнику, ріпаку та інших культур рижій був практично витіснений. Лише невеликі території продовжували засівати рижієм для використання у виробництві мила і косметичних засобів, а також як компонент корму для птахів [14].

Специфічні дерматологічні ефекти поліненасичених жирних кислот роблять олію рижію придатною для косметичних застосувань, таких як косметичні олії, креми для шкіри та лосьйони [76].

Олію рижію римляни використовували для олійних ламп. У Європі рижій продовжували вирощувати як сільськогосподарську культуру для лампового палива та оливи до Другої світової війни, після якої вирощування цієї рослини занепало, її замінили канолою [7].

Рижій посівний широко використовується в хімічній, харчовій і медичній сферах. Харчова цінність рижію обумовлена хімічним складом рослини (ненасичені жирні кислоти, вітаміни, стерини, фосфатиди). Рижієву олію

використовують у хлібопеченні, для виготовлення різноманітних кондитерських виробів, маргарину, консервів. У хімічній галузі застосовують при виготовленні лінолеуму, фарб, лаків, електроарматури, водонепроникних тканин та поліетилену.

Після екстрагування олії з рижію залишається шрот, а при пресуванні – макуха, які є цінним концентрованим кормом для тварин. Макуха містить жири, клітковину, безазотисті екстрактивні речовини та перетравний протеїн [7, 13].

Рижій – медоносна рослина, з 1 га посівної площі можна отримати близько 100 кг меду. Період цвітіння продовжується до 30 днів. В даний час спектр застосування олії рижію для технічних цілей значно розширюється, в першу чергу – для виготовлення біодизеля. Це спричиняє зростання світового попиту та розширення посівних площ рижію у багатьох країнах Європи [24, 32, 43, 50].

Починаючи з 1880-1886 років із насіння рижію одержували олію, що вживалася в їжу, у косметиці. Стебла йшли на виготовлення пакувальних матеріалів тощо [14].

До Великої вітчизняної війни рижій вирощували в європейських країнах переважно як замінник озимого ріпаку (*Brassica napus*), коли він був пошкоджений морозами [65].

Рижій може міститися до 15% у структурі кормів та використовується для годівлі курей з метою виробництва яєць з високим вмістом ненасичених жирних кислот. Також майже 40 тис курей-несучок в штаті Монтана годують рижієвим борошном. Такі яйця збагачені ліноленовою кислотою. Рижієве борошно та олія також є джерелом цієї кислоти в кормах для риб [34].

Макуху рижію ще використовують в якості добрива через значний вміст фосфорної кислоти (близько 4% маси золи) [38, 43, 77].

З соломи рижію виробляють папір низьких сортів [20, 78]. Також солома може використовуватися для виготовлення брикетів як джерело альтернативної енергії [4].

В останні роки попит на вирощування рижію зростає. Перспектива даної рослини як сировини для біопалива, пов’язана з його стійкістю до несприятливих кліматичних та ґрунтових умов [4, 38, 87]. Завдяки вмісту у складі олії рижію ейкозенової і ерукової кислот, які характеризуються високою теплотою горіння, ця рослина є перспективною для переробки на біопальне [19, 38, 45, 79]. Також може використовуватися в якості сировини для отримання авіаційного пального [38].

Як і в Європі, відсутність ринку нафти перешкоджало створенню рижію як культури в Північній Америці. Однак зі збільшенням попиту на рослинні олії та зростання ціни на нафту це може змінитися. Нещодавно рижій завоював інтерес як олійна культура у Європі [27, 45], Північній Америці [9] та Австралії [7], насамперед через високий рівень α-ліноленової кислоти в його олії, сприятливі агрономічні ознаки, його потенціал як джерело біопалива. В даний час його вирощують як сировину для біопалива в кількох північних штатах США [80], таких як Монтана, Північна Дакота та Вашингтон [12].

Рижієм можна пересівати загиблі озимі посіви, використовувати як проміжну та післяжнивну культуру [38]. У 1980-ті роки була відновлена селекція рижію посівного у Сполучених Штатах, Європі, Австралії та Канаді, в першу чергу через винятковий рівень омега-3 жирних кислот [43].

Отже, є об’єктивні причини стверджувати, що рижій посівний, як давня, але забута олійна культура, в найближчу перспективу знайде чільне місце у виробництві олії для біодизеля та високобілкових кормів у вигляді шроту і макухи, гарантією якого є надзвичайна пластичність до агроекологічних умов вирощування та висока рентабельність виробництва.

1.4 Фітотерапія метаболічного синдрому та цукрового діабету 2-го типу

МС є однією з актуальних та найскладніших проблем сучасної медицини, що обумовлено декількома обставинами. По-перше, його розповсюдженістю у

популяції дорослого населення. Епідеміологічні дослідження продемонстрували, що в індустріально розвинених країнах 15 %-35 % осіб віком 40-70 років мають усі основні компоненти МС. По-друге, ризик розвитку серцево-судинних захворювань збільшується в два рази, а ЦД 2 типу – у п’ять разів в порівнянні з особами без ознак МС [81, 82].

Певний час вважалося, що МС – це доля осіб переважно середнього та похилого віку, частіше зустрічається у чоловіків. Дослідження останніх років показують небезпечну тенденцію до «омолодження» цієї проблеми. За даними багатьох авторів частота випадків МС серед підлітків за останні 10 років зросла з 4,2 % до 6,4 %. Надлишок маси тіла зустрічався у 12 %-14 % дитячого населення економічно розвинених країн [83].

Пандемічний характер розповсюдженості МС обумовлений такими факторами: збільшення споживання продуктів із високим вмістом вуглеводів та жирів, а також зменшення фізичного навантаження. На даний момент в Україні чисельність осіб із МС складає близько 20 % від загальної кількості населення та 80 % – серед хворих на ЦД 2 типу [82, 84].

МС є сукупністю взаємопов’язаних метаболічних порушень – інсулінорезистентність (ІР), абдомінальне ожиріння, артеріальна гіпертензія, підвищення рівня тригліцеридів [82, 84].

Частота виявлення ІР при МС досягає 95 %. МС – одна з найсерйозніших причин виникнення ЦД 2 типу, який є найбільш поширеною метаболічною хворобою в світі [81, 85, 86]. Кількість людей, хворих на ЦД, зростає. ЦД 2-го типу все частіше виникає у більш молодих людей та перебігає з різноманітними ускладненнями. За останні три десятиріччя кількість людей, які страждають на ЦД, зросла в чотири рази. ЦД входить в трійку захворювань, що найбільш часто призводять до інвалідизації населення і смерті (атеросклероз, рак, цукровий діабет) [87].

Згідно з дослідженнями IDF, у 2019 році в світі було зареєстровано понад 463 млн хворих на ЦД (20-79 років). Прогнозується зростання їх кількості до 2045 року на 51 %, до 700 млн хворих. 79 % дорослих хворих з діабетом живуть

у країнах з низьким та середнім рівнем доходу. Кожен п’ятий із людей старше 65 років страждає на діабет. Діабет 2 типу – найпоширеніший тип діабету, на який припадає близько 90 % усіх випадків діабету. ЦД спричинив 4,2 млн смертей [86].

Головною ланкою патогенезу ЦД 2 типу та МС вважається первинна ІР. Вона призводить до порушення вуглеводного та ліпідного обмінів. Це підвищує ризик розвитку серцево-судинних захворювань, прогресуванню атеросклерозу та смертності хворих на ЦД 2 типу [88-90]. У зв`язку з цим, основним планом сучасного лікування ЦД 2 типу є попередження розвитку серцево-судинних ускладнень шляхом суворого контролю глікемії, артеріального тиску, а також антигіперліпідемічну та антиагрегантну терапію.

Терапія МС направлена на корекцію метаболічних порушень, які підлягають модифікації, а саме – зменшення надмірної маси тіла та лікування ожиріння, підвищення фізичної активності, корекція порушеної толерантності до глюкози та лікування ЦД 2 типу, дисліпідемії, артеріальної гіпертензії [85].

До відкриття інсуліну і синтетичних цукрознижуючих препаратів фітотерапія була єдиним методом лікування хворих. Тому на сучасному етапі завдяки фітотерапії поповнюється і розширюється арсенал нових лікарських природних препаратів для боротьби з ЦД. З цього куту зору практично завжди раціональним є доповнення фітопрепаратами основного лікування. Перевагою фітозасобів є м’який, багатоплановий і поліорганний позитивний вплив на організм. Безсумнівно, призначення фітопрепаратів не є замінною синтетичних гіпоглікемічних препаратів та інсуліну. Однак використання рослинних засобів на ранніх етапах дає змогу на певний термін відстрочити традиційне лікування. До того ж на подальших етапах захворювання фітопрепарати проявляють суттєву підтримку і покращення результатів класичного способу лікування, забезпечують довготривалу нормалізацію метаболічних порушень. Встановлено, що пацієнти, які активно застосовують додатково фітотерапію, потребують зменшення дози інсуліну та пероральних цукрознижуючих ліків [91].

Враховуючи мультифакторність патогенезу МС, ЦД 2 типу та його ускладнень, доречним та перспективним є використання у комплексній терапії лікарських рослин та препаратів на їх основі з антигіперглікемічними та іншими фармакологічними ефектами. Лікарські рослини добре поєднуються з синтетичними антидіабетичними засобами і проявляють синергічний терапевтичний ефект. Дана комбінація покращує чутливість тканин до інсуліну, активізує відновлювальні процеси у β-клітинах підшлункової залози на тлі відсутності токсичності та ризику негативних побічних ефектів при довгочасному застосуванні [92]. Важливим доповненням до фармакотерапії ЦД 2 типу та проявів МС також є використання лікарських рослин з гастро-, гепато-, кардіо- і нефропротекторними властивостями.

У комплексній терапії даних патологій здавна використовують фітотерапію. Багато фітопрепаратів для терапії МС, ІР і ЦД 2-го типу мають багатовіковий емпіричний досвід народної медицини і на сучасному рівні доповнюється все новими даними науки про механізм їх дії [93].

З давніх часів рослини були зразковим джерелом ліків. Більше 200 видів рослин мають гіпоглікемічні та гіполіпідемічні властивості, які були оцінені за допомогою скринінгових тестів без поглибленого вивчення механізму дії [94, 95].

Препарати рослинного походження містять кілька видів біологічно активних сполук, які діють за допомогою декількох механізмів і в декількох напрямках [96]. Крім гіпоглікемічних властивостей, рослинні препарати виявляють широкий спектр фармакологічної дії (гіполіпідемічну, антиоксидантну, гепатопротекторну, нефропротекторну, покращують мікроциркуляцію тканин) та мають мінімальні побічні ефекти [97].

В Україні перелік офіцинальних антидіабетичних препаратів рослинного походження обмежений (пагони чорниці звичайної, стулки плодів квасолі звичайної, збір «Арфазетин» і збір «Садифіт») [98, 99].

Через те, що МС має епідемічний характер розповсюдженості, актуальним питанням є розробка нових, безпечних лікарських засобів, здатних гальмувати розвитку метаболічних порушень, характерним даному симптомокомплексу. В даних обставинах перспективним об’єктом для дослідження та створення ефективних антидіабетичних фітозасобів є види роду Рижій, які широко використовуються в народній медицині як антидіабетичні засоби.

Аналіз доступних джерел показав, що представники роду Рижій є цінними лікарськами рослинами, які мають достатню сировинну базу, культивуються в різних країнах, в тому числі й в Україні, та здавна використовуються в народній медицині.

Фітохімічні дослідження надземної частини рижію посівного, який розповсюджений в країнах Європи, Америки, мають фрагментарний характер, частково досліджувався якісний склад та кількісний вміст деяких груп БАР у насінні та олії даної рослини, також були проведені деякі дослідження біологічної активності. На сьогодні нами не було знайдено відомостей про ґрунтовні наукові дослідження сировини даних рослин в Україні. Дані про рижій дрібноплодий практично відсутні.

Через різні кліматичні умови та екологічні фактори можуть спостерігатися відмінності у хімічному складі рослинної сировини видів роду Рижій. Дослідження біологічної активності субстанцій, отриманих з трави обох рослин взагалі ще не проводились.

Тому фармакогностичне дослідження рижію посівного та рижію дрібноплодого з метою розробки на основі БАР рослин нових фітозасобів є актуальним і стало основою наших наукових досліджень. Отримані нові лікарські субстанції можуть бути використані для розширення асортименту антидіабетичних засобів.

РОЗДІЛ 2
ОБ'ЄКТИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Об'єкти дослідження

Об'єктами фармакогностичного дослідження були обрані представники роду Рижій: рижій посівний сорту Славутич (*Camelina sativa (L.) Crantz*) та рижій дрібноплодий (*Camelina microcarpa Andrz.*), які поширені на території України. Зразки насіння для вирощування рослин були надані Національним центром генетичних ресурсів рослин України (Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН України).

Для фітохімічних досліджень було використано: траву, насіння рижію посівного та рижію дрібноплодого. Об'єктами морфолого-анатомічного дослідження було обрано листя, стебла, квітки обох видів рослин.

Траву заготовляли на початку цвітіння, а насіння – у фазу плодоношення (червень-серпень) протягом 2018-2019 рр. на території Запорізької області (м. Запоріжжя, с. Терсянка). Сировину сушили у затінку на відкритому повітрі, періодично перегортали.

Для проведення досліджень використовували водні, спиртово-водні витяжки з сировини видів роду Рижій.

Одержання водних витяжок: 10 г сухої подрібненої сировини трави і насіння рижію посівного та рижію дрібноплодого (розміри частинок 2-5 см) заливали 30 мл води очищеної Р та протягом 30 хв екстрагували у колбі зі зворотним холодильником на киплячій водяній бані. Екстрагування повторювали 3 рази. Водні витяжки об'єднували, фільтрували крізь паперовий фільтр та доводили об'єм колби до 100 мл. Одержану водну витяжку використовували для виявлення полісахаридів, аміно- та органічних кислот, дубильних речовин, тому що вода найкраще екстрагує дані БАР.

Одержання спиртово-водних витяжок: 10 г сухої сировини заливали 30 мл 70% етанолу Р і протягом 30 хв тричі екстрагували у колбі зі зворотним

холодильником на киплячій водяній бані. Спиртово-водні витяжки об’єднували, фільтрували крізь паперовий фільтр і доводили об’єм колби до 100 мл. Відомо, що найбільша кількість фенольних сполук екстрагується саме 70 % етанолом. Одержані спиртово-водні витяжки досліджуваної сировини використовували для виявлення флавоноїдів, гідроксикоричних кислот.

Для фармакологічних досліджень використовували екстракційні форми із сировини рижію посівного сорту Славутич – екстракт густий з трави та олію з насіння рижію посівного сорту Славутич.

Екстракт густий готували таким чином: знежирену сировину екстрагували 70 % етанолом Р методом дробної мацерації впродовж 3-х діб. Витяжки об’єднували, відстоювали, фільтрували та упарювали до густої консистенції.

Олію отримували за наступною методикою: подрібнене насіння поміщали в спеціальний патрон із товстого фільтрувального паперу та поміщали у верхню частину екстрактора, заливали гексаном і проводили екстрагування до повного знебарвлення розчиннику.

2.2 Відомості про прилади, методи і реактиви

Під час досліджень використовували сертифіковані хімічні реактиви, фармакопейні та робочі стандартні зразки відповідної якості, атестовані та повірені прилади. Розчинники для приготування хроматографічних систем використовували кваліфікації ч.д.а або х.ч., співвідношення розчинників, позначені цифрами, взяті в об’ємних одиницях.

Наявність основних груп БАР в досліджуваних видах сировини підтверджували за допомогою групових хімічних реакцій.

Для досліджень використовували метод ПХ, висхідної одномірної ТШХ. Для хроматографування використовували хроматографічний папір марки Б, папір марки Filtrak FN-1, пластинки фірми «Sorbfil»-ПТСХ-АФ-А-УФ, «Silufol

UV-254», «Silufol UV-366». Результати значення Rf на хроматограмах є середніми величинами 3-5 вимірювань.

Для хроматографування БАР використовували такі системи розчинників (в дужках співвідношення компонентів в об'ємних одиницях):

1) н-бутанол –кислота ацетатна – вода очищена Р (4:1:2);
2) етилацетат – кислота ацетатна – кислота мурашина – вода очищена Р (100:11:11:27);
3) 15 % кислота ацетатна;
4) ацетонітрил – вода очищена Р (85:15);
5) 95 % етанол Р – концентрований розчин амоніаку Р (16:4,5);

На хроматограмах зони виявляли у порівнянні зі стандартними зразками речовин за їх забарвленням у денному світлі та флуоресценцією в УФ-світлі до та після обробки реактивами:

А. пари амоніаку;

Б. 3 % розчин ферум (ІІІ) хлориду;

В. 1 % розчин ферум (ІІІ) хлориду;

Г. 0,1 % розчин нінгідрину в етанолі Р;

Д. розчин анілін-фталату;

Ж. 0,04 % розчин бромкрезолового зеленого Р в метанолі;

З. 0,1 % розчин 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію у 95 % етанолі Р;

ВЕРХ дослідження проводили на приладі Agilent 1260 Infinity HPLC System (Agilent technologies, USA).

ГХ-МС дослідження було проведено на приладі Agilent Technologies 7890B з мас-спектрометричним детектором 5977B (Agilent technologies, USA).

Спектрофотометричне дослідження кількісного вмісту БАР в сировині обох видів роду Рижій проводили на спектрофотометрі ULAB108UV (Китай) в кюветах з товщиною шару 10 мм.

Якісний склад та кількісний вміст мінеральних елементів вивчали на спектрографі ДФС-8.

Вивчення фармакологічних властивостей одержаного екстракту проводили *in vivo* та *in vitro*.

2.3 Виявлення та визначення кількісного вмісту біологічно активних речовин у сировині видів роду рижій

2.3.1 Флавоноїди

Для проведення хімічних реакцій на флавоноїди використовували водно-спиртові екстракти [100-102].

Для ідентифікації флавоноїдів застосовували загальновідомі якісні реакції:

- ціанідинова реакція: до 2 мл фільтрату додавали 0,5 мл хлористоводневої кислоти і 0,1 г порошку металічного магнію. Суміш нагрівали на киплячому водяному нагрівнику протягом 3 хвилин. Ціанідинова реакція за Бріантом дозволяє з'ясувати агліконову чи глікозидну природу флавоноїдів. До утвореного продукту ціанідинової реакції додавали рівну кількість води очищеної, 1 мл н-октанолу та струшували. Після розділення фаз глікозиди залишаються у воді, а аглікони переходять у органічну фазу;

- до 1 мл фільтрату додавали в одинаковій кількісті 2 % розчину натрію карбонату та 5 % розчину алюмінію хлориду;

- до 1 мл витяжки додавали 5 крапель 5 % розчину ферум (III) хлориду.

Для ідентифікації флавоноїдів у витяжках застосовували метод ПХ та ТШХ у системі розчинників № 1 та № 2 з достовірними зразками рутину та кверцетину. Хроматограми розглядали при денному та УФ-світлі до і після обробки реактивами А, Б та В.

Кількісне визначення вмісту флавоноїдів методом диференційної спектрофотометрії [103, 104]. Вибраний саме такий метод для усунення заважаючого впливу інших компонентів і для запобігання поглинання реактиву.

Розрахунок робили на рутин, тому що максимум поглинання при дослідженні відповідав саме рутину.

1,0 г (точна наважка) подрібненої сировини вміщували в колбу зі шліфом місткістю 150 мл, додавали 30 мл 70 % етанолу Р. Колбу приєднували до зворотного холодильника і нагрівали на водяній бані протягом 30 хв, періодично збовтуючи для змивання частинок сировини зі стінок. Гарячий витяг фільтрували через вату в мірну колбу місткістю 100 мл, так щоб частинки сировини не попадали на фільтр. Вату переносили в колбу для екстрагування і додавали 30 мл 70 % етанолу Р. Екстракцію повторювали ще двічі, фільтруючи витяг в ту ж мірну колбу. Об'єм витяжки доводили 70 % етанолом Р до позначки (розчин А).

У мірну колбу місткістю 25 мл переносили 2 мл розчину А, 2 мл 5 % розчину алюмінію хлориду в 70 % етанолі Р і доводили об'єм розчину 70 % етанолом Р до мітки. Через 40 хв вимірювали оптичну густину розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 408 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм.

Розчин порівняння: 2 мл витягу, 1 крапля 5 % розчину кислоти ацетатної, доведено 70 % етанолом Р до позначки у мірній колбі місткістю 25 мл. Вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин і абсолютно суху сировину у відсотках (Х) обчислювали за формулою (1):

$$X = \frac{A \times 100 \times 12{,}5 \times 100}{A_{1\%}^{1\text{см}} \times m \times (100 - w)}, \qquad (1)$$

де A – оптична густина досліджуваного розчину;

$A_{1\%}^{1\text{см}}$ – питомий показник поглинання рутину з алюмінію хлоридом у 70 % етанолі Р за довжини хвилі 408 нм;

m – маса сировини, г;

w – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

2.3.2. Гідроксикоричні кислоти

Ідентифікацію ГКК проводили за допомогою хроматографічних методів у водно-спиртових екстрактах. Хроматографували методами ПХ і ТШХ у системі розчинників № 1, № 2 та № 3. Як свідки використовували такі кислоти: хлорогенову, кофейну і р-кумарову. Хроматограми висушували та розглядали при денному та УФ-світлі до і після проявлення реактивом А [105].

Кількісне визначення вмісту суми похідних кислот гідроксикоричних в сировині рижію посівного та рижію дрібноплодого визначали згідно методики ДФУ другого видання, том 3 у монографії «Кропиви листя» [106].

1,5 г (точна наважка) здрібненої на порошок сировини поміщали у колбу місткістю 200 мл, додавали 90 мл 50 % етанолу Р, нагрівали зі зворотним холодильником на водяній бані протягом 30 хв, охолоджували до кімнатної температури та фільтрували у мірну колбу місткістю 100 мл крізь тампон із вати. Тампон промивали 10 мл 50 % етанолу Р, промивну рідину фільтрували у ту саму мірну колбу. Доводили об’єм розчину 50 % етанолу Р до позначки і перемішували. Одержаний розчин фільтрували крізь паперовий фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші 15 мл фільтрату (розчин А).

Випробовуваний розчин: 1 мл розчину А поміщали у мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додавали, перемішуючи після кожного додавання, 2 мл 0,5 М розчину кислоти хлористоводневої, 2 свіжоприготованого розчину 10 г натрію нітриту Р і 10 г натрію молібдату Р у 100 мл води Р, 2 мл розчину натрію гідроксиду розведеного Р, доводили об’єм розчину водою Р до позначки та перемішували.

Компенсаційний розчин: 1 мл висхідного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додавали, перемішуючи після кожного додавання, 2 мл 0,5 М розчину кислоти хлористоводневої і 2 мл розчину натрію гідроксиду розведеного Р, доводили об’єм розчину водою Р до позначки та перемішували.

Відразу вимірювали оптичну густину випробовуваного розчину за довжини хвилі 525 нм у кюветі із товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння компенсаційний розчин.

Вміст кислот гідроксикоричних, у перерахунку на кислоту хлорогенову, у відсотках, обчислювали за формулою (2):

$$X = \frac{A \times 1000}{188 \times m}, \quad (2)$$

де A – оптична густина досліджуваного розчину за довжини хвилі 525 нм;

m – наважка сировини, г.

Використовували питомий показник поглинання хлорогенової кислоти, що дорівнює 188.

2.3.3 Поліфенольні сполуки

Виявлення дубильних речовин проводили за допомогою реакцій ідентифікації:

- до 1 мл отриманої витяжки додавали краплями рівну кількість 10 % розчину кислоти хлористоводневої і свіжоприготованого 1 % розчину желатини;

- до 1 мл фільтрату додавали краплями 1 % розчин хініну гідрохлориду;

- до 1 мл фільтрату додавали 4 краплі розчину ферум (III) амоній сульфату.

Також провели специфічні реакції визначення наявності тих, що гідролізують, та конденсованих дубильних речовин:

- до 1 мл досліджуваного екстракту, попередньо підкисленого ацетатною кислотою, додавали декілька крапель свинцю ацетату, утворений осад відфільтровували, а до фільтрату додавали декілька крапель 1 % розчину залізоамонійних галунів та кристалічний натрію ацетат [101, 102].

1) *Кількісне визначення вмісту суми поліфенольних сполук*. 0,5 г (точна наважка) подрібненої сировини вміщували в колбу зі шліфом місткістю 100 мл, приливали 30 мл 70 % етанолу Р та екстрагували 30 хв на водяній бані. Екстракцію повторювали ще двічі. Витяжку фільтрували крізь паперовий фільтр у мірну колбу місткістю 100 мл, доводили 70 % етанолом Р до позначки (розчин А).

1 мл розчину А поміщали в мірну колбу місткістю 25 мл і доводили 96 % етанолом Р до позначки. Оптичну густину вимірювали на спектрофотометрі за довжини хвилі 270 нм. Паралельно вимірювали оптичну густину РСЗ кислоти галової, для чого 0,25 мл розчину РСЗ кислоти галової поміщали в колбу місткістю 25 мл і доводили 96 % етанолом Р до позначки [107].

Приготування розчину РСЗ кислоти галової: 0,0077 г (точна наважка) кислоти галової розчиняли в мірній колбі місткістю 25 мл в 96 % етанолі Р.

Вміст фенольних сполук (Х, %) в перерахунку на кислоту галову і абсолютно суху сировину розраховували за формулою (3):

$$X = \frac{A \times m_0 \times 100 \times 0{,}25 \times 100 \times 100}{m \times A_0 \times 25 \times (100 - w)}, \quad (3)$$

де A – оптична густина випробовуваного розчину;

A_0 – оптична густина РСЗ кислоти галової;

m_0 – маса РСЗ кислоти галової, г;

m – маса наважки сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

2) Також визначення проводили відповідно до вимог ДФУ другого видання (2.8.14). Дослідження кількісного вмісту поліфенолів в сировині рижію посівного та рижію дрібноплодого проводили методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій та видимій областях (ДФУ другого видання, 2.2.25) [106].

1,000 г подрібненої на порошок сировини поміщали в круглодонну колбу місткістю 250 мл, додавали 150 мл води Р. Нагрівали протягом 30 хв на водяній бані, охолоджували під проточною водою та кількісно переносили в мірну колбу місткістю 250,0 мл. Круглодонну колбу обполіскували водою Р, промивні води переносили в мірну колбу і доводили об'єм розчину водою до 250,0 мл. Давали осаду осісти, рідину фільтрували крізь фільтрувальний папір та відкидали перші 50 мл фільтрату.

Випробуваний розчин. 5,00 мл одержаного розчину доводили водою до об'єму 25,00 мл. Суміш 2,00 мл одержаного розчину, 1,00 мл фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву і 10 мл води доводили розчином натрій карбонату до об'єму 25,00 мл. Через 30 хв вимірювали оптичну густину розчину за довжини хвилі 760 нм, використовуючи як компенсаційний розчин воду.

Розичн порівняння. Безпосередньо перед випробовуванням 0,05 г пірогалолу розчиняли у воді і доводили об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл. 5,00 мл одержаного розчину доводили водою Р до об'єму 100,0 мл.

Суміш 2,00 мл одержаного розчину, 1,00 мл фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву і 10 мл води доводили розчином натрій карбонату до об'єму 25,00 мл. Через 30 хв вимірювали оптичну густину розчину за довжини хвилі 760 нм, використовуючи як компенсаційний розчин воду.

Вміст полі фенолів (%) в перерахунку на пірогалол обчислювали за формулою (4):

$$X = \frac{62{,}5 \times A_1 \times m_2}{A_3 \times m_1}, \qquad (4)$$

де A_1 – оптична густина випробовуваного розчину зразка рослинної сировини;

A_3 – оптична густина розчину стандартного зразка пірогалолу;

m_1 – наважка рослинної сировини, г;

m_2 – наважка стандартного зразка пірогалолу, г.

Для більш детального виявлення речовин фенольної природи та встановлення кількісного вмісту було використано метод ВЕРХ.

2.3.4 Визначення окремих сполук фенольної природи методом ВЕРХ

Визначення окремих сполук фенольної природи методом ВЕРХ в рослинній сировині рижію посівного та рижію дрібноплодого здійснювали відповідно до методики ДФУ 2.0.1, яка наведена в загальній статті «Рідинна хроматографія» [108].

Для ВЕРХ використовували водно-спиртові екстракти, які одержували за наступною методикою: 1,000 г здрібненої сировини поміщали в конічну колбу місткістю 100,0 мл, яку приєднували до зворотнього холодильника, додавали 25 мл 50 % етанолу Р і витримували на киплячій водяній бані протягом 30 хв. Після цього одержаний екстракт охолоджували до кімнатної температури і фільтрували в мірну колбу місткістю 25,00 мл. Об’єм екстракту доводили до мітки 50 % етанолом Р.

Ідентифікацію та кількісне визначення одержаних екстрактів та розчинів стандартних зразків проводили за допомогою рідинного хроматографа Agilent 1260 Infinity HPLC System, обладнаному дегазатором, бінарним насосом, автосамплером, термостатом колонки, діодно-матричним детектором OpenLAB CDS Software.

Умови хроматографування: об’єм інжекції – 5 мкл; швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв; температура термостату – 35° С; довжина хвилі діодно-матричного детектора 330 нм; колонка Zorbax SB-C18; 30 мм х 4,6 мм; 1,8 мкм. Бінарний градієнт – елюент А: 0,1 % розчин трифтороцтової кислоти у воді, елюент Б: 0,1 % розчин трифтороцтової кислоти в ацетонітрилі. Режим хроматографування представлений в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1 – Режим хроматографування фенольних сполук

Час, хв	Елюент А, %	Елюент Б, %
0-5	95	5
5-35	95→75	5→25
35-40	75	25
40-45	75→70	25→30
45-50	70→20	30→80

Ідентифікацію та кількісний аналіз фенольних сполук проводили з використанням достовірних зразків (рутину, кверцетину, хлорогенової, кофеїної і п-кумарової кислот).

Кількісний вміст компонентів (Х) (мкг/г) визначали за формулою (5):

$$X = \frac{C \times V}{m}, \quad (5)$$

де C – концентрація сполуки, визначена хроматографічно, мкг/мл;

V – об’єм екстракту, мл;

m – маса сировини з якої проводили екстракцію, г.

2.3.5 Амінокислоти

Для ідентифікації вільних амінокислот застосовували нінгідринову реакцію, яку проводили з водними або водно-спиртовими екстрактами з сировини. 2 мл досліджуваної витяжки змішували із 2 краплями 0,1 % свіжоприготованого розчину нінгідрину. Суміш обережно нагрівали, охолоджували і через деякий час спостерігали зміну забарвлення [101].

Аналіз амінокислот також проводили за допомогою висхідної хроматографії на папері. Водні витяжки досліджуваної сировини

хроматографували в системах розчинників № 1 на папері марки «Filtrak FN-1». Зразками для порівняння служили розчини амінокислот у 0,1 н розчині хлористоводневої кислоти. Проявлення амінокислот здійснювали за допомогою реактиву Г. Хроматограми підігрівали у сушильній шафі протягом декількох хвилин за температури 80-100 °С [101].

Також визначення амінокислот у досліджуваних об'єктах проводили методом ВЕРХ-МС на хроматографі Agilent 1260 Infinity HPLC System (Agilent technologies, USA), обладнаному дегазатором, бінарним насосом, автосамплером, термостатом колонки, діодно-матричним детектором OpenLAB CDS Software, одноквадрупольним LC/MS 6120 з джерелом іонів електроспрей.

Умови проведення ВЕРХ-МС дослідження: об`єм інжекції – 10 мкл, швидкість потоку елюенту – 0,4 мл/хв, температура термостату колонки 40 °С, колонка RX-SIL, 1.8 мкм, 4,6 х 50 мм. Режим розділення градієнтний із постійною швидкістю потоку 1,5 мл/хв. Бінарний градієнт: 1) Градієнт А: H_2O (0,1 % HCOOH); 2) градієнт В: CH_3CN (0,1 % HCOOH). Режим хроматографування представлений в таблиці 2.2.

Таблиця 2.2 – Режим хроматографування амінокислот

Час, хв	Елюент А, %	Елюент Б, %
0	10	90
20	90	10
25	90	10

Пробопідготовка: наважку препарату 0,100 г поміщали у віалу, додавали 2 мл водного розчину 6М кислоти хлористоводневої та поміщали в термостат за температури 110 °С. Гідроліз проводили протягом 24 год.

0,5 мл відцентрифугованого екстракту/гідролізату упарювали на роторному випаровувачі, тричі промиваючи водою очищеною Р для видалення кислоти хлористоводневої. Ресуспендували в 0,5 мл води очищеної Р та

фільтрували крізь мембранні фільтри із регенерованої целюлози з порами 0,2 мкм [109].

Ідентифікацію амінокислот проводили шляхом порівняння часу утримання з сумішшю достовірних зразків амінокислот та мас-спектрометричною детекцією.

Кількісний вміст амінокислоти розраховували за площею її хроматографічного піку, у мкг/мг і обчислювали за формулою (6):

$$X = \frac{C \times V_{\text{розч}}}{m_{\text{преп}}}, \quad (6)$$

де C – концентрація за даними хроматографічної системи, мкг/мг;

$V_{розч.}$ – об'єм розчинника для екстракції, мл;

$M_{преп.}$ – наважка сировини, мг.

2.3.6 Вуглеводи

Для виявлення ВРПС до 10 мл водної витяжки додавали 30 мл 96 % етанолу Р [110].

Для виявлення ПР до 1 мл водної витяжки додавали 0,25 мл 0,5 % розчину карбазолу Р і 5 мл кислоти сульфатної Р, перемішували і кип'ятили на водяній бані протягом 10 хв [110].

Вільні цукри виявляли додаючи до 1 мл водної витяжки 1 мл свіжовиготовленного мідно-тартратного реактиву. Нагрівали на водяній бані. Спостерігали за зміною забарвлення [110].

Визначення кількісного вмісту ВРПС, ПР та ГЦ з антронсірчаним реактивом. Цей метод поєднує схему розділення вуглеводів по Бейлі і модифікованого спектрофотометричного методу Дрейвуда [111].

Для визначення ВРПС біля 2 г (точна наважка) подрібненої сировини екстрагували 50 мл води очищеної Р на киплячій водяній бані протягом 1 год. Після охолодження витяг фільтрували в мірну колбу місткістю 100 мл.

Екстракцію повторювали за тих же умов ще раз. Об'єм об'єднаного фільтрату доводили водою очищеною до мітки (розчин А).

Для екстракції ПР залишок сировини обробляли сумішшю рівних частин 0,5 % розчину кислоти щавлевої та 0,7 % розчину амонію оксалату за тих же умов (розчин Б).

Сумарний вміст геміцелюлоз екстрагували 5 % розчином калію гідроксиду за тих же умов (розчин В).

По 1 мл розчинів А, Б і В переносили у центрифужну пробірку, приливали 4 мл 95 % етанолу Р, перемішували і нагрівали на киплячій водяній бані протягом 10 хв. Після охолодження вміст пробірки центрифугували протягом 10 хв зі швидкістю 3000 об/хв. Надосадову рідину зливали, а осад продували в пробірці гарячим повітрям до видалення слідів етанолу. До осаду приливали 4 мл 0,2 % розчину антрону в кислоті сульфатній концентрованій, нагрівали на киплячій водяній бані протягом 10 хв. Вміст пробірки після охолодження переносили в мірну колбу місткістю 25 мл і доводили до мітки 95 % етанолом Р.

Для визначення вмісту ГЦ групи А до 1 мл розчину В приливали 2 мл 5 % кислоти сульфатної, перемішували і нагрівали на киплячій водяній бані протягом 5 хв і далі за загальною схемою. Кількісне визначення ГЦ Б проводили по різниці значень загального вмісту ГЦ і ГЦ А.

Оптичну густину отриманих розчинів вимірювали на спектрофотометрі ULAB 108UV в кюветі з товщиною шару 10 мм за довжини хвиль 414 нм (ВРПС) та 430 нм (ПР і ГЦ). Як компенсаційний розчин використовували 4 мл антронсульфатного реактиву, витриманого за тих же умов. Розрахунок вмісту полісахаридних фракцій проводили в перерахунку на домінуючий моносахариди, визначений ТШХ після гідролізу. Тому вміст ВРПС обчислювали в перерахунку на арабінозу, ПР і ГЦ – на галактозу, використовуючи відомі значення питомих показників поглинання названих моносахаридів [111].

Вміст окремих фракцій полісахаридів, у перерахунку на відповідні моносахариди, X (%), визначали за формулою (7):

$$\mathrm{X} = \frac{\mathrm{A} \times 50 \times 25 \times 100}{\mathrm{A}_{1\%}^{1\text{см}} \times 1 \times \mathrm{m} \times (100 - \mathrm{w})}, \quad (7)$$

де *A* – оптична густина досліджуваного розчину;

$A_{1\%}^{1\text{см}}$ – питомий показник поглинання розчину стандарту, зокрема для галактози він дорівнює 224, для арабінози – 67;

m – маса наважки сировини, г;

w – втрата в масі при висушуванні, %.

Дослідження моносахаридного складу методом ТШХ з попереднім гідролізом. Для визначення мономерного вмісту ВРПС, ПР і ГЦ проводили кислотний гідроліз фракцій. Для цього, наважку полісахаридних фракцій розчиняли у 2 мл води очищеної Р і гідролізували 2 мл 20 % розчину кислоти сульфатної при нагріванні на водяній бані зі зворотним холодильником протягом 5 год. Нейтралізували гідролізати до нейтральної реакції за універсальним індикатором барію карбонатом. Одержані розчини фільтрували, потім фільтрати випарювали до 0,5 мл та наносили на пластину «Sorbfil» для хроматографування в системі № 4. Поряд наносили достовірні зразки моноцукрів. Після висушування хроматограми обробляли реактивом Д та нагрівали протягом 10 хв у сушильній шафі за температури 100-105 °С. Моносахариди проявлялися у вигляді червоно-бурих та коричневих плям [112].

2.3.7 Органічні кислоти

Визначення якісного складу вільних органічних кислот проводили в водних витяжках методом ТШХ з використанням хроматографічних пластинок «Sorbfil»-ПТСХ-А-УФ. Для хроматографування використовували попередньо одержані екстракти ЛРС та достовірні зразки органічних кислот: оксалатна,

винна, лимонна, бурштинова, яблучна, бензойна, саліцилова. Дослідження здійснювали у системі розчинників № 5 [113, 114]. Хроматограми після хроматографування добре висушували й обробляли реактивами Ж і З, нагрівали у сушильній шафі та спостерігали проявлення речовин у вигляді жовтих плям на синьому фоні та рожевих плям на синьому фоні.

Визначення кількісного вмісту суми вільних органічних кислот. 5 г (точна наважка) подрібненої сировини вміщували у колбу місткістю 250 мл, заливали 200 мл води Р і витримували протягом 2 год на киплячій водяній бані, охолоджували, кількісно переносили у мірну колбу місткістю 250 мл, доводили об’єм водою Р до позначки і перемішували (розчин А).

10 мл розчину А вміщували у колбу місткістю 500 мл, додавали 200-300 мл свіжопрокип’яченої води Р, 1 мл 1 % етанольного розчину фенолфталеїну, 2 мл 0,1 % розчину метиленового синього і титрували 0,1М розчином натрію гідроксиду до появи в піні світло-фіолетового-червоного забарвлення.

Вміст суми вільних аліфатичних органічних кислот, у перерахунку на кислоту яблучну і абсолютно суху сировину, у відсотках, обчислювали за формулою (8):

$$X = \frac{V \times 0{,}00067 \times 250 \times 100 \times 100}{m \times 10 \times (100 - w)}, \quad (8)$$

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

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

m – маса наважки випробовуваної сировини, г;

w – втрата в масі при висушуванні сировини, % [115]

2.3.8 Жирні кислоти

З метою одержання метилових естерів жирних кислот рослинну сировину подрібнювали до порошкоподібного стану в скляній ступці. Наважку сировини

500 мг поміщали в скляну віалу та додавали реакційну суміш із метанолу:толуолу:сульфатної кислоти (44:20:2) 3,3 мл на пробу та розчин внутрішнього стандарту в гексані 1,7 мл. Досліджувану пробу витримували за температури 80 °С впродовж 2 годин, охолоджували до кімнатної температури, центрифугували 10 хв при 5000 об/хв. Відбирали 0,5 мл верхньої гексанової фази, яка містить метилові ефіри жирних кислот.

Вивчення вмісту жирнокислотного складу проводили хромато-мас-спектрометричним методом [116] на газовому хроматографі Agilent Technologies 7890B з мас-спектрометричним детектором 5977B. Умови хроматографування: капілярна колонка DB-5ms з довжиною 30 м × 250 мкм × 0,25 мкм, газ-носій – гелій, швидкість газу-носія 1,0 мл/хв, об'єм проби – 0,5 мкл, поділ потоку – 1:5, температура блоку введення проб – 250 °С. температура нагрівача введення проби – 250 °С; температура термостату програмувалася від 50 до 320 °С зі швидкістю 4 град/хв. Тип іонізації: електронний удар при енергії електронів 70 еВ. Діапазон масових чисел, що був сканований: 30-700 m/z. Ідентифікацію компонентного складу проводили шляхом порівняння з бібліотекою мас-спектрів у поєднанні з програмою NIST14. Відсотковий вміст жирних кислот розраховували від їх загальної суми. Як внутрішній стандарт використовували розчин кислоти деканової.

Маса жирних кислот в мг (X) на 1 кг сировини розраховували за формулою 9:

$$X = \frac{S_x \times m_{\text{вн.ст}} \times 1000}{S_{\text{вн.ст.}} \times m}, \quad (9)$$

де S_x – площа піку жироної кислоти;

$m_{\text{вн.ст.}}$ – маса внутрішнього стандарту на пробу, мг;

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

m – наважка сировини, мг.

2.3.9 Елементний склад

Дослідження макро- та мікроелементів сировини визначали на базі Інституту монокристалів НАН України на атомно-емісійному спектрофотометрі ДФС-8. Дугу змінного струму отримували за допомогою генератора ІБС-28 [117].

Атомно-емісійний спектрографічний метод заснований на випарюванні зразків із кратерів графітових електродів і збудженні спектру в дузі змінного струму та реєстрації отриманих спектрів на фотопластинки ПФС-02.

Основою для градуювальник зразків (ГЗ) є суміш оксидів і солей металів, що відповідає складу різнотрав'я. Серію градуювальних зразків з добавками досліджуваних елементів $1 \cdot 10^{-2}$ – $1 \cdot 10^{-5}$ мас. % готували шляхом ретельного перемішування основи градуювальних зразків і оксидів або солей досліджуваних елементів. Основою для ГЗ служила суміш оксидів і солей металів такого складу: SiO_2 – 36 %, $CaCO_3$, K_2SO_4 – по 40 %; Na_2SO_4, KH_2PO_4 – по 30 %, KCl – 14 %; MgO – 10 %.

Взяті наважки і фторопластові кулі поміщають під фторопластовий стакан з кришкою. Компоненти основи зміщували на кульовому млині зі швидкістю обертання барабана 80 об/хв протягом 6 год. Отриману суміш прожарювали в кварцових тиглях у муфельній печі за температури 500º С протягом 5 год, потім розтирали у ступці з фторопласту протягом 4 год у присутності спирту і 2 год після випаровування спирту.

Аналізовані зразки готували таким чином: наважку сировини масою не менше 3 г поміщали у кварцовий тигель, змочували 10 мл 5 % розчину кислоти сульфатної висушували в сушильній шафі за температури 100º С, а потім на електричній плитці до видалення парів сульфатної кислоти. Тигель поміщали в холодну муфельну піч, температуру печі поступово доводили до 500º С і прожарювали протягом 1 год, після чого охолоджували і зважували.

У роботі використовували спектральні графітові електроди «ОСЧ» 7-3 діаметром 6 мм і довжиною 50-60 мм. Градуювальні зразки і підготовлені

проби поміщали в кратери нижніх (глибиною 4 мм, діаметром 4-5 мм) і верхніх (глибиною 5 мм, діаметром 1,9 мм) електродів.

Встановлювали такі умови вимірювання: сила струму дуги змінного струму – 16А, фаза підпалу 60 ºС, частота підпалювальних імпульсів – 100 розрядів на сек, аналітичний проміжок – 2 мм, ширина щілини – 0,012 мм, експозиція – 60 с. Спектри фотографували в області 240-350 нм.

2.3.10 Пігменти

Визначення кількісного вмісту. Точну наважку 0,25 г подрібненої сировини вміщували в ступку, додавали невелику кількість кальцію або магнію карбонату для нейтралізації кислот клітинного соку і запобігання феофітинізації. Додавали 5 мл охолодженого 96 % етанолу Р та ретельно розтирали протягом 5 хв. Одержаний екстракт обережно зливали по скляній паличці на скляний фільтр № 3 (накритий кружечком фільтрувального паперу), а фільтрат збирали у скляну пробірку, підвішену на нитці в колбі Бунзена, приєднаної до водоструминого насосу. Екстракцію пігментів з сировини новими порціями екстрагенту проводили до тих пір, доки розчинник не перестав забарвлюватися. Екстракт з пробірки кількісно переносили в мірну колбу на 25,0 мл та доводили до необхідного об’єму чистим 96 % етанолом Р. Одержаний екстракт містив суму зелених та жовтих пігментів [100].

Реєстрацію абсорбції проводили спектрофотометричним методом у порівнянні з 96 % етанолом Р. Максимум поглинання досліджуваних пігментів у даному розчиннику для хлорофілу а знаходиться за довжини хвилі λ=665 нм, для хлорофілу b – при λ=649 нм. Каротиноїди визначали за довжини хвилі 441 нм [100].

Концентрацію пігментів у екстракті розраховували за формулою Lichtenthaler. Концентрацію хлорофілів а (C_a, мг/л) і b (C_b, мг/л) розраховували за формулами (10, 11, 12):

$$C_a = 13{,}70 \cdot A_{665} - 5{,}76 \cdot A_{649}, \quad (10)$$

$$C_b = 25{,}80 \cdot A_{649} - 7{,}60 \cdot A_{665}, \quad (11)$$

де A_{665} – оптична густина розчину за довжини хвилі 665 нм;

A_{649} – оптична густина розчину за довжини хвилі 649 нм.

Концентрацію каротиноїдів ($C_{кар}$, мг/л) розраховували за формулою:

$$C_{кар} = 4{,}695 \cdot A_{441} - 0{,}268 \cdot (C_a + C_b), \quad (12)$$

де A_{441} – оптична густина розчину за довжини хвилі 441 нм;

$C_a + C_b$ – сумарний вміст хлорофілів a та b в розчині, мг/л.

Після встановлення концентрації пігментів в екстракті проводили розрахунок їх кількісного вмісту (X, мг/г) в сировині за формулою (13):

$$X = \frac{V \times C \times 100}{m \times 1000 \times (100 - w)}, \quad (13)$$

де V – об’єм спиртового екстракту, мл;

C – концентрація пігменту в спиртовому розчині, мг/л;

m – наважка сировини, г;

w – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

2.4 Вивчення морфолого-анатомічних ознак

Макроскопічне вивчення проводили неозброєним оком при денному освітленні та з використанням лінзи (×10). Проводили вимірювання рослини та окремих її частин 10 разів. Також використовували органолептичні методи (визначення кольору, запаху, смаку). Дослідження ознак морфологічної будови сировини проводили згідно з методикою ДФУ 2.8.23 «Мікроскопічне дослідження лікарської рослинної сировини» [118]. Дослідження проводили цільної сировини представників роду Рижій (препарати з поверхні та поперечні зрізи). Для експериментальних досліджень використовували фіксовану в суміші

етанол 96 %-гліцерин-вода (1:1:1) сировину обох видів. Мікропрепарати для вивчення анатомічної будови готували за загальноприйнятими методиками. Свіжоприготовлений мікропрепарат розглядали в світловому мікроскопі Granum N-180 M при збільшенні в 10 – 100 разів. Фотографували зрізи за допомогою відеонасадки DC 1300.

2.5 Визначення числових показників доброякісності та технологічних параметрів сировини

Відбір проб рослинної сировини для аналізу, визначення сторонніх домішок, визначення втрати в масі при висушуванні, зольності проводили за фармакопейними методиками (ДФУ 2.0.1 – 2.8.20, 2.8.2, 2.2.32, 2.8.1, 2.4.16) [108].

Екстрактивні речовини

Визначення проводиться відповідно до методики ДФУ 2.0.3, яка наведена у монографії «Полин гіркий^{N}».

1,0 г здрібненої на порошок сировини поміщають у конічну колбу, додають 50 мл води Р, 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 водою Р до початкової маси, перемішують і фільтрують. 25 мл одержаного фільтрату упарюють на водяній бані насухо та сушать за температури (100-105) °С до постійної маси.

Вміст екстрактивних речовин (Х, %), у перерахунку на суху сировину, обчислюють за формулою (14):

$$X = \frac{m \times 200 \times 100}{m_1 \times (100 - W)}, \qquad (14),$$

де m – маса сухого залишку, г;

m_1 – маса наважки сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Також провели визначення об’ємної густини сировини, насипної густини, питомої маси, пористості, порізності, вільного об’єму шару, коефіцієнту поглинання екстрагенту [108].

2.6 Дослідження фармакологічної активності

Фармакологічні дослідження одержаних лікарських рослинних засобів з сировини рижію посівного проводили у віварії Запорізького державного медичного університету під керівництвом д. біол. н., професора Тржецинського С. Д. Всі маніпуляції проводилися згідно з прийнятими біоетичними нормами з дотриманням відповідних правил ІСН, Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№2447-IV від 04.08.2017 р.) і правилами Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою метою від 18 березня 1986 року.

Для досліджень використовували екстракт густий (ЕРП) з трави та олію (ОРП) з насіння рижію посівного сорту Славутич.

Комісією з питань біоетики ЗДМУ не виявлено порушень морально-етичних норм під час проведення науково-дослідної роботи (протокол № 2 від 10.02.2021 р.).

Дослідження проводились на білих 3-х місячних статевозрілих щурах лінії Вістар масою 180-200 г. Тварини отримані з розплідника ДУ «Інституту фармакології і токсикології АМН України». Піддослідні утримувалися в стандартних умовах віварію з доступом до води *ad libitum*.

2.6.1. Гостра токсичність

Гостру токсичність вивчали відповідно до методичних рекомендацій Державного фармацевтичного центру МОЗ України. Для визначення

показників гострої токсичності ЕРП та ОРП використовували групи щурів по 6 тварин однієї статі. У контрольній групі також було 6 тварин однієї статі. Тварини розподіляли по групах випадковим чином. Для вивчення гострої токсичності були обрані дози ЕРП і ОРП 5000 мг/кг, які вводили одноразово внутрішньошлунково щурам. Після введення досліджуваних експериментальних субстанцій за тваринами спостерігали 14 днів та оцінювали їх загальний стан, летальність, динаміку маси тіла [119].

2.6.2 Гіпоглікемічна активность

Можливу гіпоглікемічну активність екстрактів оцінювали за змінами концентрації глюкози крові тварин після одноразового введення ЕРП і ОРП. Скринінг проводили на тваринах, які протягом тижня отримували стандартний корм з достатньою кількістю вуглеводів і перед дослідженням голодували протягом ночі. ЕРП і ОРП вводили перорально за допомогою зонду в дозі 100 мг/кг, 200 мг/кг і 300 мг/кг [119]. Окрім груп тварин, які отримували ЕРП і ОРП, була сформована контрольна група, яка отримувала плацебо – воду очищену в еквівалентній кількості, та референтна група. Як референтний препарат використовували метформін (Метформін-TEVA, 500 мг).

Визначення глюкози в крові проводили глюкозооксидазним методом з використанням експрес-аналізатора глюкометра «One Touch Select» (Johnson&Johnson, USA). Проби крові для аналізу брали із хвостової вени до та через 2, 4, 6, та 8 год після введення.

Для більш глибокого вивчення гіпоглікемічних та гіполіпідемічних властивостей ЕРП і ОРП були проведені дослідження на експериментальній моделі метаболічного синдрому.

Дизайн експерименту на моделі метаболічного синдрому. Відомо, що споживання високих доз фруктози в харчових продуктах може бути одним із факторів, що призводить до розвитку ожиріння, яке тісно пов’язане з ризиком розвитку МС та ЦД 2 типу. Крім того, деякі дослідження показали, що хронічне

харчування з високим вмістом фруктози призводить до ІР, толерантності до глюкози у відносно короткий час у нормальних щурів. Таким чином, щури, які отримували воду з високим вмістом фруктози могли служити моделлю для дослідження резистентності до інсуліну [120-123].

Тому МС, а саме ІР, індукували надмірними дозами фруктози. Для проведення дослідження експериментальні щури були розподілені на 5 груп (n=6). Група І (інтактні щури) та групи ІІ, ІІІ, ІV, V, які отримували протягом 8 тижнів 20 %-й розчин фруктози («Голден-Фарм», Україна) замість води. Останні 2 тижні тварини додатково, через шлунковий зонд перорально отримували наступні засоби: групи І та ІІ (контрольна група) – воду очищену, група ІІІ – ЕРП (200 мг/кг), група ІV – ОРП (200 мг/кг), V – метформін (150 мг/кг) [122].

Характеристику глюкозного гомеостазу оцінювали за допомогою орального тесту толерантності до глюкози (ОТТГ) і короткого інсулінового тесту.

Оральний тест толерантності до глюкози. ОТТГ проводили після голодування тварин протягом ночі. Глюкозу в дозі 3 г/кг маси тіла вводили за допомогою зонду перорально. Визначення глюкози в крові проводили глюкозооксидазним методом. Проби крові для аналізу брали із хвостової вени до та через 30, 60 та 120 хв після введення глюкози.

Глікемічну реакцію під час проведення ОТТГ додатково оцінювали за величиною інтегрального показника площі під глікемічними кривими (ППГК) (ммоль/л·хв), яку обчислювали за допомогою комп’ютерної програми «Mathlab»[119].

Короткий інсуліновий тест. Даний тест дозволяє оцінити чутливість як печінки, так і периферичних тканин до дії інсуліну, враховуючи гальмування продукції глюкози в печінці та підвищення утилізації глюкози м’язами внаслідок ефекту гормону (Ново Нордіск, Данія). Чутливість до інсуліну визначають, розраховуючи відсоток зниження базальної глікемії через 30 хв

після внутрішньочеревинного введення гормону тваринам натщесерце (1 Од/кг маси тіла) [119].

Маса тіла. Вимірювання маси тіла гризунів проводили щотижнево протягом всього терміну експерименту.

Ліпідний профіль. У межах дослідження вивчали біохімічні показники сироватки крові – вміст загального холестерину (ЗХ) та тригліцеридів (ТГ). Рівень ЗХ та ТГ в сироватці крові щурів визначали ферментативним методом за допомогою стандартного набору реактивів фірми «Felicit Diagnostic» (Україна) [124].

2.6.3 Антирадикальна активність

Для дослідження антирадикальних властивостей екстракту застосовували метод, що базується на взаємодії із стабільним хромоген-радикалом 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилом (DPPH) (Sigma-Aldrich, США) [125].

До 0,4 мл досліджуваного екстракту додавали 3,6 мл розчину DPPH в метанолі з концентрацією 4,0 мг/100 мл. Після перемішування пробу витримували протягом 30 хв в темряві.

Для контролю змішували 0,4 мл метанолу та 3,6 мл робочого розчину DPPH в метанолі. Вимірювали оптичну густину на спектрофотометрі ULAB108UV в кюветах з товщиною шару 10 мм за довжини хвилі 517 нм. Дослід проводили в трьох повторах.

Ступінь інактивації DPPH (%) визначали за формулою (15):

$$\%\ \text{інактивації} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100, \qquad (15)$$

де A_0 – оптична густина контрольного зразка,

A_1 – оптична густина досліджуваного зразка

Для визначення значення IC_{50}, тобто концентрації досліджуваного зразка, за якої відбувається інгібування 50 % вільного радикалу, готували серію розбавлень густого екстракту.

Знаючи значення IC_{50}, розраховували антирадикальну активність за формулою (16):

$$АРА = 1/IC_{50} \quad (16)$$

Загальну антиоксидантну активність подавали в мг аскорбінової кислоти (аскорбінової кислоти еквівалент (АКЕ)) і обчислювали за формулою (17):

$$АКЕ = АРА\ зразка/АРА\ аскорбінової\ кислоти \quad (17)$$

Для визначення концентрації IC_{50} аскорбінової кислоти готували серію розбавлень її розчину з концентрацією 1 мг/мл [125].

2.7 Статистична обробка результатів досліджень

Статистичну обробку результатів досліджень проводили згідно 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-Уітні за його відсутності. Відмінності вважали статистично значущими за $p<0,05$ [126].

РОЗДІЛ 3
ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО ТА КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН В СИРОВИНІ ВИДІВ РОДУ РИЖІЙ

3.1 Флавоноїди

Флавоноїди – найпоширеніші рослинні метаболіти, найчисельніша й найвивченіша група рослинних фенолів для яких характерна структурна різноманітність, висока і різностороння фармакологічна активність (антиоксидантна, гіпоглікемічна, протипухлинна, судинозміцнювальна, протизапальна, гепатопротекторна, нейропротекторна, радіопротекторна, антирадикальна тощо) та низька токсичність [127-132]. Згідно з даними літератури, флавони здатні інгібувати виділення гістаміну та агрегацію тромбоцитів, а катехіни, завдяки нейропротекторним властивостям, є перспективними у лікуванні нейродегенеративних захворювань [133, 134].

Попередню ідентифікацію сполук фенольної природи встановлювали за допомогою якісних реакцій наведених в розділі 2, п.2.3.1.

Малиново-червоне забарвлення продуктів ціанідинової реакції свідчило про наявність флавоноїдів у сировині видів роду Рижій. У результаті реакції спиртово-водних витяжок сировини рижію посівного та рижію дрібноплодого із розчином феруму (III) хлориду з’явилося темно-зелене забарвлення. Реакції з лугом і з 10 % розчином плюмбум ацетату також давали позитивний результат – жовтий осад, що підтверджує наявність флавоноїдів у досліджуваній сировині.

Якісне визначення флавоноїдів у сировині обох видів рослин проводили шляхом ПХ та ТШХ у порівнянні із ФСЗ (рутин, кверцетин). Дослідження проводили в системі розчинників № 1 і № 2. Локалізацію плям, що відповідали даній групі сполук, визначали за жовтим забарвленням у видимому світлі та за характерною зеленою флуоресценцією різної інтенсивності в УФ-світлі до та

після обробки хроматограм реактивом А, що також свідчило про наявність флавоноїдів.

У траві та насінні обох представників було ідентифіковано рутин (*Rf*=0,58±0,01).

Для кількісного визначення суми флавоноїдів використовували спектрофотометричний метод з розрахунком сумарного вмісту в перерахунку на рутин та абсолютно суху сировину після взаємодії з алюмінію хлоридом. Результати досліджень наведено в табл. 3.1.

Таблиця 3.1 – Кількісний вміст суми флавоноїдів в сировині видів роду Рижій (n=5, M±m, P<0,05)

Рослинна сировина	Кількісний вміст, %	Рослинна сировина	Кількісний вміст, %
Рижію посівного трава	1,17±0,08	Рижію посівного насіння	0,81±0,02
Рижію дрібноплодого трава	0,97±0,02	Рижію дрібноплодого насіння	0,56±0,05

Отримані дані свідчать, що флавоноїди у найбільшій кількості накопичуються у траві обох видів. За результатами визначення було відмічено, що за кількісним вмістом суми флавоноїдів переважає сировина рижію посівного. Так, у рижію посівного траві визначено найвищий вміст суми флавоноїдів в перерахунку на рутин, який складав (1,17±0,08) %. Найменший вміст суми флавоноїдів був у рижію дрібноплодого насінні, який склав (0,56±0,05) %.

3.2 Гідроксикоричні кислоти

Гідроксикоричні кислоти – клас фенольних сполук, що широко розповсюджені в рослинному світі та проявляють різноманітну активність:

протизапальну, капілярозміцнюючу, жовчогінну, гіпоглікемічну, антибактеріальну, протитивірусну, антиоксидантну, гіпохолестеринемічну, гепатопротекторну [135-138].

Для ідентифікації гідроксикоричних кислот використовували спиртово-водні витяжки досліджуваних видів рослин. Реакція з розчином феруму (III) хлориду (з'являлося сіро-зелене забарвлення) показала наявність у досліджуваній сировині видів роду Рижій сполук фенольної природи, в тому числі кислот гідроксикоричних.

Також ідентифікацію даних сполук було проведено методом ТШХ у системі розчинників № 1, № 2 та № 3, порівнюючи характер забарвлення плям на хроматограмах з ФСЗ гідроксикоричних кислот (хлорогенова, кофейна, п-кумарова). Локалізацію плям, що відповідали досліджуваній групі сполук визначали за характерною блакитною флуоресценцією в УФ-світлі після обробки хроматограм реактивом А, що свідчило про наявність кислот гідроксикоричних.

У траві обох видів було ідентифіковано кислоту хлорогенову (Rf=0,51±0,01). Хроматограма фенольних сполук в рухомій фазі *н-бутанол Р – кислота ацетатна Р – вода Р* (4:1:2) представлена на рис. 3.1.

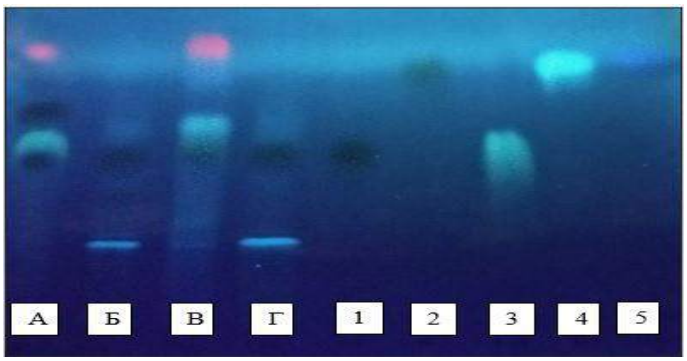


Рисунок 3.1 – Зразок ТШХ-хроматограми, отриманий в умовах дослідження фенольних сполук. Треки випробовуваних розчинів: А – рижію посівного трави, Б – рижію посівного насіння, В – рижію дрібноплодого трави, Г – рижію дрібноплодого насіння. Треки стандартних розчинів: 1 – рутину, 2 – кверцетину, 3 – хлорогенової кислоти, 4 – кофейної кислоти, 5 – п-кумарової кислоти

Для кількісної оцінки суми гідроксикоричних кислот у траві та насінні обох рослин використовували спектрофотометричний метод з перерахунком на хлорогенову кислоту та абсолютно суху сировину. Результати дослідження наведено в табл. 3.2.

Таблиця 3.2 – Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот в сировині видів роду Рижій (n=5, M±m, P<0,05)

Рослинна сировина	Кількісний вміст, %	Рослинна сировина	Кількісний вміст, %
Рижію посівного трава	1,47±0,03	Рижію посівного насіння	0,90±0,04
Рижію дрібноплодого трава	0,72±0,03	Рижію дрібноплодого насіння	0,70±0,02

Проведені дослідження свідчать про значне накопичення кислот гідроксикоричних у рижію посівного траві, що складає (1,47±0,03) %. Найменший вміст визначено у рижію дрібноплодого насінні і складає (0,70±0,02) %.

3.3 Поліфенольні сполуки

При додаванні до екстрактів розчину желатини утворювався аморфний осад, який зникав при надлишку желатини. Додаючи до витяжки розчину ферум (III) амонію сульфату спостерігали темно-зелене забарвлення. При проведенні специфічної реакції на визначення групи дубильних речовин встановлено, що в сировині обох видів містяться конденсовані дубильні речовини

Вміст суми поліфенольних сполук визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на галову кислоту і абсолютно суху сировину. Результати дослідження наведено в табл. 3.3.

Таблиця 3.3 – Кількісний вміст суми поліфенольних сполук у сировині видів роду Рижій (n=5, M±m, P<0,05)

Рослинна сировина	Кількісний вміст, %	Рослинна сировина	Кількісний вміст, %
Рижію посівного трава	2,11±0,01	Рижію посівного насіння	1,26±0,02
Рижію дрібноплодого трава	1,40±0,03	Рижію дрібноплодого насіння	1,17±0,03

Результати проведених досліджень показали, що максимальний вміст поліфенольних сполук у перерахунку на кислоту галову визначено у рижію посівного траві і становить (2,11±0,01) %. Найменший вміст поліфенолів встановлено у рижію дрібноплодого насінні – (1,17±0,03) %.

Також було проведено визначення кількісного вмісту суми поліфенольних сполук відповідно до вимог ДФУ другого видання в перерахунку на пірогалол і абсолютно суху сировину. Результати дослідження наведено в табл. 3.4.

Таблиця 3.4 – Кількісний вміст суми поліфенольних сполук в перерахунку на пірогалол у сировині видів роду Рижій (n=5, M±m, P<0,05)

Рослинна сировина	Кількісний вміст, %	Рослинна сировина	Кількісний вміст, %
Рижію посівного трава	0,94±0,02	Рижію посівного насіння	0,70±0,02
Рижію дрібноплодого трава	0,90±0,01	Рижію дрібноплодого насіння	0,63±0,01

Найбільший вміст суми поліфенолів в перерахунку на пірогалол визначено у траві обох видів, який був майже однаковий і складав для рижію посівного (0,94±0,02) %, а для рижію дрібноплодого – (0,90±0,01) %.

Найменший вміст поліфенолів встановлено у рижію дрібноплодого насінні (0,63±0,01) %.

3.4 Фенольні сполуки методом ВЕРХ

Визначення фенолів методом ВЕРХ полягає у розділенні компонентів проби та кількісному визначенні окремих сполук. Даним методом ідентифікували та визначили кількісний вміст 2 речовин фенольної природи у траві представників роду *Camelina (L.) Crantz*: 1 речовина флавоноїдної природи (рутин) та 1 кислота гідроксикорична (хлорогенова).

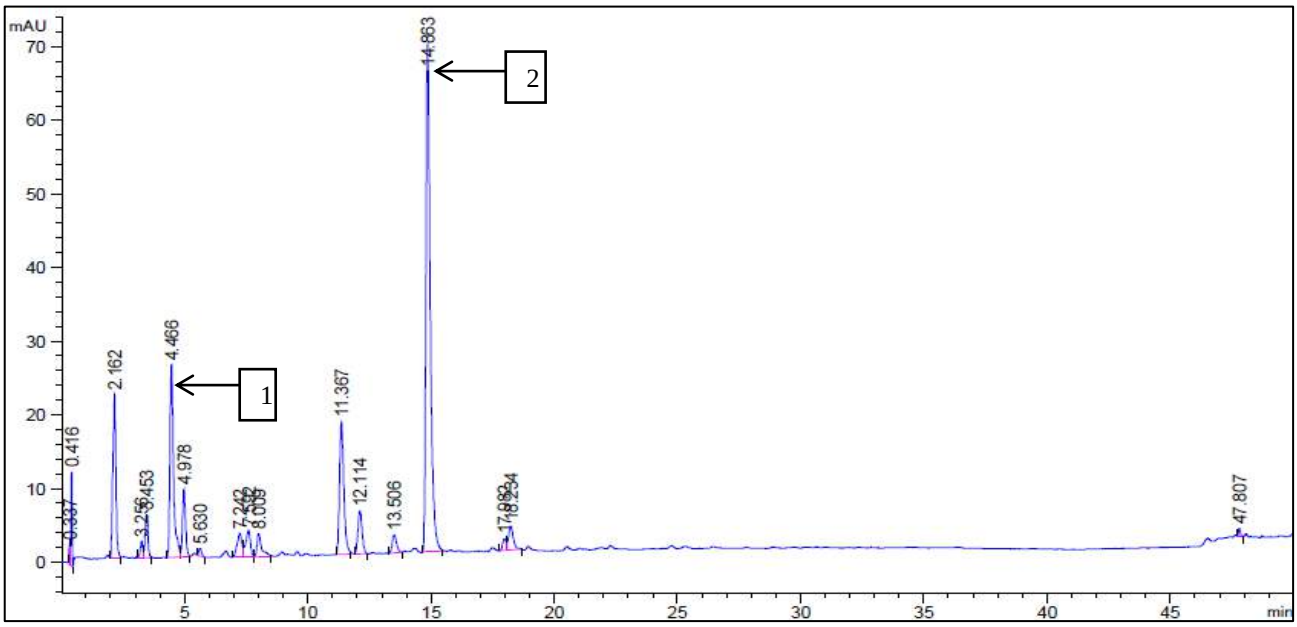
Результати хроматографічного дослідження фенольного складу сировини обох видів наведено в табл. 3.5 та на хроматографах – рис. 3.2, рис. 3.3, рис. 3.4, рис. 3.5.

Таблиця 3.5 – Результати хроматографічного визначення вмісту фенольних сполук у сировині видів Рижій (n=5, M±m, P<0,05)

Назва сполуки	Час утримання	Вміст фенольних сполук, %			
		Рижій посівний		Рижій дрібноплодий	
		трава	насіння	трава	насіння
Хлорогенова кислота	4,47	0,036± 0,001	нд	0,28± 0,01	нд
Рутин	14,83	0,35± 0,01	0,34± 0,01	0,054± 0,001	0,36± 0,01

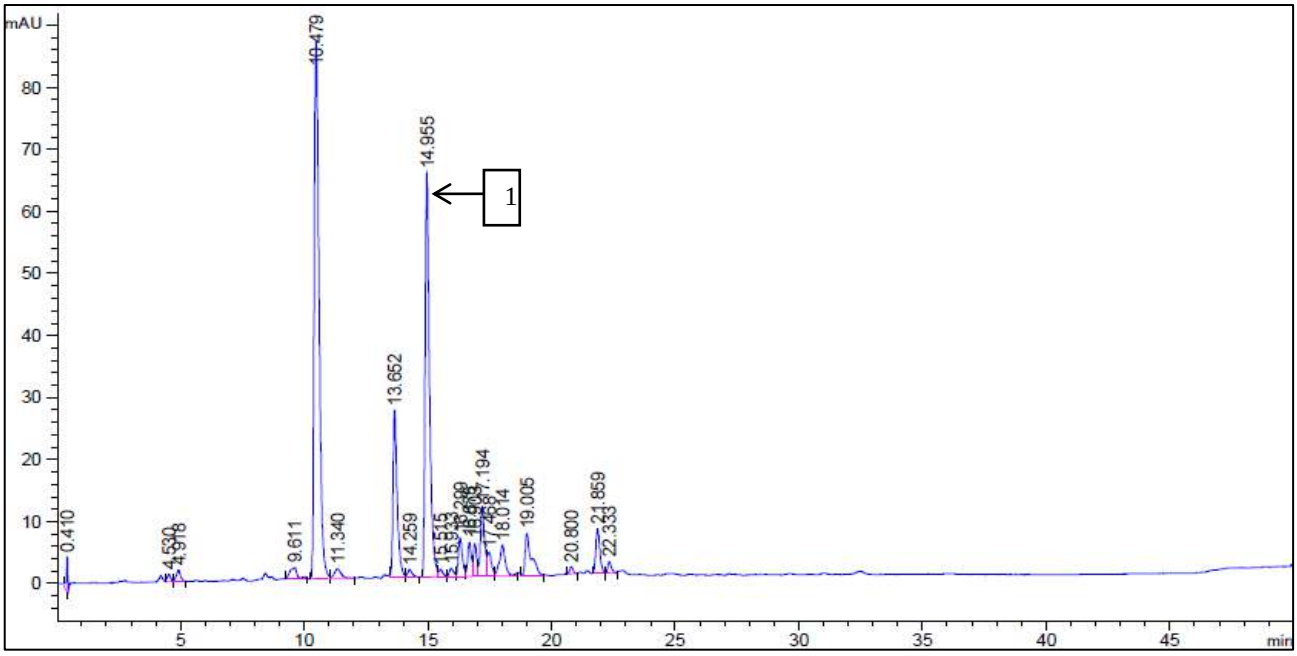
Примітка, нд – не детектовано

Одержані результати вказують на те, що вищий вміст рутину у рижію дрібноплодого насінні (0,36±0,01)%, рижію посівного траві (0,35±0,01)% та рижію посівного насінні (0,34±0,01)%. Більший вміст хлорогенової кислоти встановлено у рижію дрібноплодого траві (0,28±0,01)%.



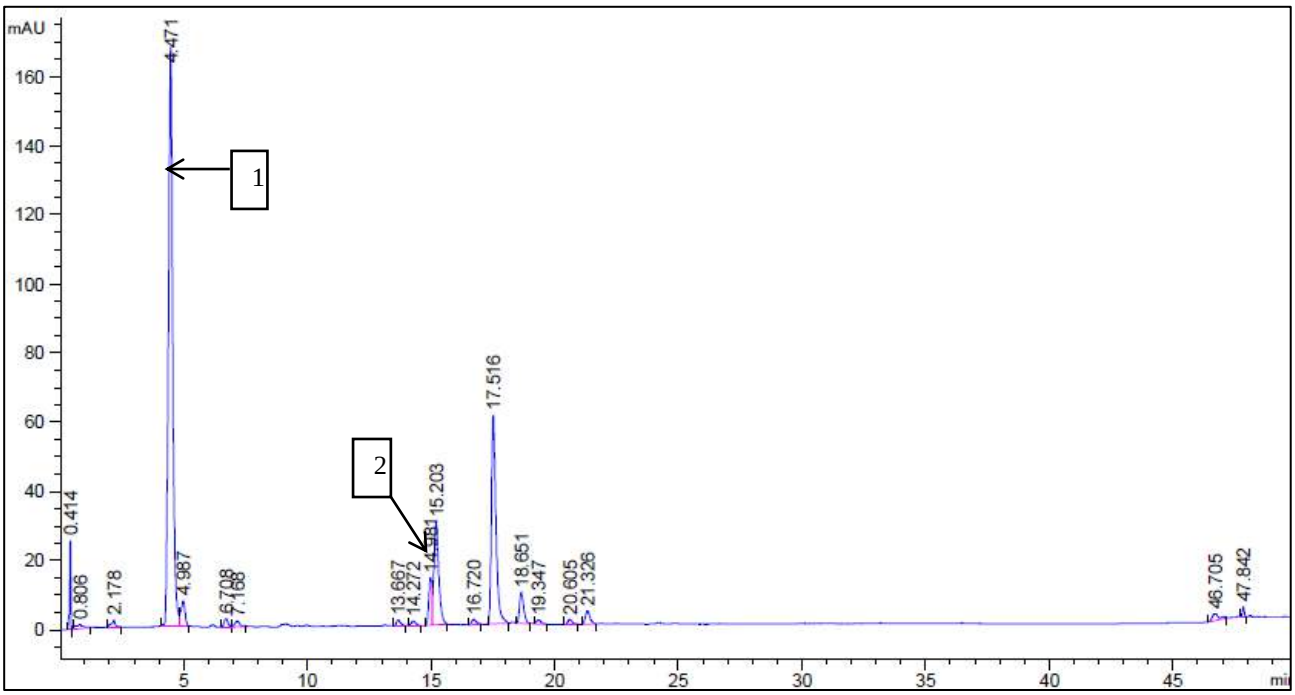
Примітка, 1 – кислота хлорогенова, 2 - рутин

Рисунок 3.2 – ВЕРХ-хроматограма, отримана при дослідженні фенольних сполук у рижію посівного траві



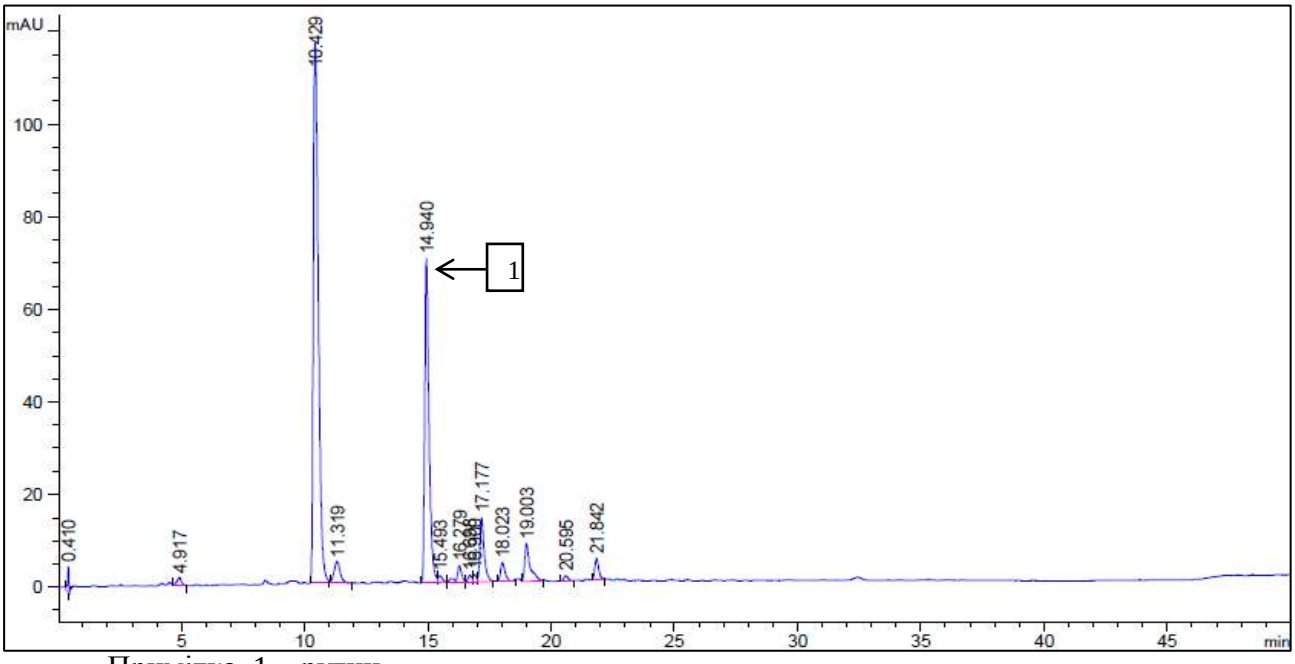
Примітка, 1 – рутин

Рисунок 3.3 – ВЕРХ-хроматограма, отримана при дослідженні фенольних сполук у рижію посівного насінні



Примітка, 1 – кислота хлорогенова, 2 - рутин

Рисунок 3.4 – ВЕРХ-хроматограма, отримана при дослідженні фенольних сполук у траві рижію дрібноплодого



Примітка, 1 – рутин

Рисунок 3.5 – ВЕРХ-хроматограма, отримана при дослідженні фенольних сполук у насінні рижію дрібноплодого

3.5 Амінокислоти

Амінокислоти знаходяться в рослинах у комплексах, які легко засвоюються та у біологічно доступних концентраціях для організму людини. Це обумовлює вищу біодоступність і фізіологічну активність порівняно з синтетичними аналогами [109, 139].

Амінокислоти – вихідний матеріал для біосинтезу цілого ряду фізіологічно активних речовин: алкалоїдів, вітамінів, фенольних сполук, ферментів, білків, пігментів, стероїдів та ін. Зокрема, гістидин є попередником гістаміну, триптофан – серотоніну, нікотинової кислоти, фенілаланін – дофаміну, адреналіну та норадреналіну [140].

Попередньо наявність амінокислот встановили за допомогою нінгідринової реакції, внаслідок якої з'явилося синьо-фіолетове забарвлення.

Якісний склад амінокислот у досліджуваних об'єктах визначали за допомогою висхідної ПХ в рухомій фазі № 1 (рис. 3.6).

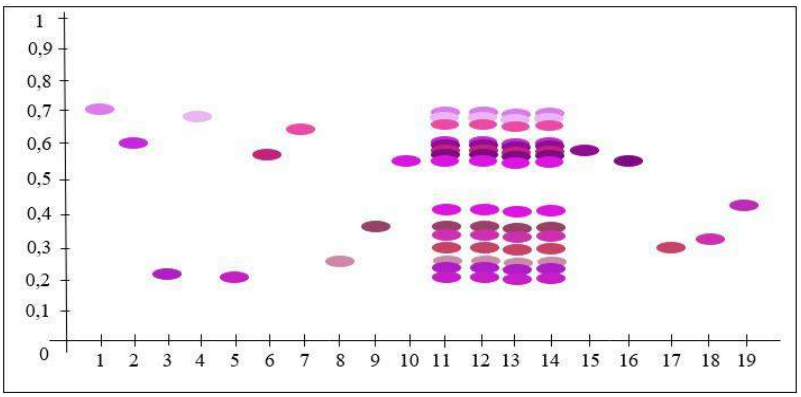


Рисунок 3.6 – Схема одновимірної паперової хроматограми амінокислот сировини видів роду Рижій. Рухома фаза *н-бутанол-оцтова кислота-вода очищена (4:1:2)*: 1 – лейцин, 2 – валін, 3 – лізин; 4 – ізолейцин, 5 – аргінін, 6 – метіонін, 7 – фенілаланін, 8 – гістидин, 9 – треонін, 10 – триптофан, 11 – водна витяжка рижію посівного трави; 12 – водна витяжка рижію посівного насіння; 13 – водна витяжка рижію дрібноплодого трави; 14 – водна витяжка рижію дрібноплодого насіння; 15 – серин; 16 – тирозин; 17 – гліцин; 18 – аспарагінова кислота; 19 – аланін

Визначення якісного складу та кількісного вмісту амінокислот проводили методом ВЕРХ.

Результати дослідження амінокислотного вмісту в сировині видів роду Рижій наведено в таблиці 3.6.

Таблиця 3.6 – Вміст амінокислот у сировині видів роду Рижій

Амінокислота	Вміст амінокислот, г/100 г сировини			
	Рижій посівний		Рижій дрібноплодий	
	трава	насіння	трава	насіння
1	2	3	4	5
Незамінні амінокислоти				
Аргінін	0,51	1,75	0,83	1,48
Валін	0,38	0,50	0,27	0,48
Гістидин	0,21	0,41	0,17	0,40
Ізолейцин	0,33	0,37	0,11	0,41
Лейцин	0,97	1,26	0,26	1,07
Лізин	0,84	1,50	0,42	1,44
Метіонін	0,03	0,22	0,13	0,20
Треонін	0,74	0,91	0,49	0,96
Фенілаланін	0,65	0,86	0,36	0,65
Замінні амінокислоти				
Аланін	0,98	1,23	0,46	1,19
Аспарагінова кислота	1,65	2,02	1,01	1,94
Гліцин	0,88	1,32	0,41	1,52
Глутамінова кислота	1,83	4,29	1,53	4,13
Пролін	1,58	0,95	0,93	0,95
Серин	0,84	1,22	0,52	1,26
Тирозин	0,25	0,60	0,16	0,55

Продовж. табл. 3.6

1	2	3	4	5
Цистеїн	0,09	0,16	0,05	0,14
Сума незамінних амінокислот, г/100 г	4,66	7,78	3,04	7,09
Сума замінних амінокислот, г/100 г	8,10	11,79	5,07	11,68
Загальна сума амінокислот, г/100 г	12,76	19,57	8,11	18,77

Аналіз результатів свідчить, що домінуючими амінокислотами в усіх видах сировини були глутамінова і аспарагінова кислоти.

Встановлено, що у найбільшій кількості у рижію посівного траві були такі замінні амінокислоти: глутамінова (1,83 г/100 г), аспарагінова (1,65 г/100 г) та пролін (1,58 г/100 г).

Серед незамінних амінокислот найбільше виявлено лейцину (0,97 г/100 г), лізину (0,84 г/100 г) та треоніну (0,74 г/100 г). У найменшій кількості серед замінних амінокислот визначено цистеїн (0,09 г/100 г) та серед незамінних – метіонін (0,03 г/100 г) (рис. 3.7).

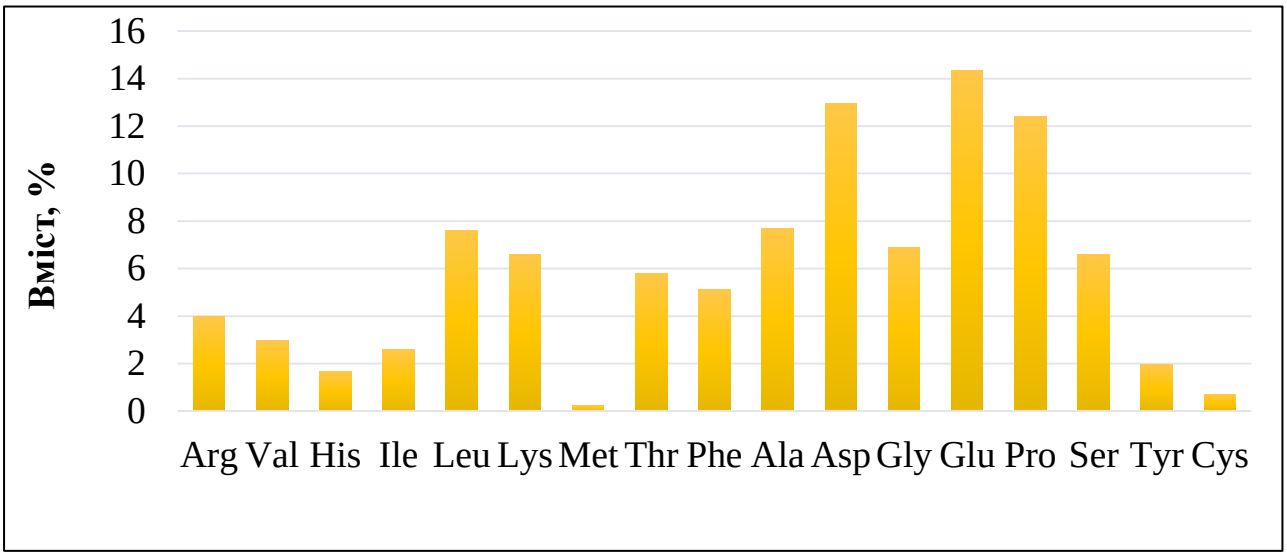


Рисунок 3.7 – Вміст амінокислот у рижію посівного траві

У рижію посівного насінні превалюючими замінними амінокислотами були: глутамінова (4,29 г/100г) та аспарагінова кислоти (2,02 г/100г). Серед незамінних – аргінін (1,75 г/100г) та лізин (1,50 г/100г). У найменшій кількості серед замінних амінокислот визначено цистеїн (0,16 г/100г) та незамінних – метіонін (0,22 г/100г) (рис. 3.8).

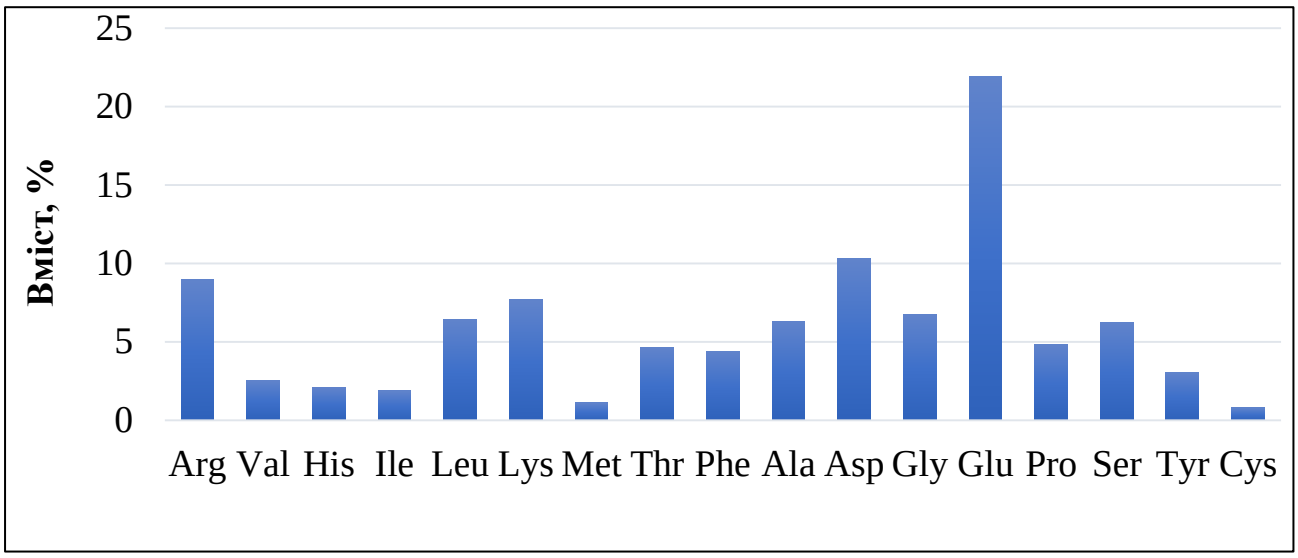


Рисунок 3.8 – Вміст амінокислот у рижію посівного насінні

У рижію дрібноплодого траві в найбільшій кількості виявлено замінні амінокислоти – глутамінову (1,53 г/100г) та аспарагінову (1,01 г/100г). Серед незамінних – пролін (0,93 г/100г) та аргінін (0,83 г/100г) (рис. 3.9).

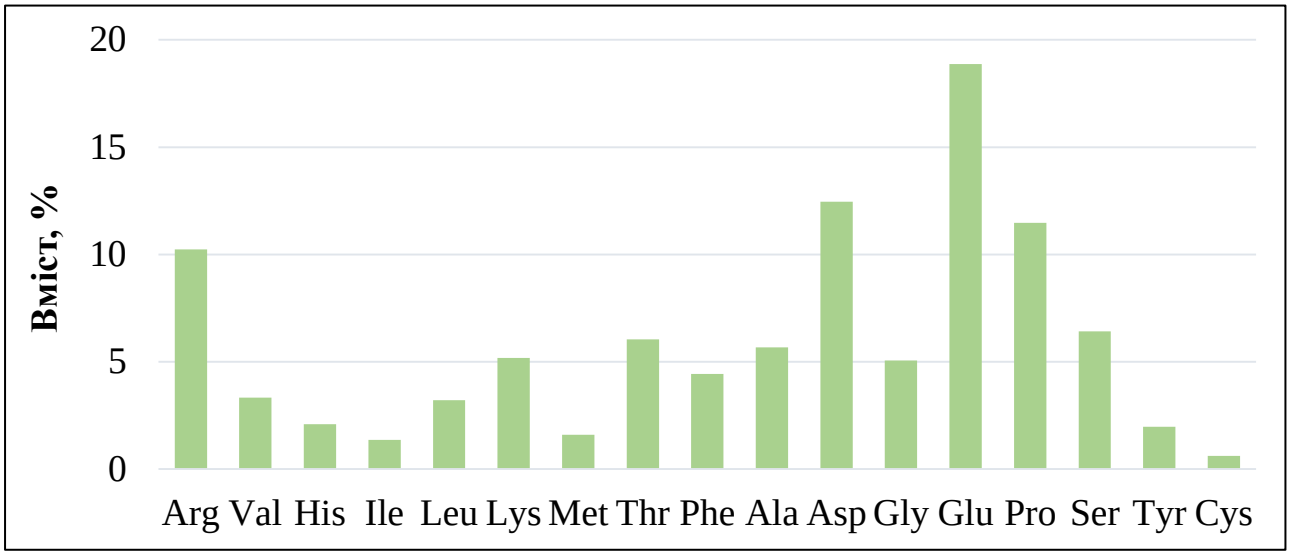


Рисунок 3.9 – Вміст амінокислот у рижію дрібноплодого траві

У рижію дрібноплодого насінні у найбільшій кількості серед замінних амінокислот виявлено глутамінову (4,13 г/100г), аспарагінову кислоти (1,94 г/100г) та гліцин (1,52 г/100г). Серед незамінних – аргінін (1,48 г/100г) та лізин (1,44 г/100г) (рис. 3.10).

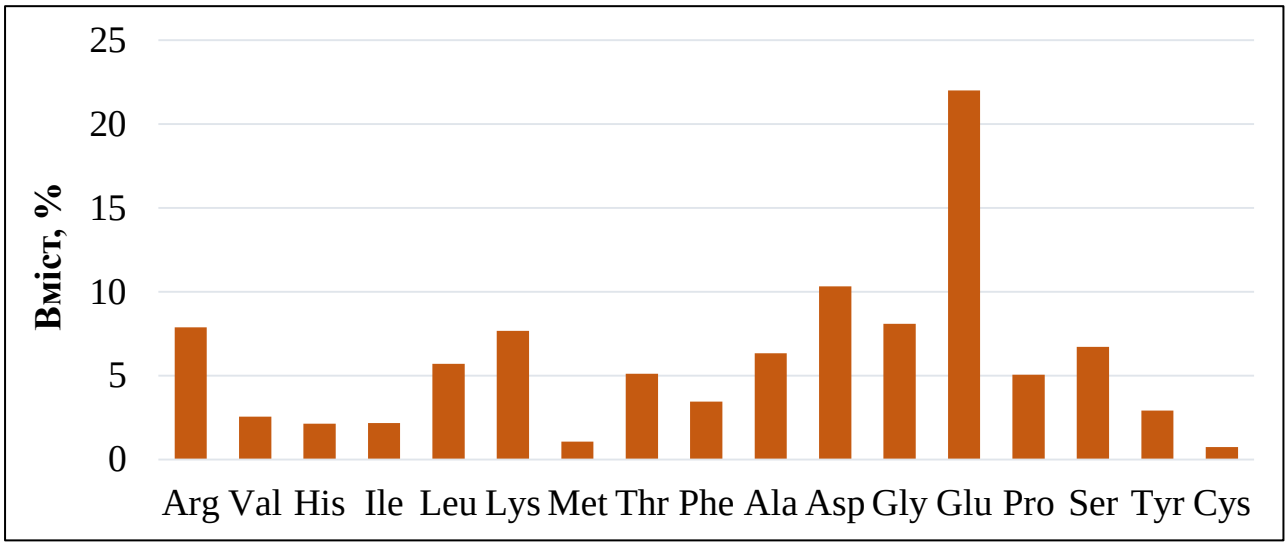


Рисунок 3.10 – Вміст амінокислот у рижію дрібноплодого насінні

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

Вищий вміст суми незамінних амінокислот було встановлено також у рижію посівного насінні (7,78 г/100г), а у найменшій кількості також у рижію дрібноплодого траві (3,04 г/100г).

Максимальний вміст суми замінних амінокислот було встановлено у рижію посівного насінні (11,79 г/100г), а у найменшій кількості у рижію дрібноплодого траві (5,07 г/100г).

3.6 Вуглеводи

Вуглеводи є основною масою рослинного організму, а також важливим класом природних сполук з багатогранним спектром біологічного впливу на організм людини [141].

Встановлено, що рослинні полісахариди, які раніше вважали інертними речовинами, проявляють широкий спектр біологічної активності: протизапальну, репаративну [142], гіполіпідемічну [143], імуномодулюючу, пом'якшувальну, підвищують стійкість організму до інфекцій [144], потенціюють фармакологічну активність флавоноїдів та інших біологічно активних речовин, мають муколітичну дію [145]. Також рослинні полісахариди проявляють протипухлинну [146], протирадіаційну та противірусну дії [147].

Викликають інтерес дані дослідників, що свідчать про вплив деяких рослинних вуглеводів на перебіг експериментального атеросклерозу, гіперліпідемії та ЦД. Деякі полісахариди проявляють ефективну антиульцерогенну та гепатопротекторну дію, можуть бути перспективними для лікування виразкової хвороби та гепатитів [148-151].

Попередню ідентифікацію вуглеводів провели за допомогою якісних реакцій. При додаванні етанолу (96 %, об/об) Р спостерігали появу аморфного осаду. Реакція з 0,5 % розчином карбазолу Р і кислотою сульфатною Р також дала позитивний результат – червоно-фіолетове забарвлення. Вільні цукри з мідно-тартратним реактивом давали червоний осад.

Мономерний склад полісахаридних фракцій встановлювали за допомогою методу ТШХ. Результати представлено в табл. 3.7 та на рис. 3.11.

Таблиця 3.7 – Результати вивчення мономерного складу полісахаридних фракцій сировини видів роду Рижій методом ТШХ

Об'єкт дослідження	Гідролізат фракцій	Галактоза	Глюкоза	Арабіноза	Ксилоза
1	2	3	4	5	6
Трава рижію посівного	ВРПС	-	+	+	-
	ПР	+	-	-	-
	ГЦ	+	-	+	-

Продовж. табл. 3.7

1	2	3	4	5	6
Насіння рижію посівного	ВРПС	-	-	+	-
	ПР	+	+	-	-
	ГЦ	+	-	+	-
Трава рижію дрібноплодого	ВРПС	-	+	+	-
	ПР	+	-	+	-
	ГЦ	+	-	-	+
Насіння рижію дрібноплодого	ВРПС	-	+	+	-
	ПР	+	-	+	-
	ГЦ	+	-	+	+

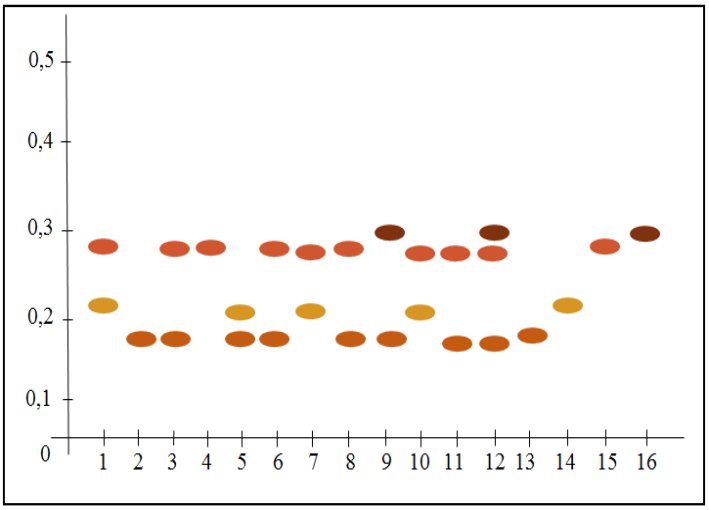


Рисунок 3.11 – Схема одновимірної ТШХ-хроматограми вуглеводів сировини видів роду Рижій. Рухома фаза *ацетонітрил – вода (85:15)*: 1 – ВРПС трави рижію посівного, 2 – ПР трави рижію посівного, 3 – ГЦ трави рижію посівного; 4 – ВРПС насівння рижію посівного, 5 – ПР насівння рижію посівного, 6 – ГЦ насівння рижію посівного, 7 – ВРПС трави рижію дрібноплодого, 8 – ПР трави рижію дрібноплодого, 9 – ГЦ трави рижію дрібноплодого, 10 – ВРПС насіння рижію дрібноплодого, 11 – ПР насіння рижію дрібноплодого; 12 – ГЦ насіння рижію дрібноплодого; 13 – галактоза; 14 – глюкоза; 15 – арабіноза; 16 – ксилоза

У гідролізатах полісахаридних фракцій рижію посівного трави та насінні було визначено наявність галактози (Rf=0,19±0,01) глюкози (Rf=0,22±0,02) та арабінози (Rf=0,28±0,01).

У гідролізатах полісахаридних фракцій рижію дрібноплодого трави та насінні було знайдено галактозу (Rf=0,19±0,01), глюкозу (Rf=0,21±0,01), арабінозу (Rf=0,27±0,02) та ксилози (Rf=0,30±0,03).

Визначення кількісного вмісту полісахаридних фракцій провели спектрофотометричним способом з антронсульфатним реактивом в перерахунку на домінуючі моносахариди – арабінозу і галактозу, та абсолютно суху сировину. Результати досліджень представлені в табл. 3.8.

Таблиця 3.8 – Кількісний вміст полісахаридів у сировині видів роду Рижій (n=5, M±m, P<0,05)

Рослинна сировина	Кількісний вміст полісахаридних фракцій,%				
	ВРПС	ПР	ГЦ	ГЦ А	ГЦ Б
Рижію посівного трава	3,64±0,07	2,99±0,14	4,83±0,17	0,53±0,04	4,32±0,21
Рижію посівного насіння	1,59±0,24	0,45±0,03	1,79±0,19	0,59±0,07	1,21±0,15
Рижію дрібноплодого трава	2,24±0,36	2,52±0,06	3,36±0,26	1,03±0,19	2,33±0,23
Рижію дрібноплодого насіння	1,12±0,23	0,57±0,10	2,15±0,17	0,34±0,02	1,81±0,19

За результатами фракціонування було визначено, що вміст полісахаридів у сировині обох видів рижію є досить подібним.

Як видно із даних, наведених в таблиці 3.8, серед полісахаридних фракцій сировини обох видів переважають ГЦ, а саме ГЦ Б. За сумарним вмістом усіх фракцій переважає рижію посівного трава. Найменший вміст суми полісахаридів у рижію дрібноплодого насінні.

Сумарний вміст полісахаридних фракцій рижію посівного трави у 3 рази переважає вміст даних фракцій у насінні цієї ж рослини. У той же час, у рижію дрібноплодого траві в два рази більший загальний вміст полісахаридних фракцій, ніж у насінні даної рослини.

Максимальний вміст ВРПС було визначено у рижію посівного траві, що склав (3,64±0,07) %, а найменший – у рижію дрібноплодого насінні (1,12±0,23) %.

ПР у найбільшій кількості знайдені також у рижію посівного траві (2,99±0,14) %, у найменшій кількості – у насінні цієї ж рослини (0,45±0,03) %.

Вміст суми ГЦ був вищий у рижію посівного траві, який склав (4,83±0,17) %, а найменший – у рижію посівного насінні (1,79±0,19) %.

3.7 Вільні аліфатичні органічні кислоти

Органічні кислоти є невід'ємними складовими будь-якої рослинної тканини, проміжні сполуки при окисненні жирів, вуглеводів, білків і амінокислот[152].

Ці кислоти знаходяться у всіх органах у вільному стані та в складі солей, димерів, естерів та ін. Вони виявляють різноманітні види біологічної активності. Крім того, органічні кислоти стимулюють виділення шлункового соку в ШКТ, покращують травлення, активують перистальтику кишківника, сприяють зниженню ризику розвитку багатьох шлунково-кишкових захворювань, пригнічують процеси гниття в товстому кишківнику [152].

Методом одновимірної ТШХ у системах розчинників №7 та після обробки хроматограм реактивами Ж та З було ідентифіковано вільні аліфатичні органічні кислоти у рослинній сировині обох досліджуваних рослин, про що свідчила поява жовтих та рожевих плям на рівні плями хроматограми зі ФСЗ органічних кислот (рис. 3.12).

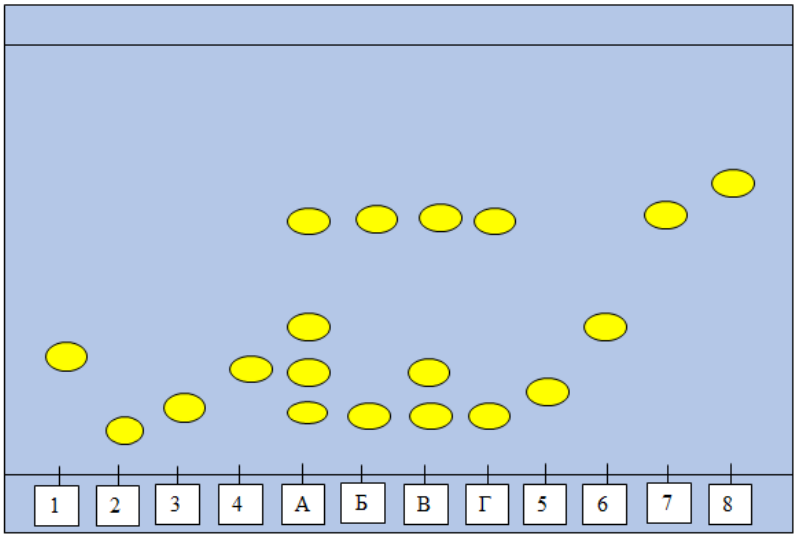


Рисунок 3.12 – Схема ТШХ-хроматограми, отриманої в умовах дослідження аліфатичних органічних кислот. Треки випробовуваних розчинів: А – рижію посівного трави, Б – рижію посівного насіння, В – рижію дрібноплодого трави, Г – рижію дрібноплодого насіння. Треки розчинів ФСЗ: 1 – бурштинова, 2 – лимонна, 3 – щавлева, 4 – яблучна, 5 – винна, 6 – аскорбінова, 7 – бензойна, 8 – саліцилова

У рижію посівного траві було визначено наявність щавлевої (R_f=0,11±0,01) яблучної (R_f=0,21±0,02), аскорбінової (R_f=0,29±0,01) та бензойної (R_f =0,60±0,02) кислот.

У рижію дрібноплодого траві знайдено щавлеву (R_f=0,11±0,01), яблучну (R_f=0,21±0,02) та бензойну (R_f=0,60±0,02) кислоти.

У насінні обох видів встановлено наявність щавелевої (R_f =0,11±0,01) та бензойної кислот (R_f =0,60±0,02).

Сумарний кількісний вміст органічних кислот у сировині обох видів визначали титриметричним методом у перерахунку на яблучну кислоту. Результати дослідження представлено у табл. 3.9.

Таблиця 3.9 – Кількісний вміст суми вільних органічних у сировині видів роду Рижій (n=5, M±m, P<0,05)

Рослинна сировина	Кількісний вміст, %	Рослинна сировина	Кількісний вміст, %
Рижію посівного трава	4,08±0,05	Рижію посівного насіння	0,03±0,001
Рижію дрібноплодого трава	0,54±0,01	Рижію дрібноплодого насіння	0,01±0,001

За результатами визначення було відмічено, що найвищий вміст вільних органічних кислот переважає у рижію посівного траві, що значно більше ніж у рижію дрібноплодого траві.

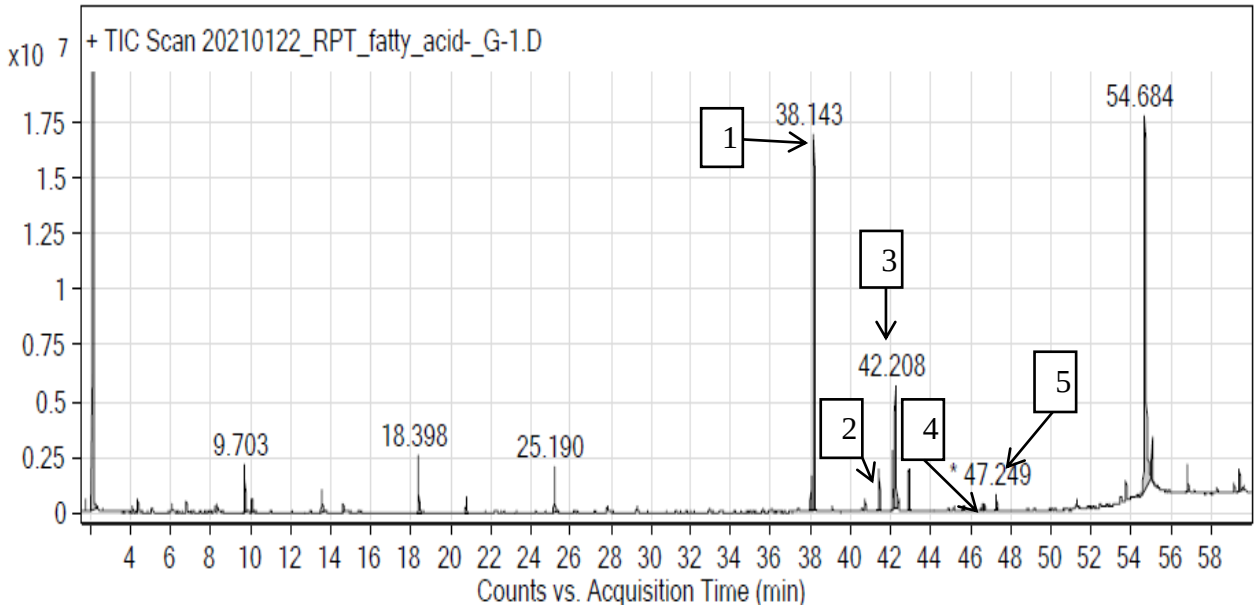
3.8 Жирні кислоти

За даними джерел літератури важливу роль у життєдіяльності організму відіграють ЖК (насичені та ненасичені). Поліненасичені ЖК здатні знижувати рівень ліпопротеїдів низької густини та холестерину в крові. Це знижує ризик виникнення атеросклеротичних бляшок та гальмує розвиток атеросклерозу,що має важливу фармакологічну цінність [101].

Також ненасичені ЖК є структурними елементами фосфоліпідів, ліпопротеїдів клітинних мембран; входять до складу сполучних тканин, нервових волокон, беруть участь в обміні вітамінів групи В. До того ж, ЖК стимулюють захисні механізми організму за рахунок підвищення стійкісті до інфекційних захворювань та впливу радіації [153-155].

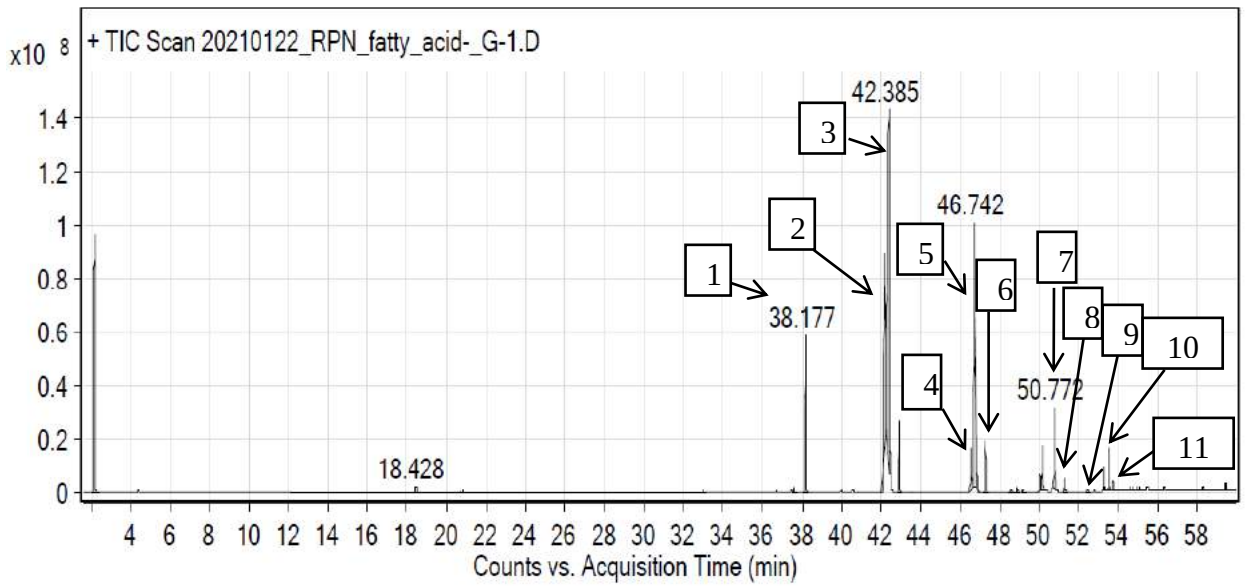
За результати ГХ-МС дослідження визначено жирнокислотний склад сировини видів роду Рижій, ідентифіковано та досліджено кількісний вміст 12 жирних кислот.

Результати досліджень рижію посівного наведено на рис. 3.13, 3.14 та в табл. 3.10.



Примітка, 1 – пальмітинова, 2 – лінолева, 3 – ліноленова, 4 – паулінова, 5 – арахінова

Рисунок 3.13 – ГХ-хроматограма ЖК у рижію посівного траві



Примітка, 1 – пальмітинова, 2 – лінолева, 3 – ліноленова, 4 – цис-11,14-ейкозадієнова, 5 – паулінова, 6 – арахінова, 7 – ерукова, 8 – бегенова, 9 – трикозилова, 10 – нервонова, 11 – лігноцеринова

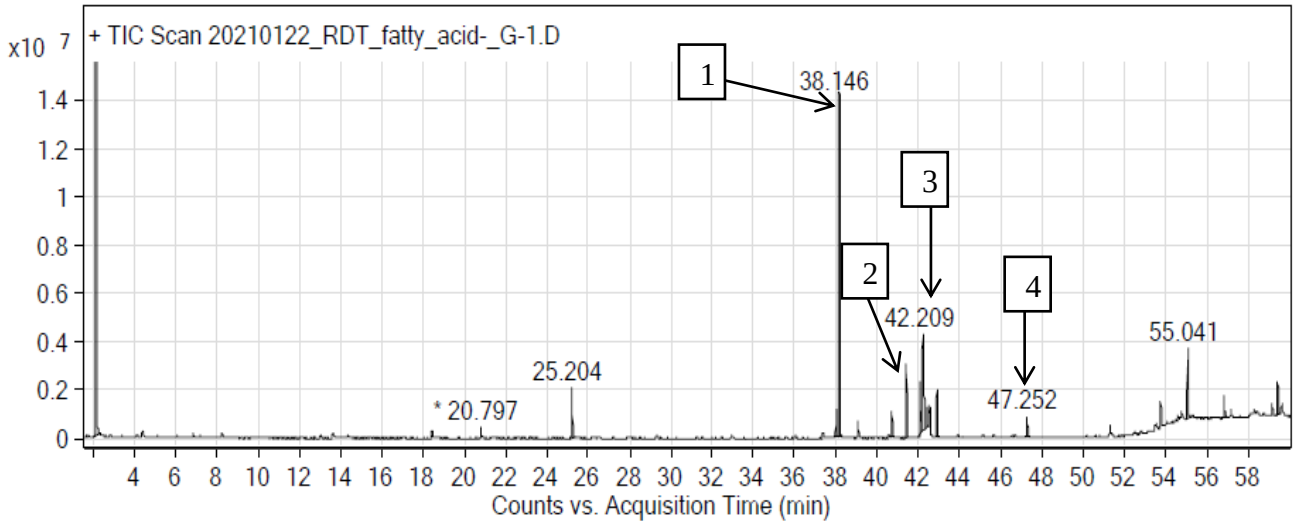
Рисунок 3.14 – ГХ-хроматограма ЖК у рижію посівного насінні

Таблиця 3.10 – Якісний склад та кількісний вміст ЖК у сировині рижію посівного сорту Славутич

Кислота	Трава		Насіння	
	Вміст, мг/кг	Вміст, %	Вміст, мг/кг	Вміст, %
1	2	3	4	5
Насичені				
Ейкозанова (арахінова)	608,71	2,98	10816,44	2,68
Докозанова (бегенова)	-	-	2505,14	0,62
Гексадеканова (пальмітинова)	12627,83	61,82	37892,01	9,40
Тетракозанова (лігноцеринова)	-	-	1433,69	0,36
Ненасичені				
цис-13-ейкозенова (паулінова)	178,53	0,87	81200,66	20,15
цис-11,14-ейкозадієнова	-	-	9019,54	2,24
9,12-октадекадієнова (лінолева)	1933,51	9,47	73299,08	18,19
9,12,15-октадекатрієнова (α-ліноленова)	5076,74	24,86	161031,20	39,95
13-докозенова (ерукова)	-	-	19716,54	4,89
22-трикозенова (трикозилова)	-	-	468,74	0,12
цис-15-тетракозенова нервонова)	-	-	5671,14	1,41
Загальний вміст ЖК	20425,32	100	403054,19	100
Загальний вміст насичених ЖК	13236,54	64,80	52647,29	13,06
Загальний вміст ненасичених ЖК	7188,78	35,20	350406,90	86,94

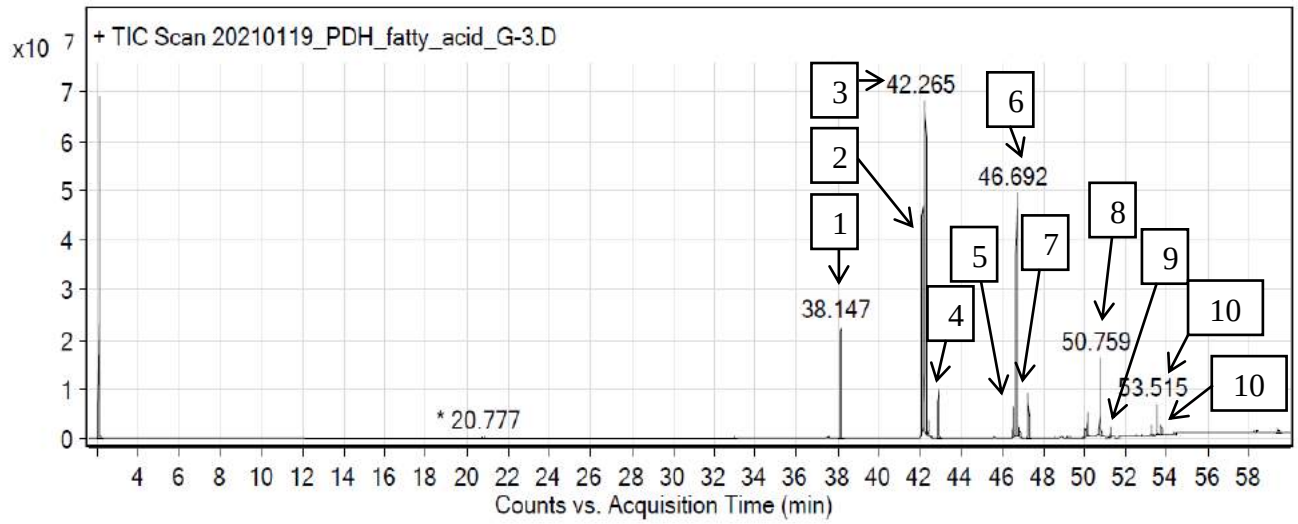
Так, у рижію посівного траві знайдено 5 ЖК (з яких 2 насичених та 3 ненасичені). Вміст насичених ЖК у рижію посівного траві складає 64,80 %, а ненасичених – 35,20 %. Визначено, що найбільший вміст серед ЖК займають пальмітинова та ліноленова кислоти.

У рижію посівного насінні виявлено 11 ЖК (4 насичених та 7 ненасичені). Вміст насичених ЖК у рижію посівного насінні складає 13,06 %, а ненасичених – 86,94 %. Визначено, що найбільший вміст серед ЖК займають ліноленова, ейкозенова та лінолеві кислоти. Результати досліджень рижію дрібноплодого наведено на рис. 3.15, 3.16 та в таблиці 3.11.



Примітка, 1 – пальмітинова, 2 – лінолева, 3 – ліноленова, 4 – арахінова

Рисунок 3.15 – ГХ-хроматограма ЖК у рижію дрібноплодого траві



Примітка, 1 – пальмітинова, 2 – лінолева, 3 – ліноленова, 4 – олеїнова, 5 – цис-11,14-ейкозадієнова, 6 – паулінова, 7 – арахінова, 8 – ерукова, 9 – бегенова, 10 – нервонова, 11 – лігноцеринова

Рисунок 3.16 – ГХ-хроматограма ЖК у рижію дрібноплодого насінні

Таблиця 3.11 – Якісний склад та кількісний вміст ЖК у сировині рижію дрібноплодого

Кислота	Трава		Насіння	
	Вміст, мг/кг	Вміст, %	Вміст, мг/кг	Вміст, %
Насичені				
Ейкозанова (арахінова)	1416,65	3,96	14980,04	3,39
Докозанова (бегенова)	-	-	3423,24	0,77
Пальмітинова (гексадеканова)	21472,29	60,06	34889,23	7,89
Тетракозанова (лігноцеринова)	-	-	2109,77	0,48
Ненасичені				
цис-13-ейкозенова (паулінова)	-	-	87000,37	19,67
цис-11,14-Ейкозадієнова	-	-	8946,13	2,02
9,12-октадекадієнова (лінолева)	3088,36	8,64	82925,59	18,74
9,12,15-октадекатрієнова (α-ліноленова)	9776,66	27,34	172944,29	39,09
9-октадеценова (олеїнова)	-	-	3264,16	0,74
цис-15-тетракозенова (нервонова)	-	-	6261,27	1,42
13-докозенова (ерукова)	-	-	25644,70	5,80
Загальний вміст ЖК	35753,96	100	442388,79	100
Загальний вміст насичених ЖК	22888,94	64,02	55402,29	12,53
Загальний вміст ненасичених ЖК	12865,02	35,98	386986,50	87,47

У рижію дрібноплодого траві виявлено 4 ЖК (2 насичені та 2 ненасичені). Вміст насичених ЖК у рижію дрібноплодого траві складає 64,02 %, а ненасичених – 35,98 %. Визначено, що найбільший вміст серед ЖК займають пальмітинова та ліноленова кислоти.

У рижію дрібноплодого насінні виявлено 11 ЖК (4 насичених та 7 ненасичені). Вміст насичених ЖК у насінні рижію дрібноплодого складає

12,52 %, а ненасичених – 87,48 %. Визначено, що найбільший вміст серед ЖК займають ліноленова, ейкозенова та лінолева кислоти.

Отже, у результаті дослідження встановлено, що найбільший вміст ненасичених жирних кислот у насінні рижію дрібноплодого (87,47 %) та насінні рижію посівного (86,93 %) (рис. 3.17).

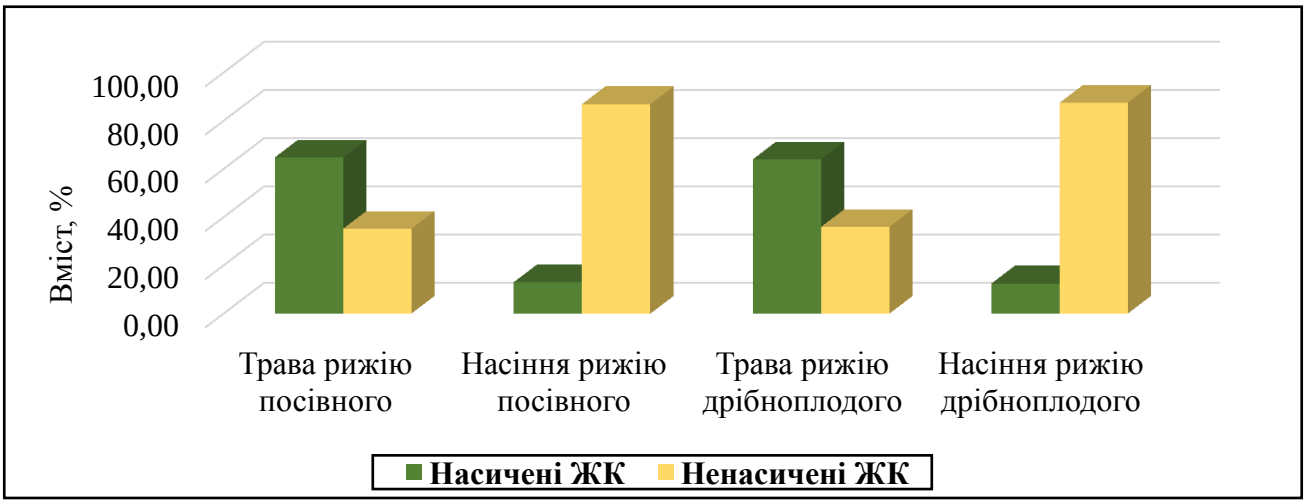


Рисунок 3.17 – Вміст насичених і ненасичених ЖК у сировині видів роду Рижій

У результаті порівняльного аналізу встановлено, що ідентичними компонентами жирнокислотного складу трави обох видів були: пальмітинова, лінолева, ліноленова та арахінова кислоти. У рижію посівного траві ще було визначено ейкозенову кислоту.

Порівнюючи якісний склад ЖК у насінні досліджуваних видів роду Рижій можна зробити висновок, що обидва представники мають подібні компоненти, кількість яких майже однакова. Різниця за кількісним вмістом не суттєва. У рижію посівного насінні ще знайдено 22-трикозенову кислоту, а у рижію дрібноплодого насінні – олеїнову. Вміст ерукової кислоти менший у рижію посівного насінні 4,89 % (допустима норма для олій, які використовуються у харчуванні 5,00 %). Вміст даної кислоти у насінні рижію дрібноплодого трохи вищий, ніж у рижію посівного насінні та перевищує допустиму норму і складає 5,80 %.

3.9 Елементний склад

Макро- та мікроелементи – одні із найважливіших речовин, які є необхідними для нормального функціонування організму людини. Вони беруть участь в різних фізіологічних і біохімічних процесах, підтриманні гомеостазу організму [156]

Більшість лікарських рослин можуть накопичувати великі концентрації ессенціальних мікроелементів, які необхідні для організму. Це надає їм значні переваги при профілактиці та лікуванні багатьох захворювань, які пов’язані з дефіцитом мікроелементів в організмі людини. Рослинна сировина здатна виділяти ці сполуки при екстракції та отриманні комплексних фітопрепаратів [157].

Маґній і калій – основні внутрішньоклітинні елементи. Вони активізують ферменти, які здатні регулювати вуглеводний обмін, стимулювати утворення білків, регулювати зберігання і вивільнення енергії в АТФ, зменшувати порушення в нервових клітинах, розслаблювати м’язи. Маґній важливий для роботи серця [43]. Фосфор входить до складу неорганічних компонентів і органічних біомолекул, таких як білки, нуклеїнові кислоти, нуклеотиди, фосфоліпіди. Сполуки фосфору (АМФ, АДФ, АТФ, креатин фосфат) є універсальним джерелом енергії клітин живих організмів. Фосфор також важливий для функціонування головного мозку, серця, м’язової тканини. Кальцій – основний елемент кісток та зубів, який їх зміцнює. Ще він сприяє відновленню клітин усього організму, завдяки тому, що є компонентом ядра клітини [158]. Натрій – активатор транспортних систем клітини, важливий компонент для підтримки збалансованої кислотно-лужної рівноваги і осмотичного тиску рідин організму [159].

Для визначення якісного складу та кількісного вмісту макро- та мікроелементів використовували метод атомно-емісійної спектрографії з фотографічною реєстрацією на приладі ДФС-8.

Результати даного дослідження сировини рижію посівного та рижію дрібноплодого наведено в таблиці 3.14.

Таблиця 3.14 – Вміст макро- та мікроелементів у сировині видів роду Рижій

№ п/п	Неорганічний елемент	Вміст елементу, мг/100г					
		Трава		Насіння		ґрунт, де зростав РП	ґрунт, де зростав РД
		РП	РД	РП	РД		
Макроелементи							
1	Калій (K)	880	3750	1500	840	1700	250
2	Фосфор (P)	90	275	470	85	300	100
3	Магній (Mg)	175	375	235	105	1500	350
4	Кальцій (Ca)	400	1000	190	105	1600	1600
5	Силіцій (Si)	65	225	24	17	34000	20000
6	Натрій (Na)	22	87	18,8	12,6	1500	1000
Мікроелементи							
7	Ферум (Fe)	3,3	37,5	16,4	2,7	4000	2000
8	Цинк (Zn)	1,7	1,25	7,0	2,5	-	-
9	Алюміній (Al)	9,7	35	3,0	2,3	7500	3000
10	Манган (Mn)	1,3	5,0	2,8	1,5	50	10
11	Нікол (Ni)	0,04	0,062	1,78	0,063	7,0	5,0
12	Купрум (Cu)	0,33	0,95	1,12	0,25	30	30
13	Стронцій (Sr)	1,5	3,1	0,56	0,042	10	90
14	Молібден (Mo)	0,08	0,25	0,14	0,042	8,0	6,0
15	Титан (Ti)	-	-	-	-	550	300
16	Хром (Cr)	-	-	-	-	20	10
17	Плюмбум (Pb)	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	1,0	1,0

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

У рижію посівного траві у найбільших кількостях акумулювались (мг/100 г): 1) макроелементи: калій – 880, кальцій – 400, маґній – 175; 2) мікроелементи: алюміній – 9,7; ферум – 3,3; цинк – 1,7; манґан – 1,3. Накопичення елементів у рижію дрібноплодого траві відрізняється від їх вмісту у сировині рижію посівного і становить (мг/100 г): 1) макроелементи: калій – 3750, кальцій – 1000, маґній – 375, фосфор – 275; 2) мікроелементи: ферум – 37,5; алюміній – 35; манґан – 5,0; цинк – 1,25.

У рижію посівного насінні у найбільших кількостях акумулювались (мг/100 г): 1) макроелементи: калій – 1500, фосфор – 470, маґній – 235, кальцій – 190; 2) мікроелементи: ферум – 16,4, цинк – 7,0, алюміній – 3,0, манґан – 2,8, нікол – 1,78, купрум – 1,12. Накопичення елементів у рижію дрібноплодого насінні відрізняється від їх вмісту у сировині рижію посівного і становить (мг/100 г): 1) макроелементи: калій – 840, маґній – 105, кальцій – 105, фосфор – 85; 2) мікроелементи: ферум – 2,7, цинк – 2,5, алюміній – 2,3, манґан – 1,5.

Вміст неорганічних елементів у сировині обох видів, які мають токсикологічне значення (Pb, Co, Cd, As, Hg), не перевищують гранично допустимі концентрації, що встановлені санітарними стандартами і становить (мг/100г): плюмбум<0,03, кобальт<0,03, кадмій<0,01, арсен<0,01, меркурій<0,01.

Найбільший сумарний вміст елементів визначено у рижію дрібноплодого траві 5795,11 мг/100 г, а найменший у рижію дрібноплодого насінні 1174,00 мг/100 г.

Згідно даним літератури [160] щодо добової потреби елементів у раціоні людини, можна робити наступні висновки – рижію дрібноплодого трава може

забеспечити цю потребу в кальції, калії, маґнії, силіцію, феруму, манґану. Рижію посівного трава може задовольнити потреби в маґнії та силіції. Рижію посівного насіння може стати джерелом маґнію, феруму та манґану.

Інтегральним критерієм оцінки вибіркового поглинання елементів живлення з ґрунту є коефіцієнт біологічного накопичення (КБН). Якщо його значення більше ніж 1, то це свідчить про високий рівень акумуляції елементів і навпаки.

Найвищі показники КБН були для калію, фосфору та маґнію. Високий рівень акумуляції даних елементів виявлений у рижію дрібноплодого траві і їх КБН складають: К – 15, Р – 2,75 і Mg – 1,07 та у рижію дрібноплодого 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 цих же елементів був значно нижчим на відміну від трави рижію дрібноплодого і дані показники були у рази менші: К – 0,52, Р – 0,3 і Mg – 0,12. Найнижчі показники КБН були для силіцію, феруму і алюмінію.

Ще цікавим є те, що сировині обох рослин знайдено цинк, але в ґрунті його не влалося визначити. Це можна пояснити тим, що прилад має певну чутливість, і можливо у ґрунті є цинк в кількості меншій, ніж прилад має змогу визначити.

3.10 Пігменти

У літературі описана широка фармакологічна активність пігментів. Хлорофіл проявляє антимікробні властивості, його використовують при лікуванні ран та опіків. Хлорофіл також виявляє тонізуючий вплив на організм, стимулює серцеву діяльність, регулює роботу дихального центра. Каротиноїди здатні стабілізувати обмін речовин і підвищувати резистентність організму до інфекцій. До того ж вони беруть участь в окисно-відновних реакціях, нормалізують рівень використання кисню тканинами організму [161].

Кількісний вміст пігментів визначали у 96 % етанольних витяжках трави рижію посівного і рижію дрібноплодого.

Результати кількісного дослідження пігментів представлено у табл. 3.15.

Таблиця 3.15 – Вміст пігментів в сировині видів роду Рижій (n=5, M±m, P<0,05)

Група пігментів	Вміст, у перерахунку на суху сировину, мг/г	
	Рижій посівний	Рижій дрібноплодий
Хлорофіл А	0,69±0,07	0,77±0,05
Хлорофіл В	0,32±0,04	0,37±0,02
Каротиноїди	0,18±0,02	0,20±0,01

Найвищий вміст усіх груп пігментів був у рижію дрібноплодого траві, але він не значно відрізнявся від вмісту відповідних пігментів у рижію посівного траві.

ВИСНОВКИ

1. Вперше проведено комплексне фітохімічне дослідження двох видів роду *Camelina* Crantz – рижію посівного сорту Славутич (*Camelina sativa* (L.) Crantz) та рижію дрібноплодого (*Camelina microcarpa* Andrz).

2. Досліджено фенольний склад сировини обох видів методом ТШХ та ВЕРХ. У траві рижію посівного та у траві рижію дрібноплодого методом ТШХ ідентифіковано рутин та хлорогенову икслоту. У насінні обох видів ідентифіковано рутин.

Методом ВЕРХ підтверджено наявність даних сполук і встановлено, що вміст рутину є вищим у насінні рижію дрібноплодого (0,36±0,01) %, хлорогенової кислоти – у траві рижію дрібноплодого (0,28±0,01) %.

Спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст суми фенольних сполук (флавоноїдів, ГКК, поліфенолів). У результаті даного

дослідження встановлено, що максимальний вміст суми фенольних сполук – у траві рижію посівного: флавоноїдів – (1,17±0,08) %, ГКК – (1,47±0,03) %, поліфенолів – (2,11±0,01) %.

Визначено кількісний вміст вільних аліфатичних органічних кислот у траві та насінні обох видів. Вміст суми вільних органічних кислот був більший у рижію посівного траві (4,08±0,05) %. У насінні обох видів вміст даних сполук кислот був незначний. Спільною органічною кислотою для сировини досліджуваних рослин є щавлева та бензойна кислоти. Також у траві обох представників ідентифіковано яблучну кислоту.

3. Методом ТШХ досліджено мономерний склад полісахаридних фракцій, отриманих із сировини видів роду Рижій. В гідролізатах полісахаридних фракцій рижію посівного трави та насіння було визначено наявність глюкози, галактози та арабінози. В рижію дрібноплодого трави та насіння було визначено наявність галактози, глюкози, арабінози та ксилози.

Проведено кількісне визначення полісахаридних фракцій спектрофотометричним методом та встановлено, що найбільший кількісний вміст полісахаридних фракцій у рижію посівного траві: ВРПС – (3,64±0,07) %, ПР – (2,99±0,14) %, ГЦ – (4,83±0,17) %.

4. Методом ВЕРХ вивчили якісний склад і кількісний вміст амінокислот. У результаті дослідження в обох видах ідентифіковано 17 амінокислот, домінантними сполуками були глутамінова і аспарагінова кислоти. Найбільший вміст цих сполук був у рижію посівного насінні. За сумарним загальним вмістом амінокислот та за вмістом незамінних амінокислот переважає рижію посівного насіння (19,57 г/100 г).

4. За результати ГХ-МС дослідження визначено жирнокислотний склад сировини видів роду рижій, ідентифіковано та встановлено кількісний вміст 12 жирних кислот. Ідентичними компонентами жирнокислотного складу у траві досліджуваних об’єктів були арахінова, пальмітинова, лінолева та ліноленові кислоти. У насінні обох видів спільними ЖК були: арахінова, бегенова, пальмітинова, лігноцеринова, паулінова, ейкозадієнова, лінолева,

ліноленова, ерукова та нервонова кислоти. В результаті дослідження встановлено, що найбільший вміст ненасичених жирних кислот від загального вмісту ЖК у рижію дрібноплодого насінні (87,47 %) та рижію посівного насінні (86,94 %).

5. Встановлено елементний склад сировини представників роду Рижій. Виявлено 19 макро- і мікроелементів, з яких домінують калій, кальцій, фосфор, маґній. Найвищий сумарний вміст елементів визначено у рижію дрібноплодого траві (5795,11 мг/100 г), найменший – у рижію дрібноплодого насінні (1174,00 мг/100 г).

6. Визначено кількісний вміст хлорофілів та каротиноїдів у траві обох видів, який за кількісним вмістом майже не відрізнявся. Найвищий вміст усіх груп пігментів був у рижію дрібноплодого траві (хлорофіл А - 0,77±0,05 мг/г, хлорофіл В - 0,37±0,02 мг/г, каротиноїди - 0,20±0,01 мг/г).

За матеріалами розділу опубліковано роботи [162-168].

РОЗДІЛ 4
ВИВЧЕННЯ МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНОЇ БУДОВИ РИЖІЮ ПОСІВНОГО ТА РИЖІЮ ДРІБНОПЛОДОГО СИРОВИНИ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ЇЇ ЧИСЛОВИХ ПОКАЗНИКІВ І ПАРАМЕТРІВ СТАНДАРТИЗАЦІЇ

4.1. Морфолого-анатомічний аналіз рижію посівного

Важливим етапом розробки МКЯ лікарської рослинної сировини є макро- та мікроскопічні дослідження, які дозволяють ідентифікувати ЛРС та встановити її діагностичні ознаки. Особливо важливо дослідити таксономічно близькі види, виявити основні відмінності між ними та встановити морфолого-анатомічні ознаки сировини кожного виду. Тому перспективним є проведення порівняльного морфолого-анатомічного дослідження обох видів роду рижій з метою їх діагностики [169].

Макроскопічній аналіз

Корінь стрижневий, веретеноподібний, тонкий, у ґрунт проникає на глибину 40—60 см.

Стебло тонке, заввишки 30-80 см, прямостояче, просте або розгалужене в верхній частині (бічне почергове галудження), циліндричне з ребристою поверхнею, опушене жорсткими короткими волосками.

Листки до 10 см довжиною і до 2,5 см шириною, видовжено-ланцетні зі стрілоподібною основою, з зубчастим краєм, чергові, сидячі. Жилкування перистосітчасте. Листки помірноопушені короткими волосками.

Суцвіття – довга китиця, довжиною 13-17 см. Квітки дрібні, правильні, роздільнопелюсткові, блідо-жовті, сидять на довгих ніжках, 1-2 см, зібрані по 20-40 шт. Зав'язь верхня, двогнізда. Чашечка з чотирьох видовжено-яйцеподібних, зелених чашолистків. Віночок хрестоподібний з чотирьох обернено-яйцеподібних пелюсток.

Плід ценокарпний – стручечок до 10 мм завдовжки та до 5 мм завширшки, обернено-яйцеподібний з коротким носиком до 2-2,5 мм, з двома опуклими стулками, що розкриваються при достиганні. В стручечку 8-12 насінин.

Насіння дрібне довжиною до 2 мм, довгасто-овальне, від жовто-оранжевого до коричневого кольору, з гладенькою поверхнею і поздовжніми борозенками.

Вид введений у культуру (рис.4.1).

Рисунок 4.1 – Макроскопічні ознаки *Camelina sativa (L.) Crantz*

Мікроскопічний аналіз

Листок. Листкова пластинка дорзо-вентрального типу, амфістоматична. Епідерма однорядна. Клітини верхньої епідерми паренхімні, звивисті, оболонки клітин рівномірно потовщені (рис. 4.2). Продиховий апарат анізоцитного типу (продихи оточені трьома клітинами, одна з яких менша за інші), продихи дрібні, багаточисельні.

Нижня епідерма представлена більш звивистостінними клітинам, ніж верхня, що мають рівномірно потовщені оболонки (рис. 4.3). Продихи нижньої епідерми більші за розмірами і більш чисельні, ніж продихи верхньої епідерми.

Волоски багаточисельні. Зустрічаються прості, одноклітинні, конічні волоски, з широкою основою, гострою верхівкою, з досить великою порожниною. Поверхня волосків гладенька або злегка бородавчаста. Також зустрічаються двокінцеві та трикінцеві волоски з променями, які піднімаються над поверхнею листка (рис. 4.2, рис. 4.3).

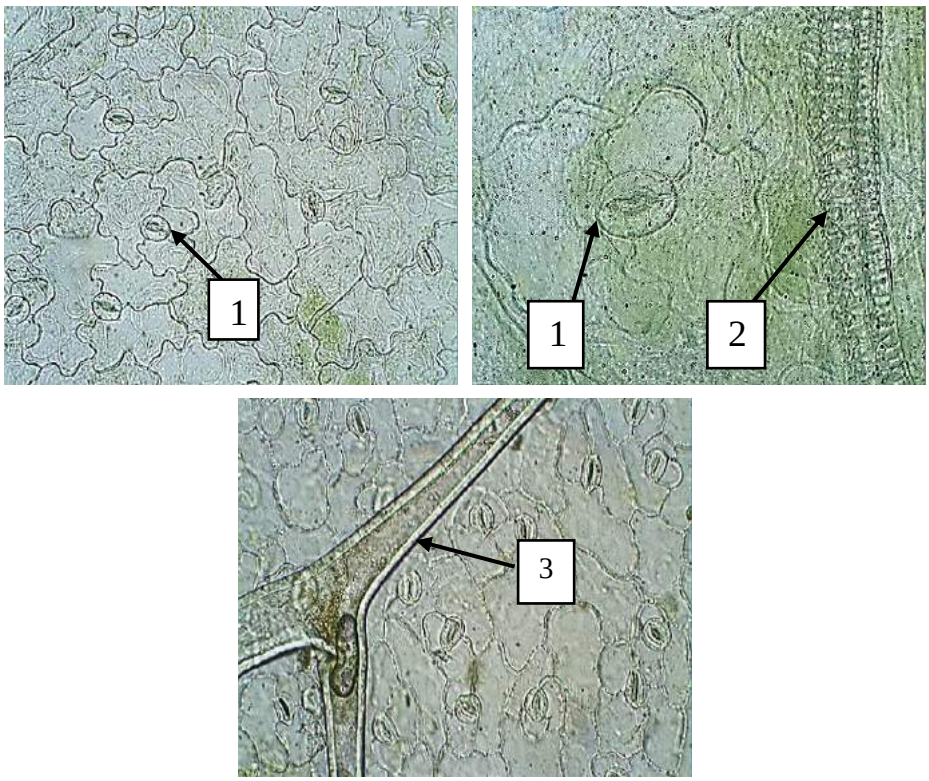


Рисунок 4.2 – Фрагменти верхньої епідерми листкової пластинки рижію посівного: 1 – продих, 2 – судинна система, 3 – простий одноклітинний двокінечний волосок

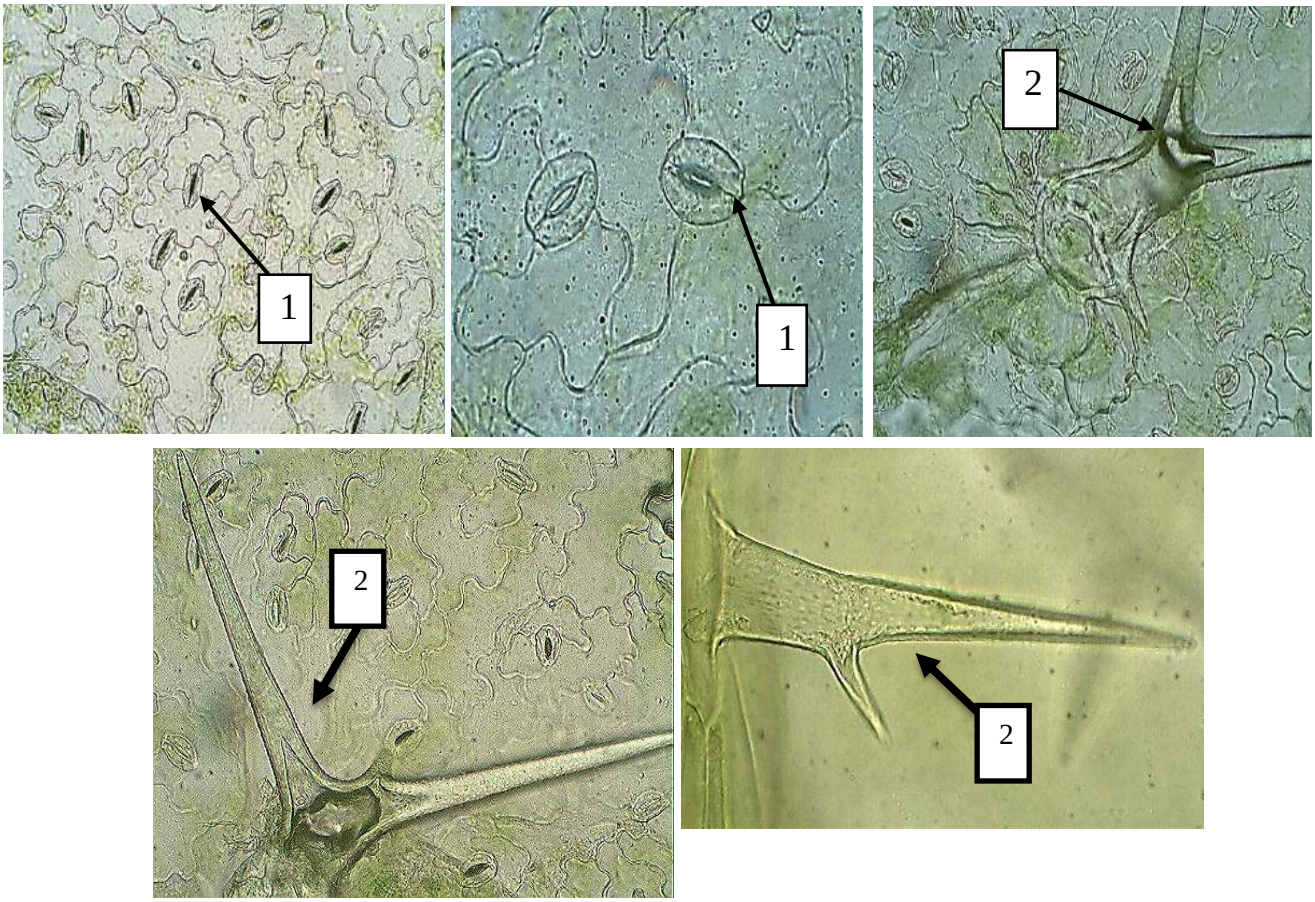


Рисунок 4.3 – Фрагменти нижньої епідерми листкової пластинки рижію посівного:

1 – продих, 2 – простий одноклітинний двокінечний волосок

Черешок. Головна жилка на поперечному зрізі округла з виступаючими вверх лопатями листкової пластинки. Абаксіальна сторона опукла, а поверхня адаксіальної сторони – увігнута.

На поперечному зрізі видно густоопушену епідерму, а під нею механічну тканина – склеренхіму. Трихоми прості одно-, дво-, трикінечні.

Основну площу черешка займає добре розвинена паренхіма, яка представлена округлими, тонкостінними клітинами різного розміру. Судинно-волокнистий пучок колатеральний, містить провідні тканини – флоему і ксилему. (рис. 4.4).

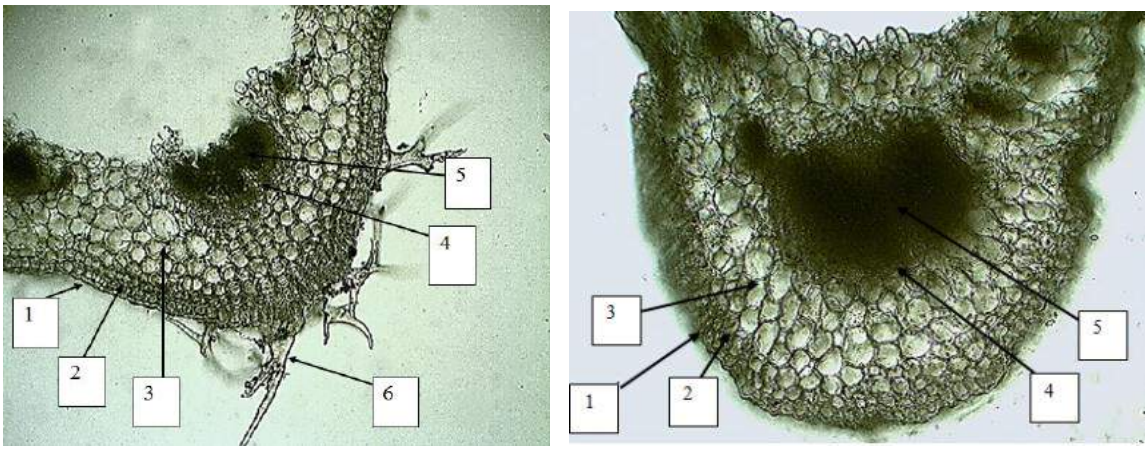


Рис. 4.4 Фрагменти поперечного зрізу черешка: 1 – епідерма, 2 – склеренхіма, 3 – паренхіма, 4 – флоема, 5 – ксилема, 6 – волосок

Стебло. Епідерма стебла з прозенхімних, прямостінних клітин, продихи дрібні, зустрічаються рідко. Також зустрічаються багаточисельні короткі прості волоски, одно-, дво-, трикінечні. На поперечному зрізі стебло має округлу форму. Епідерма одношарова. Під епідермою знаходиться механічна тканина – коленхіма, а під нею – первинна кора (екзодерма, мезодерма, ендодерма). В центральному осьовому циліндрі знаходяться судинно-волокнисті пучки, які чергуються з ділянками механічних волокон. Тип будови – перехідний. Над пучками розташовані групи склеренхімних волокон. Клітини серцевини досить великі, паренхімні, тонкостінні (рис. 4.5).

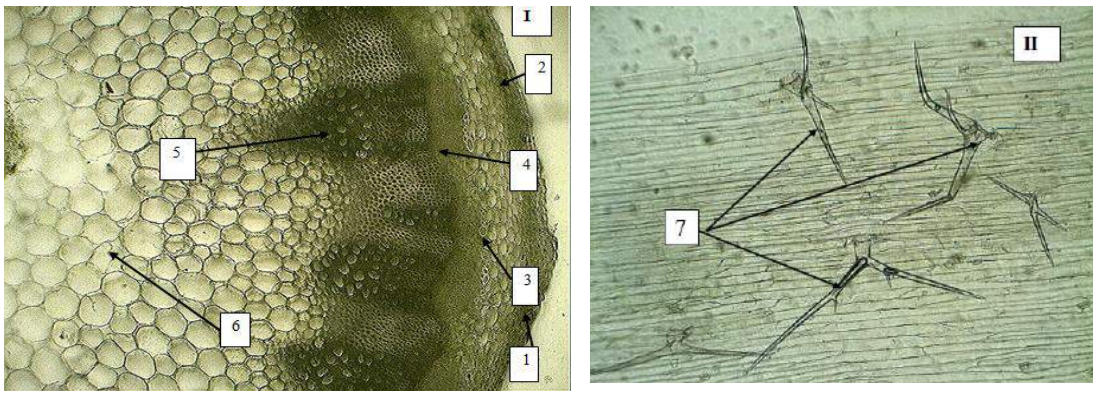


Рисунок 4.5 – Фрагменти стебла: I – поперечний зріз, II – поздовжній зріз: 1 – епідерма, 2 – коленхіма, 3 – первинна кора, 4 – флоема, 5 – ксилема, 6 – серцевинна паренхіма, 7 – прості дво-, трикінечні волоски

Квітка. Внутрішня епідерма пелюстки представлена паренхімними клітинами, присутні сосочкоподібні вирости. Зовнішня епідерма представлена звивистостінними клітинами. Біля основи пелюстки клітини епідерми мають витягнуту вздовж осі пелюстки форму. Оболонки клітин майже прямі. Спостерігається закономірність, що ближче до краю пелюстки випадають елементи флоеми і залишається судинно-волокнистий пучок з елементами ксилеми у вигляді спіральних судин (рис. 4.6).

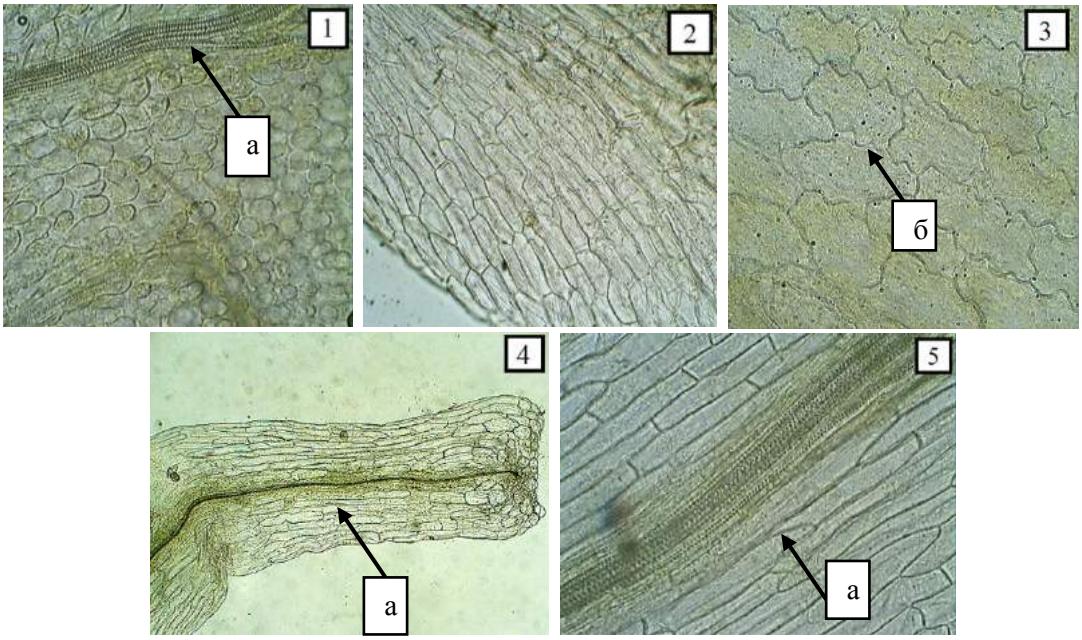


Рисунок 4.6 – Фрагменти квітки:

1 – внутрішня епідерма пелюстки, 2 – край пелюстки, 3 – зовнішня епідерма пелюстки, 4, 5 – судинно-волокнистий пучок; а – елементи ксилеми у вигляді спіральних судин, б – звивистостінні клітини

4.2. Морфолого-анатомічний аналіз рижію дрібноплодого

Макроскопічний аналіз

Корінь стрижневий, веретеноподібний, тонкий, у ґрунт проникає на глибину 40—60 см.

Стебло заввишки 30-80 см, тонке, прямостояче, просте або розгалужене від основи чи від середини, циліндричне з ребристою поверхнею, густо опушене більш довгими щетинистими жорсткими волосками.

Прикореневі листки продовгувато-овальні в розетці, сохнуть після запилення. Стеблові листки сидячі, притиснуті до стебла, чергові, опушені, видовжено-ланцетні зі стрілоподібною основою, 5-7 см довжиною і 1-1,5 см шириною, з довгими вушками, краї цілі, по краю волоски, кінчики гострі.

Суцвіття – довга китиця. Квітки дрібні, правильні, роздільнопелюсткові, блідо-жовті, пелюстки 2,5-3 мм. Чашечка з чотирьох видовжено-яйцеподібних, зелених чашолистків. Віночок хрестоподібний з чотирьох обернено-яйцеподібних пелюсток.

Плід – стручечок 4-7 мм завдовжки та 3-4 мм завширшки, грушоподібний, подовжений, з гострим кінчиком, з двома опуклими стулками, що розкриваються. Плоди багаточисельні в густих суцвіттях. У стручечку 10-12 насінин.

Насіння дрібне довжиною до 1,5 мм, довгасто-овальне, від червонувато-коричневого до коричневого кольору (рис. 4.7).

Рисунок 4.7 – Макроскопічні ознаки *Camelina microcarpa Andrz.*

Мікроскопічний аналіз

Листок. Встановлено, що листкова пластинка амфістоматична (продихи з обох сторін листка). На нижній епідермі клітини паренхімні, бічні стінки звивисті, тонкі. Мезофіл пронизаний мережею жилок.

Продихів багато, за типом анізоцитні. Клітини верхньої епідерми крупніші, їх бічні стінки менш звивисті, чисельність менша

На верхній і нижній епідермі є покривні трихоми. Волоски прості, 1-3 конечні, одноклітинні, конічні, з широкою основою, гострою верхівкою, з досить великою порожниною. Поверхня волосків гладенька або злегка бородавчаста (рис. 4.8).

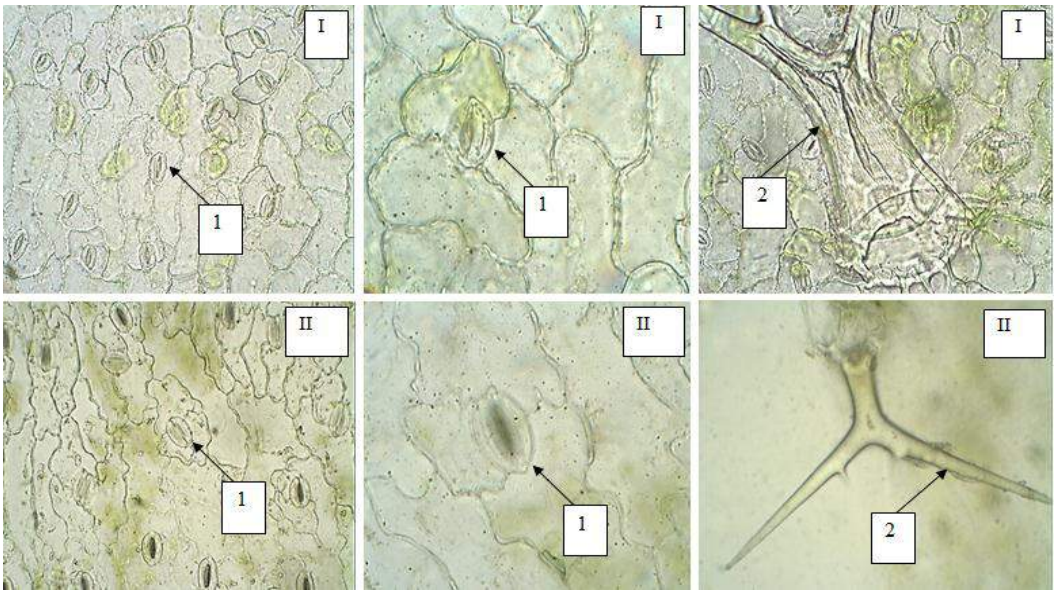


Рисунок 4.8 – Препарат з поверхні листової пластинки рижію дрібноплодого: I– верхня епідерма, II – нижня епідерма; 1 – продих, 2 – простий одноклітинний двокінечний волосок

Черешок на поперечному зрізі овально-напівкулястий. Абаксіальна сторона опукла, а поверхня адаксіальної сторони – увігнута. На поперечному зрізі видно епідерму, під нею склеренхіма. Основну площу черешка займає паренхіма. Провідну систему складає колатеральний судинно-волокнистий пучок, що містить флоему і ксилему. Також зустрічаються одно-, дво-, трикінечні прості волоски (рис. 4.9).

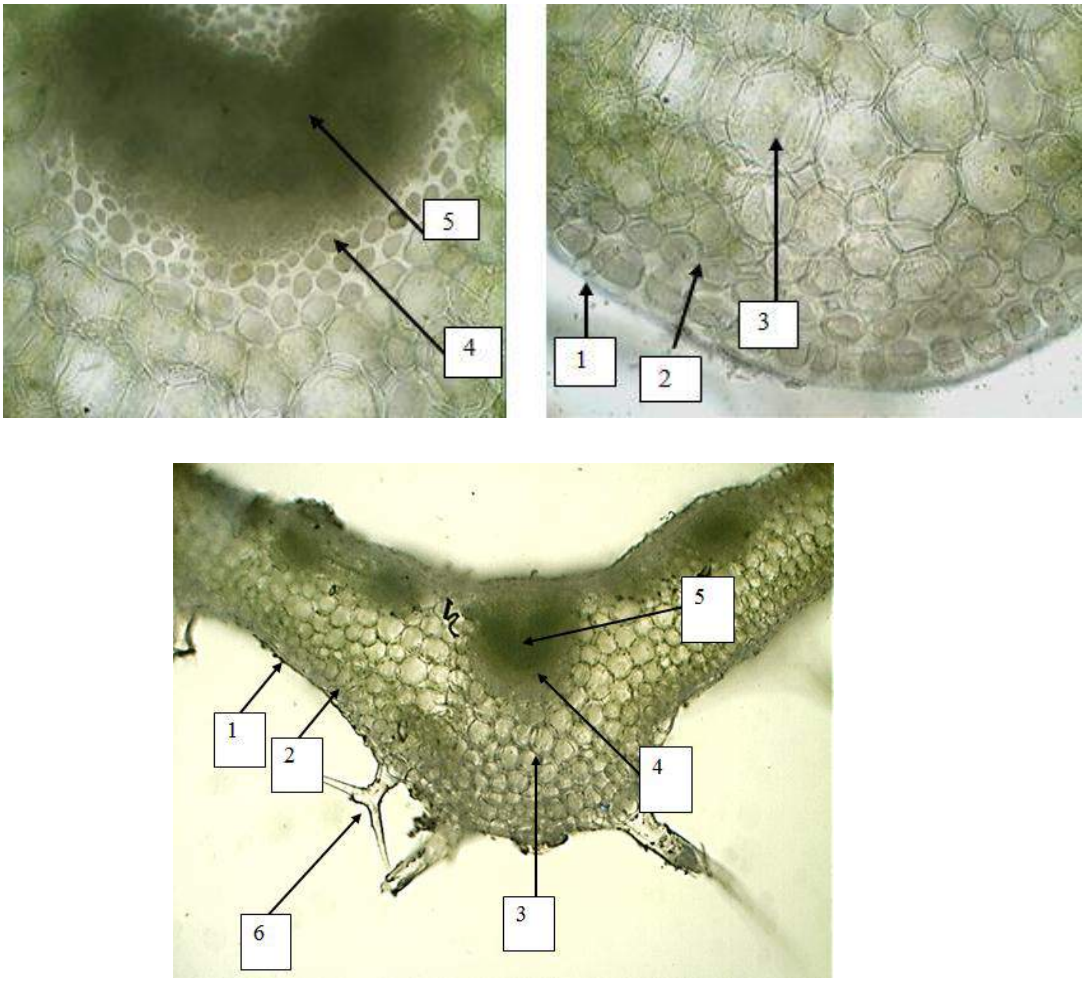


Рисунок 4.9 – Препарат поперечного зрізу черешка: 1 – епідерма, 2 – склеренхіма, 3 – паренхіма, 4 – флоема, 5 – ксилема, 6 – волосок

Стебло на зрізах округле. Епідермальні клітини стебла прозенхімні, прямостінні, продихи дрібні, зустрічаються рідко. Також зустрічаються багаточисельні короткі прості волоски, одно-, дво-, трикінечні. Епідерма одношарова. Під епідермою знаходиться механічна тканина – коленхіма, а під нею – первинна кора (екзодерма, мезодерма, ендодерма) (рис. 4.10).

У центральному осьовому циліндрі знаходяться судинно-волокнисті пучки, які чергуються з ділянками механічних волокон. Тип будови – перехідний. Над пучками розташовані групи склеренхімних волокон. Клітини серцевини досить великі, паренхімні, тонкостінні (рис. 4.10).

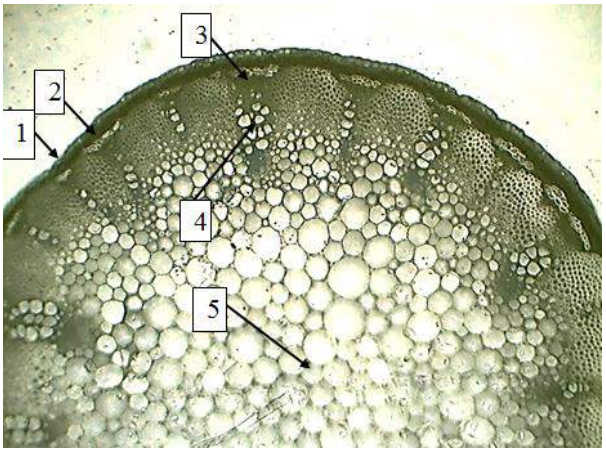


Рисунок 4.10 – Препарат із стебла: 1 – епідерма, 2 – коленхіма, 3 – флоема, 4 – ксилема, 5 – серцевинна паренхіма

Квітка. Внутрішня епідерма пелюстки являє собою паренхімні клітини. Зовнішня епідерма представлена звивистостінними клітинами. Біля основи пелюстки оболонки клітини епідерми майже прямі та мають витягнуту вздовж осі пелюстки форму. Ближче до краю пелюстки випадають елементи флоеми і залишається судинно-волокнистий пучок з елементами ксилеми у вигляді спіральних судин (рис. 4.11).

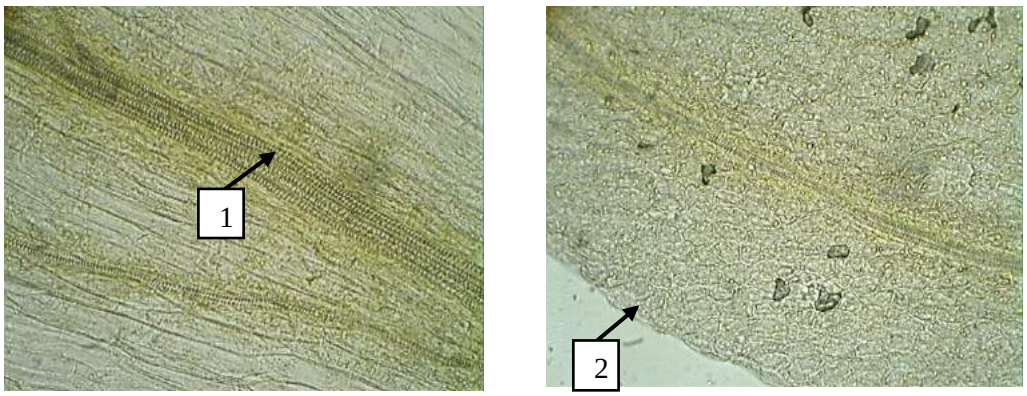


Рисунок 4.11 – Препарат квітки:
1 - елементи ксилеми у вигляді спіральних судин, 2 – край пелюстки

Отже, в результаті дослідження виявлено спільні і відмінні ознаки між рижієм посівним і рижієм дрібноплодим.

Спільні макроскопічні ознаки. Обидві рослини приблизно однакової висоти і форми. Суцвіття в обох представників китиця, квітки маленькі, світло-жовтого кольору. Листя сидяче, чергове, опушене, видовжено-ланцетне зі стрілоподібною основою.

Відмінні макроскопічні ознаки. Рижій посівний – ярова культура. Рижій дрібноплодий – озима культура, тому він висаджується восени і листя утворює прикореневу розетку, яка засихає при запиленні. Листок рижію посівного більший за розмірами, має зубчастий край, край листка рижію дрібноплодого – цільний. Плід – стручечок, відрізняється формою і розміром: у рижію посівного більший і обернено-яйцеподібний, у рижію дрібноплодого – дещо менший і грушоподібної форми. Насіння також відрізняється розміром та кольором: у рижію посівного більше та жовто-оранжевого кольору, навіть рудого. У рижію дрібноплодого насіння дрібніше та має темно-коричневий колір.

Спільні мікроскопічні ознаки. 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-волокністі пучки, тип будови перехідний. В пелюстках судинно-волокнистий пучок представлений спіральними судинами. Що стосовно відмінних мікроскопічних ознак, то можна сказати, що відмінностей майже немає.

4.3. Визначення показників якості в сировині обох видів

З метою встановлення доброякісності ЛРС визначали її показники якості відповідно до вимог нормативної документації – ДФУ 2.0. Визначали втрату в масі при висушуванні, вміст золи загальної та золи, нерозчинної у 10 % розчині хлористоводневої кислоти, та вміст екстрактивних речовин [118].

Визначення втрати в масі при висушуванні

Показник втрати в масі при висушуванні сировини є обов'язковим випробуванням для рослинної сировини за вимогами ДФУ 2.2.28.

Втрата в масі при висушуванні була більша у рижію дрібноплодого траві (6,87±0,01) % та у рижію посівного траві (6,85±0,02) %. У рижію посівного насінні цей показник склав (5,15±0,02) %, у рижію дрібноплодого насінні – (5,84±0,01) %.

Визначення вмісту золи

Вміст золи був більший у рижію посівного насінні (4,72±0,01) % та у рижію посівного траві (4,41±0,03) %. У рижію дрібноплодого насінні цей показник склав (4,16±0,02) %, у рижію дрібноплодого траві – (4,21±0,01) %.

Визначення золи, нерозчинної в 10% розчині хлористоводневої кислоти

Вміст золи нерозчинної в хлористоводенвій кислоті був більший у рижію дрібноплодого траві (1,68±0,01)% та у рижію посівного насінні (1,57±0,01) %. У рижію дрібноплодого насінні цей показник склав (1,19±0,01) %, у рижію посівного траві – (1,21±0,01) %.

Визначення вмісту екстрактивних речовин

Вміст екстрактивних речовин був більший у рижію посівного траві (23,57±0,15) %, у насінні – (19,25±0,11) %. У рижію дрібноплодого траві (21,84±0,14) %, у насінні – (18,32±0,10) %.

4.4 Визначення технологічних параметрів сировини

Процес екстрагування БАР з ЛРС має складний фізико-хімічний характер, зумовлений взаємодією молекул екстрагенту – розчинника з молекулами клітинних структур ЛРС і залежить від багатьох факторів. Тому одним з етапів розробки технології одержання субстанцій є визначення технологічних параметрів сировини, а саме – насипної маси, питомої маси, об'ємної маси,

порізності, пористості сировини, вільного об’єму шару, коефіцієнта поглинання екстрагенту. Методики визначення параметрів наведено у п. 2.5.

Результати визначення технологічних параметрів рижію посівного трави наведено в таблиці 4.1.

Таблиця 4.1 – Технологічні параметри рижію посівного сорту Славутич трави

Найменування технологічних параметрів	Одиниці виміру	Результати визначення, n=5
Середній розмір часток	мм	2-4
Питома маса	г/см^3	1,56±0,05
Об’ємна маса	г/см^3	0,29±0,02
Насипна маса	г/см^3	0,35±0,04
Пористість сировини	-	0,81±0,09
Порізність шару	-	0,12±0,01
Вільний об’єм шару	-	3,46±0,05
Коефіцієнт поглинання екстрагенту:	-	
- вода		3,23±0,08
- 20% етанол		3,12±0,05
- 40% етанол		2,85±0,06
- 50% етанол		2,65±0,04
- 70% етанол		2,11±0,03
- 96% етанол		1,68±0,07

4.5 Стандартизація рижію посівного трави

Нами було проведено дослідження 5 серій трави *C. sativa* на відповідність розробленим параметрам стандартизації (таб. 4.4).

Проєкт МКЯ

РИЖІЮ ПОСІВНОГО ТРАВА

Camelinae sativae herba

Опис: суміш різаних або частково подрібнених частин стебел, листків, суцвіть *Camelina sativa (L.) Crantz.*

Вміст: Не менше 1,00 % флавоноїдів у перерахунку на рутин ($C_{27}H_{30}O_{16}$; *М.м. 610,52*) та абсолютно суху сировину.

Не менше 1,30 % гідроксикоричних кислот в перерахунку на кислоту хлорогенову ($C_{16}H_{18}O_9$; *М.м. 354,31*) та абсолютно суху сировину.

Не менше 2,00 % поліфенольних сполук в перерахунку на кислоту галову ($C_7H_6O_5$; *М.м. 170,12*) та абсолютно суху сировину.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Тонкошарова хроматографія

Фенольні сполуки

Випробуваний розчин. До 2,0 г подрібненої на порошок сировини додають 20 мл 70% етанолу Р, витримують протягом 2 год, періодично перемішуючи, фільтрують.

Розчин порівняння 1. По 5 мг ФСЗ кислот гідроксикоричних (хлорогенової) розчиняють у *метанолі Р* і доводять об’єм розчину тим самим розчинником до 10 мл.

Розчин порівняння 2. По 5 мг ФСЗ флавоноїдів (рутин) розчиняють *у* метанолі Р і доводять об’єм розчину тим самим розчинником до 10 мл.

Пластинка. ТШХ пластинка «Сорбфіл» (*Sorbfil peates* 10х15, Росія).

Рухома фаза: н-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: за температури 100-105 ºС.

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

Результати: нижче наведено послідовність зон на хроматографах випробовуваного розчину та розчинів порівняння (рис. 4.12).

На хроматограмі випробуваного розчину в середній частині має проявлятися зона із блакитною флуоресценцією, яка за кольором та розташуванням відповідає зоні кислоти гідроксикоричної (хлорогенової) на хроматограмі розчину порівняння. Також на хроматограмах має проявлятися зона із жовто-коричневлю флуоресценцією, які за кольором та розташуванням відповідає зоні флавоноїдів (рутину) на хроматограмі розчину порівняння.

На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші флуоресціюючі зони.

Верхня частина пластинки	
	Рожева флуоресціююча зона Жовто-коричнева флуоресціююча зона
Кислота хлорогенова (блакитна флуоресціююча зона *Рутин* (жовто-коричнева флуоресціююча зона)	Блакитна флуоресціююча зона Жовто-коричнева флуоресціююча зона
Розчин порівняння	**Випробовуваний розчин**

Рисунок 4.12 – Схема хроматографічного дослідження випробовуваного розчину і розчину порівняння

3. ВИПРОБОВУВАННЯ

3.1. Загальна зола. (Визначення проводиться відповідно до методики ДФУ 2.4.16).

Вміст загальної золи має бути не більше 4,50 %.

3.2. Зола, нерозчинна в хлористоводневій кислоті. (Визначення проводиться відповідно до методики ДФУ 2.8.1).

Вміст золи, нерозчинної у хлористоводневій кислоті має бути не більше 2,00 %.

3.3. Екстрактивні речовини. Визначення проводиться відповідно до методики ДФУ 2.0.3, яка наведена у монографії «Полин гіркий[N]».

Вміст екстрактивних речовин має бути не менше 20,0 %.

3.4. Втрата в масі при висушуванні. Визначення проводиться згідно з методикою ДФУ 2.2.32.

Втрата в масі при висушуванні має бути не більше 7,00 %.

3.5. Сторонні домішки. Визначення проводять згідно з методикою ДФУ 2.8.2.

Вміст сторонніх домішок має бути не більше 2,00 %.

4. КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

4.1. Сума флавоноїдів

Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів у перерахунку на рутин на 5 серіях сировини проводили за методикою, наведеною у п. 2.2.

Кількісний вміст суми флавоноїдів, визначений спектрофотометричним методом, має бути не менше 1,00 %.

Сума похідних гідроксикоричних кислот

Згідно з методикою ДФУ 2.0.3, яка наведена у монографії «Кропиви листя».

Кількісний вміст суми похідних гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту, визначений спектрофотометричним методом, має бути не менше 1,30 %.

Сума поліфенольних сполук

Визначення кількісного вмісту суми поліфенольних сполук у перерахунку на галову кислоту на 5 серіях сировини проводили за методикою, наведеною у п. 2.2.

Кількісний вміст суми поліфенолів, визначений спектрофотометричним методом, має бути не менше 2,00 %.

Таблиця 4.4 – Показники якості рижію посівного трави відповідно до вимог ДФУ

Параметр	Серія				
	1	2	3	4	5
Макроскопічні ознаки	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ
Мікроскопічні ознаки	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ
Ідентифікація фенольні сполуки	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ
Втрата в масі при висушуванні не більше 7,00 %	6,85 %	6,78 %	6,58 %	6,89 %	6,91 %
Зола загальна не більше 4,50%	4,14 %	4,13 %	4,21 %	4,32 %	4,21 %
Гідроксикоричних кислот не менше 1,30 %	1,42 %	1,56 %	1,42 %	1,45 %	1,49 %
Флавоноїдів не менше 1,00 %	1,41 %	1,01 %	1,32 %	1,01 %	1,29 %
Поліфенольних сполук не менше 2,00 %	2,10 %	2,12 %	2,10 %	2,11 %	2,11 %

4.6 Стандартизація рижію дрібноплодого трави

Нами було проведено дослідження 5 серій трави *C. microcarpa* на відповідність розробленим параметрам стандартизації (таб. 4.5).

Проєкт МКЯ

РИЖІЮ ДРІБНОПЛОДОГО ТРАВА

Camelinae microcarpae herba

Опис: суміш різаних або частково подрібнених частин пагонів, листків, суцвіть *Camelina microcarpae Andrz.*

Вміст: Не менше 0,90 % флавоноїдів у перерахунку на рутин ($C_{27}H_{30}O_{16}$; *М.м. 610,52*) та абсолютно суху сировину.

Не менше 0,65 % гідроксикоричних кислот в перерахунку на хлорогенову кислоту ($C_{16}H_{18}O_9$; *М.м. 354,31*) та абсолютно суху сировину.

Не менше 1,30 % поліфенольних сполук в перерахунку на галову кислоту ($C_7H_6O_5$; *М.м. 170,12*) та абсолютно суху сировину.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Тонкошарова хроматографія

Фенольні сполуки

Випробуваний розчин. До 2,0 г подрібненої на порошок сировини додають 20 мл 70 % етанолу Р, витримують протягом 2 год, періодично перемішуючи, фільтрують.

Розчин порівняння 1. По 5 мг ФСЗ кислот гідроксикоричних (хлорогенової) розчиняють у метанолі Р і доводять об’єм розчину тим самим розчинником до 10 мл.

Розчин порівняння 2. По 5 мг ФСЗ флавоноїдів (рутин) розчиняють *у метанолі Р* і доводять об’єм розчину тим самим розчинником до 10 мл.

Пластинка. ТШХ пластинка «Сорбфіл» (*Sorbfil peates* 10х15, Росія).

Рухома фаза: н-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: за температури 100-105 ºС.

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

Результати: нижче наведено послідовність зон на хроматографах випробовуваного розчину та розчинів порівняння (рис. 4.13). На хроматограмі випробуваного розчину в середній частині має проявлятися зона із блакитною флуоресценцією, яка за кольором та розташуванням відповідає зоні кислоти гідроксикоричної (хлорогенової) на хроматограмі розчину порівняння. Також на хроматограмах має проявлятися зона із жовто-коричневлю флуоресценцією, які за кольором та розташуванням відповідає зоні флавоноїдів (рутину) на хроматограмі розчину порівняння.

На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші флуоресціюючі зони.

Верхня частина пластинки	
	Рожева флуоресціююча зона
	Жовто-коричнева флуоресціююча зона
Кислота хлорогенова (блакитна флуоресціююча зона	Блакитна флуоресціююча зона
Рутин (жовто-коричнева флуоресціююча зона)	Жовто-коричнева флуоресціююча зона
Розчин порівняння	**Випробовуваний розчин**

Рисунок 4.13 – Схема хроматографічного дослідження випробовуваного розчину і розчину порівняння

ВИПРОБОВУВАННЯ

Загальна зола. (Визначення проводиться відповідно до методики ДФУ 2.4.16). Вміст загальної золи має бути не більше 4,50 %.

Зола, нерозчинна в хлористоводневій кислоті. (Визначення проводиться відповідно до методики ДФУ 2.8.1). Вміст золи, нерозчинної у хлористоводневій кислоті має бути не більше 2,00 %.

Екстрактивні речовини. Визначення проводиться відповідно до методики ДФУ 2.0.3, яка наведена у монографії «Полин гіркий^{N}». Вміст екстрактивних речовин має бути не менше 20,0 %.

Втрата в масі при висушуванні. Визначення проводиться згідно з методикою ДФУ 2.2.32. Втрата в масі при висушуванні має бути не більше 7,00 %.

3.5. Сторонні домішки. Визначення проводять згідно з методикою ДФУ 2.8.2. Вміст сторонніх домішок має бути не більше 1,00 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Сума флавоноїдів

Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів у перерахунку на рутин на 5 серіях сировини проводили за методикою, наведеною у п. 2.2.

Кількісний вміст суми флавоноїдів, визначений спектрофотометричним методом, має бути не менше 0,90 %.

Сума похідних гідроксикоричних кислот

Згідно з методикою ДФУ 2.0.3, яка наведена у монографії «Кропиви листя».

Кількісний вміст суми похідних гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту, визначений спектрофотометричним методом, має бути не менше 0,65 %.

Сума поліфенольних сполук

Визначення кількісного вмісту суми поліфенольних сполук у перерахунку на галову кислоту на 5 серіях сировини проводили за методикою, наведеною у п. 2.2.

Кількісний вміст суми поліфенолів, визначений спектрофотометричним методом, має бути не менше 1,30 %.

Таблиця 4.5 – Показники якості рижію дрібноплодого трави відповідно до вимог ДФУ

Параметр	Серія				
	1	2	3	4	5
Макроскопічні ознаки	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ
Мікроскопічні ознаки	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ
Ідентифікація фенольні сполуки	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ
Втрата в масі при висушуванні не більше 7,00 %	6,86 %	6,68 %	6,51 %	6,47 %	6,59 %
Зола загальна не більше 4,5 %	4,24 %	4,17 %	4,28 %	4,56 %	4,31 %
Флавоноїдів не менше 0,90 %	1,00 %	0,94 %	0,96 %	0,98 %	0,95 %
Гідроксикоричних кислот не менше 0,65 %	0,71 %	0,64 %	0,81 %	0,70 %	0,75 %
Поліфенольних сполук не менше 1,30 %	1,47 %	1,33 %	1,46 %	1,35 %	1,40 %

ВИСНОВКИ

1. Вивчено морфологічні особливості сировини рижію посівного сорту Славутич та рижію дрібноплодого. Мікродіагностичними ознаками трави видів роду Рижій є наявність продихів анізоцитного типу. Волоски багаточисельні, одно-, дво- тра трикінцеві. Зустрічаються прості, одноклітинні, конічні волоски, з широкою основою, гострою верхівкою, з досить великою порожниною. В центральному осьовому циліндрі стебла знаходяться судинно-волокнисті пучки, які чергуються з ділянками механічних волокон. Тип будови – перехідний.

Визначено характерні діагностичні ознаки даної сировини, які використано при розробці проєкту методів контролю якості на нову лікарську рослинну сировину «Рижію посівного сорту Славутич трава» та «Рижію дрібноплодого трава».

2. З метою розробки проєктів МКЯ на нову лікарську рослинну сировину встановлено основні парамметри стандартизації відповідно до вимог ДФУ 5 серій рижію посівного та рижію дрібноплодого трави: макро- та мікроскопічний аналіз, ідентифікація рутину та кислоти хлорогенової методом ТШХ, кількісне визначення суми флавоноїдів, кислот гідроксикоричних та поліфенолів, показники якості (зольність, вміст сторонніх домішок, втрата в масі при висушуванні, вміст екстрактивних речовин).

За матеріалами розділу опубліковано роботи [170-172].

РОЗДІЛ 5
ОДЕРЖАННЯ СУБСТАНЦІЙ З СИРОВИНИ РИЖІЮ ПОСІВНОГО ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ

За результатами проведених досліджень, а саме за вмістом фенольних сполук, встановлено, що найбільш перспективним видом для використання в медицині і фармації є рижій посівний сорту Славутич.

Вибір одержання біологічно активної субстанції на користь густого екстракту зроблений на тій підставі, що економічно невигідно готувати настойку чи рідкий екстракт (через витрати екстрагенту та енергоресурсів), а сухий екстракт відрізняється високою гігроскопічністю і може швидко змінювати свої фізико-хімічні параметри. Окрім того, густий екстракт, що має економічні переваги і досить тривалий термін зберігання (2 роки), також може використовуватися як лікарська субстанція при виготовленні різних лікарських форм для внутрішнього і зовнішнього застосування, що може розширити асортимент фітопрепаратів [173].

5.1 Одержання субстанції з рижію посівного трави та дослідження її хімічного складу

Для розробки оптимальної технології одержання субстанції з трави рижію посівного було вивчено вплив екстрагента на повноту вилучення БАР із рослинної сировини, вивчено якісний склад і кількісний вміст основних груп БАР отриманих субстанцій.

Враховуючи, що у траві рижію посівного значний вміст фенольних сполук, при одержанні субстанції акцентували увагу на екстрагуванні даних БАР. З метою вибору екстрагента для одержання субстанції проаналізовано настойки, які виготовляли використовуючи як екстрагент етанол різної концентрації: 20 %, 40 %, 50 %, 70 %, 96 %. Настойки готували методом дробної мацерації протягом 3 діб. Збереженню термолабільних екстрактивних

речовин та мінімальним затратам енергоносіїв сприяло настоювання сировини при кімнатній температурі. Отримані витяги об'єднували, відстоювали не менше 2 діб та фільтрували.

В одержаних настойках визначали вихід екстрактивних речовин та спектрофотометричним методом кількісний вміст суми флавоноїдів та гідроксикоричних кислот. Результати досліджень представлено в табл. 5.1, 5.2, 5.3.

Таблиця 5.1 – Вміст екстрактивних речовин у траві рижію посівного

Співвідношення ЛРС – готовий продукт	Екстрагент	у 100 мл настойки, %, n=5	у перерахунку на суху ЛРС, %, n=5
1:5	20% етанол	2,35±0,02	12,49±0,18
	40% етанол	**2,42±0,03**	12,92±0,41
	50% етанол	2,34±0,01	12,45±0,19
	70% етанол	2,05±0,04	10,89±0,41
	96% етанол	0,73±0,01	3,89±0,24
1:10	20% етанол	1,77±0,04	18,77±0,10
	40% етанол	2,08±0,01	22,16±0,32
	50% етанол	1,71±0,04	18,15±0,21
	70% етанол	1,61±0,02	17,15±0,44
	96% етанол	0,78±0,01	8,31±0,41
1:20	20% етанол	0,95±0,04	20,23±0,19
	40% етанол	1,18±0,03	**25,03±0,32**
	50% етанол	1,06±0,04	22,43±0,44
	70% етанол	1,00±0,01	21,25±0,21
	96% етанол	0,35±0,02	7,39±0,11

Найбільший вміст екстрактивних речовин у перерахунку на суху сировину відзначається у екстракті, отриманому з використанням 40 % етанолу

та при співвіднешенні 1:20. В той час найбільший вміст екстрактивних речовин у перерахунку на 100 мл настойки був в екстракті, отриманому теж з 40 % етанолу, але при співвідношенні 1:5.

Таблиця 5.2 – Вміст флавоноїдів в перерахунку на рутин у траві рижію посівного (n=5, M±m, P<0,05)

Співвідношення ЛРС – готовий продукт	Екстрагент	у 100 мл настойки, %	у перерахунку на суху ЛРС, %
1:5	20% етанол	0,04±0,001	0,23±0,016
	40% етанол	0,09±0,002	0,47±0,017
	50% етанол	0,11±0,017	0,56±0,013
	70% етанол	**0,14±0,016**	0,73±0,018
	96% етанол	0,05±0,002	0,26±0,012
1:10	20% етанол	0,04±0,001	0,45±0,017
	40% етанол	0,08±0,004	0,89±0,039
	50% етанол	0,06±0,003	0,63±0,057
	70% етанол	0,09±0,003	0,93±0,012
	96% етанол	0,01±0,002	0,14±0,011
1:20	20% етанол	0,03±0,001	0,61±0,023
	40% етанол	0,06±0,002	1,16±0,019
	50% етанол	0,05±0,001	1,15±0,057
	70% етанол	0,05±0,001	**1,17±0,022**
	96% етанол	0,02±0,001	0,48±0,012

Найбільший вміст флавоноїдів у перерахунку на суху сировину відзначається у екстракті, отриманому з використанням 70 % етанолу та при співвіднешенні 1:20. В той же час, найбільший вміст флавоноїдів в перерахунку на 100 мл настойки був в екстракті приготованому теж на 70 % етанолі, але при співвіднешенні 1:5.

Таблиця 5.3 – Вміст кислот гідроксикоричних у перерахунку на кислоту хлорогенову у траві рижію посівного (n=5, M±m, P<0,05)

Співвідношення ЛРС – готовий продукт	Екстрагент	у 100 мл настойки, %	у перерахунку на суху ЛРС, %
1:5	20% етанол	0,05±0,001	0,26±0,028
	40% етанол	0,05±0,002	0,27±0,017
	50% етанол	0,06±0,001	0,31±0,025
	70% етанол	**0,07±0,002**	0,37±0,017
	96% етанол	0,03±0,001	0,17±0,019
1:10	20% етанол	0,04±0,001	0,47±0,025
	40% етанол	0,04±0,001	0,43±0,014
	50% етанол	0,06±0,001	0,61±0,026
	70% етанол	0,04±0,001	0,40±0,017
	96% етанол	0,04±0,001	0,04±0,016
1:20	20% етанол	0,03±0,001	0,59±0,022
	40% етанол	0,04±0,001	0,89±0,045
	50% етанол	0,04±0,001	**0,91±0,037**
	70% етанол	0,04±0,002	0,85±0,014
	96% етанол	0,02±0,001	0,34±0,014

Найбільший вміст кислот гідроксикоричних у перерахунку на суху сировину відзначається у екстракті, отриманому з використанням 50% етанолу та при співвіднешенні 1:20. В той же час, найбільший вміст гідроксикоричних кислот у перерахунку на 100 мл настойки був в екстракті, приготованому на 70 % етанолі, але при співвіднешенні 1:5.

Отримані дані свідчать, що із зменшенням маси сировини на 100 мл готового продукту очікувано зменшується сумарна кількість екстрактивних речовин, флавоноїдів та гідроксикоричних кислот. Проте при перерахунку на

суху сировину ефективність екстракції зростає із збільшенням об'єму екстрагента. Беручи до уваги ці дані було вирішено використовувати співвідношення сировина-екстрагент 1:5 та концентрацію етанолу 70 %.

Методика одержання екстракту густого з рижію посівного трави (ЕРП): подрібнену до розміру часток 3-5 мм, суху сировину знежирювали в апараті Сокслета гексаном. Знежирену сировину висушували протягом доби, після чого екстрагували 70% етанолом у співвідношенні 1:5 при кімнатній температурі методом дробної мацерації впродовж 3 діб. Отриманий екстракт відстоювали дві доби за температури не більше +10º С, фільтрували та упарювали у роторному випарювачі за температури +50-55º С до одержання густої консистенції.

Густий екстракт рижію посівного трави – в'язка маса темно-коричневого кольору з ароматним запахом, розчинний у воді очищеній Р та в етанолі Р. Вихід ЕРП становив 20,22±0,12 %.

Для розробки методик контролю якості на ЕРП нами досліджено 5 серій одержаного екстракту.

Для ЕРП згідно вимог ДФУ 2.0 до густих екстрактів визначали органолептичні показники (колір, запах), розчинність (табл. 5.4), сухий залишок, вміст важких металів, проводили визначення якісного складу та кількісного вмісту основних БАР – флавоноїдів, гідроксикоричних кислот та поліфенольних сполук [106, 108].

Таблиця 5.4 – Органолептичні та фізико-хімічні дослідження екстракту густого з рижію посівного трави

№	Назва параметру	Результати спостереження
1	2	3
1	Зовнішній вигляд	В'язка маса темно-коричневого кольору з ароматним запахом
2	Розчинність у воді очищеній холодній	Погано розчинний

Продовж. табл. 5.4

1	2	3
3	Розчинність у воді очищеній гарячій	Розчинний
4	Розчинність у етанолі Р 40 %	Розчинний
5	Розчинність у етанолі Р 70 %	Добре розчинний
6	Розчинність у етанолі Р 96 %	Розчинний

В одержаній субстанції методом ТШХ проводили ідентифікацію флавоноїдів та гідроксикоричних кислот. Встановили наявність рутину та хлорогенової кислоти.

Також проведено ВЕРХ дослідження екстракту густого на фенольні сполуки згідно методики, наведеної в розділі 2.2.4. Ідентифіковано та визначено кількісний вміст вищезгаданих сполук. Результати досліджень наведені на рис. 5.1 та в табл. 5.5.

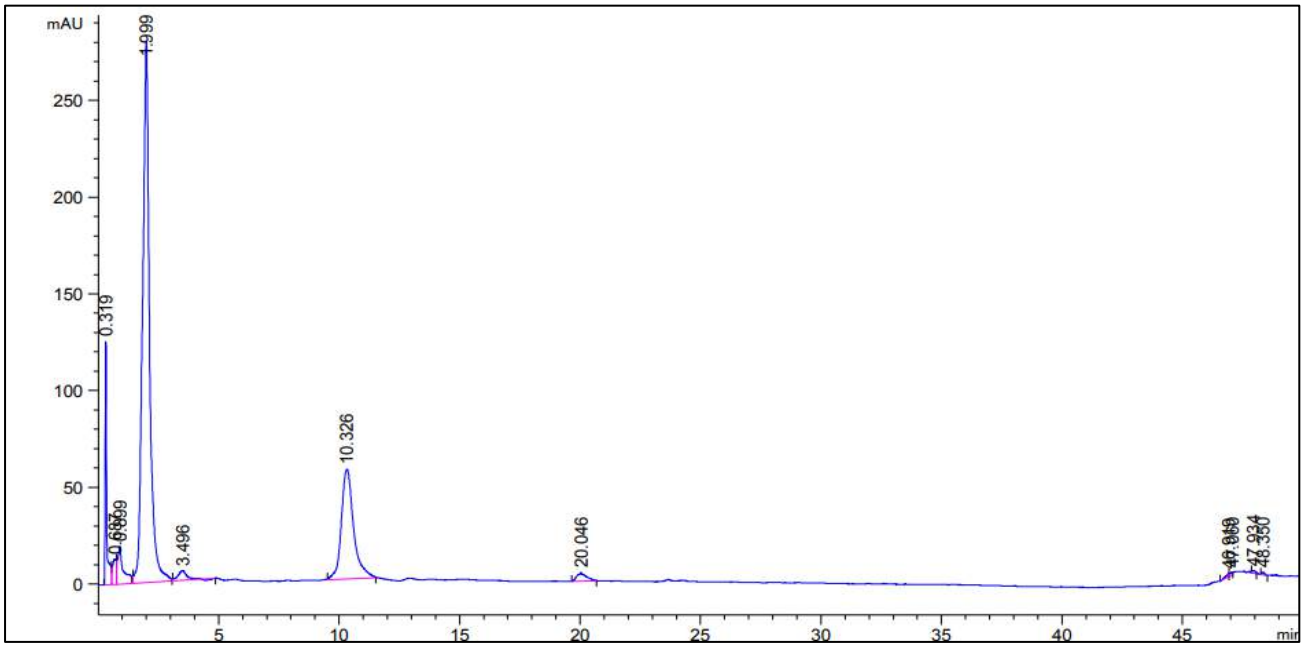


Рисунок 5.1 – ВЕРХ-хроматограма фенольних сполук рижію посівного трави екстракту густого

Таблиця 5.5 – Результати ВЕРХ визначення вмісту фенольних сполук в ЕРП (n=5, M±m, P<0,05)

Назва сполуки	Час утримання	Кількісний вміст	
		мг/кг	%
Хлорогенова кислота	1,999	0,30±0,01	1,83±0,01
Рутин	10,326	0,34±0,02	2,04±0,02

Кількісний вміст БАР визначали спектрофотометричним методом: суму кислот гідроксикоричних у перерахунку на хлорогенову кислоту, суму флавоноїдів у перерахунку на рутин, суму поліфенолів у перерахунку на кислоту галову. Результати кількісного визначення даних БАР у досліджуваному екстракті представлено у табл. 5.6.

Таблиця 5.6 – Вміст фенольних сполук в ЕРП (n=5, M±m, P<0,05)

Лікарська форма	Вміст флавоноїдів	Вміст ГКК	Вміст поліфенолів
Густий екстракт	5,15±0,26 %	4,52±0,03%	6,05±0,16 %

Отже, визначено оптимальні умови одержання екстракту густого з рижію посівного трави та проведено його фітохімічне дослідження.

5.2 Стандартизація рижію посівного трави екстракту густого

Проєкт МКЯ

РИЖІЮ ПОСІВНОГО ТРАВИ ЕКСТРАКТ ГУСТИЙ

Camelina sativa (L.) Crantz herbae extractum spissum

Екстракт одержано із рижію посівного сорту Славутич трави.

Вміст:

Не менше 5,00 % флавоноїдів у перерахунку на рутин ($C_{27}H_{30}O_{16}$; *М.м. 610,52*) та абсолютно суху сировину.

Не менше 4,50 % кислот гідроксикоричних у перерахунку на кислоту хлорогенову ($C_{16}H_{18}O_9$; *М.м. 354,31*) та абсолютно суху сировину;

Не менше 6,00 % поліфенольних сполук у перерахунку на кислоту галову ($C_7H_6O_5$; *М.м. 170,12*) та абсолютно суху сировину.

ВИРОБНИЦТВО

Екстракт виготовляють із 1 частини знежиреної сировини з використанням етанолу (70 %, об/об) до одержання 5 частин готового продукту підхожим методом із подальшим концентруванням під вакуумом.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. В'язка маса темно-коричневого кольору з ароматним запахом.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Тонкошарова хроматографія

Фенольні сполуки

Випробовуваний розчин. 0,1 г екстракту розчиняють у 10 мл 70 % етанолу Р нагрівають на водяній бані за температури 65°С протягом 5 хв, перемішуючи, охолоджують і фільтрують.

Розчин порівняння. 1,0 мг рутину Р та 1,0 мг кислоти хлорогенової Р розчинають у метанолі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10 мл.

Пластинка: ТШХ пластинка «Sorbfil» із шаром силікагелю Р.

Рухома фаза: етилацетат Р – кислота мурашина безводна Р – кислота ацетатна Р – вода Р (100:11:11:27).

Об'єм проб: 10 мкл, смугами.

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

Висушування: за температури 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 амоніаку.

Результати: нижче наведено послідовність зон на хроматографах випробовуваного розчину та розчинів порівняння (рис. 5.2). На хроматограмі випробуваного розчину в середній частині має проявлятися зона із блакитною флуоресценцією, яка за кольором та розташуванням відповідає зоні кислоти гідроксикоричної (хлорогенової) на хроматограмі розчину порівняння. Також на хроматограмах має проявлятися зона із жовто-коричневлю флуоресценцією, які за кольором та розташуванням відповідає зоні фдавоноїдів (рутину) на хроматограмі розчину порівняння.

На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші флуоресціюючі зони.

Верхня частина пластинки	
Кислота хлорогенова (блакитна флуоресціююча зона	Рожева флуоресціююча зона Блакитна флуоресціююча зона
Рутин (жовто-коричнева флуоресціююча зона)	Жовто-коричнева флуоресціююча зона
Розчин порівняння	**Випробовуваний розчин**

Рисунок 5.2 – Схема хроматографічного дослідження випробовуваного розчину і розчину порівняння

ВИПРОБОВУВАННЯ

Сухий залишок. Не менше 75,0 % [118].

Важкі метали. Вміст важких металів не повинен перевищувати 0,01 % [108].

Мікробіологічна чистота. В 1 г препарату може бути виявлено не більше 500 бактерій і 40 дріжжових та пліснявих грибів (у сумі). Не допускається наявність бактерій *Esherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococus aureus*, бактерій роду *Salmonella* [108].

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Флавоноїди

Вихідний розчин. Близько 0,25 г екстракту (точна наважка) вносять у мірну колбу ємністю 25,0 мл, розчиняють у 70 % етанолі Р при перемішуванні, доводять об'ємом розчину в колбі до мітки цим же розчинником і перемішують (розчин А). 2,0 мл розчину А вносять у мірну колбу ємністю 25 мл, додають 2,0 мл 3 % розчин алюмінію хлориду в 96 % етанолі Р, доводили об'єм 70 % етанолом Р до мітки і перемішують.

Через 30 хв розчин фільтрують крізь паперовий фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші порції фільтрату, та вимірюють оптичну густину отриманого комплексу за довжини хвилі 408 нм. Розчином порівняння є розчин, що містить 2,0 мл розчину А, доведений у мірній колбі ємністю 25,0 мл до мітки 70 % етанолом Р.

Паралельно в тих же умовах проводили дослід із розчином РСЗ рутину. До 1,0 мл розчину РСЗ рутину додавали 1,0 мл 3 % спиртового розчину алюмінію хлориду і доводили 70 % спиртом до 25,0 мл. Як розчин порівняння використовували розчин РСЗ рутину, доведений у мірній колбі ємністю 25,0 мл до мітки 70 % спиртом етиловим. Вміст суми флавоноїдів в об'єктах дослідження у перерахунку на рутин обчислювали, у відсотках, за формулою:

Вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин і абсолютно суху сировину у відсотках (Х) обчислювали за формулою (18):

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 25 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot m \cdot 25 \cdot 2 \cdot 25 \cdot (100 - w)}, \quad (18)$$

де А – оптична густина досліджуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину РСЗ рутину;

m – маса сировини, г;

m_0 – маса РСЗ рутину, г;

w – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Розчин РСЗ рутину. Близько 0,01 г (точна наважка) рутину, висушеного за температури 135°С до постійної маси, вносять у мірну колбу ємністю 25 мл, розчиняють у 96 % спирті, доводять об'єм розчину до мітки і перемішують.

Кількісний вміст флавоноїдів має бути не менше 5,00 %.

Гідроксикоричні кислоти

Згідно з методикою ДФУ 2.0.3, яка наведена у монографії «Кропиви листя». Кількісний вміст суми похідних кислот гідроксикоричних у перерахунку на кислоту хлорогенову, визначений спектрофотометричним методом має бути не менше 4,50 %.

Поліфенольні сполуки

Вихідний розчин. 0,5 г (точна наважка) екстракту поміщають у колбу місткістю 100 мл, додають 90 мл 70 % етанолу Р та нагрівають на водяній бані протягом 5 хв. Одержаний розчин фільтрують у мірну колбу місткістю 100 мл через паперовий фільтр, доводять 70 % етанолом Р Р до позначки.

Випробовуваний розчин. 1 мл вихідного розчину поміщають в мірну колбу місткістю 25 мл і доводять 96 % етанолом Р до позначки.

Компенсаційний розчин. Використовують 96 % етанол Р.

Вимірюють оптичну густину випробуваного розчину за довжини хвилі 270 нм у кюветі із товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння компенсаційний розчин.

Вміст суми фенольних сполук, у перерахунку на кислоту галову, у відсотках, обчислюють за формулою (18):

$$X = \frac{A \cdot 100 \cdot 25}{527 \cdot m \cdot 1}, (18)$$

де А – оптична густина випробуваного розчину;

527 – питомий показник поглинання кислоти галової за довжини хвилі 270 нм;

m – маса наважки сировини, г.

Кількісний вміст поліфенольних сполук має бути не менше 6,00 %.

Таблиця 5.7 – Показники якості рижію посівного трави екстракту густого відповідно до вимог ДФУ

Параметр	Серія				
	1	2	3	4	5
Ідентифікація фенольні сполуки	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ	Відповідають проєкту МКЯ
Сухий залишок не менше 70,0 %	71,85 %	70,65 %	72,01 %	70,34 %	71,15 %
Гідроксикоричних кислот не менше 4,50 %	4,58 %	4,48 %	4,49 %	4,62 %	4,53 %
Флавоноїдів не менше 5,00 %	5,60 %	5,16 %	5,15 %	5,17 %	5,06 %
Поліфенольних сполук не менше 6,00 %	6,11 %	6,20 %	6,21 %	6,08 %	6,05 %

Дослідження біологічної активності *in vivo* були виконані нами у віварії Запорізького державного медичного університету. Дослідженя *in vitro* проведені на кафедрі фармакогнозії, фармакології та ботаніки ЗДМУ. Для фармакологічних досліджень було використано екстракт густий з трави та олію з насіння (методика отримання в розділі 2) рижію посівного.

5.3 Вивчення гострої токсичності

Обмежуючим показником при дослідженні гострої токсичності була обрана максимальна доза IV класу токсичності з урахуванням шляху введення.

Після внутрішньошлункового введення ЕРП і ОРП в дозі 5000 мг/кг протягом 14 діб загибелі тварин не було відмічено. У щурів також не виявлено ознак інтоксикації: тварини були активними, охайними, реагували на світлові і звукові подразники, процеси сечовиділення і дефекації були в нормі, не спостерігали порушення дихання і судом. У всіх тварин була збережена рефлекторна збудливість. Споживання їжі та води у всіх піддослідних щурів не відрізнялося від такого у інтактних щурів. Загибелі тварин не було, що свідчить про нешкідливість даних лікарських форм.

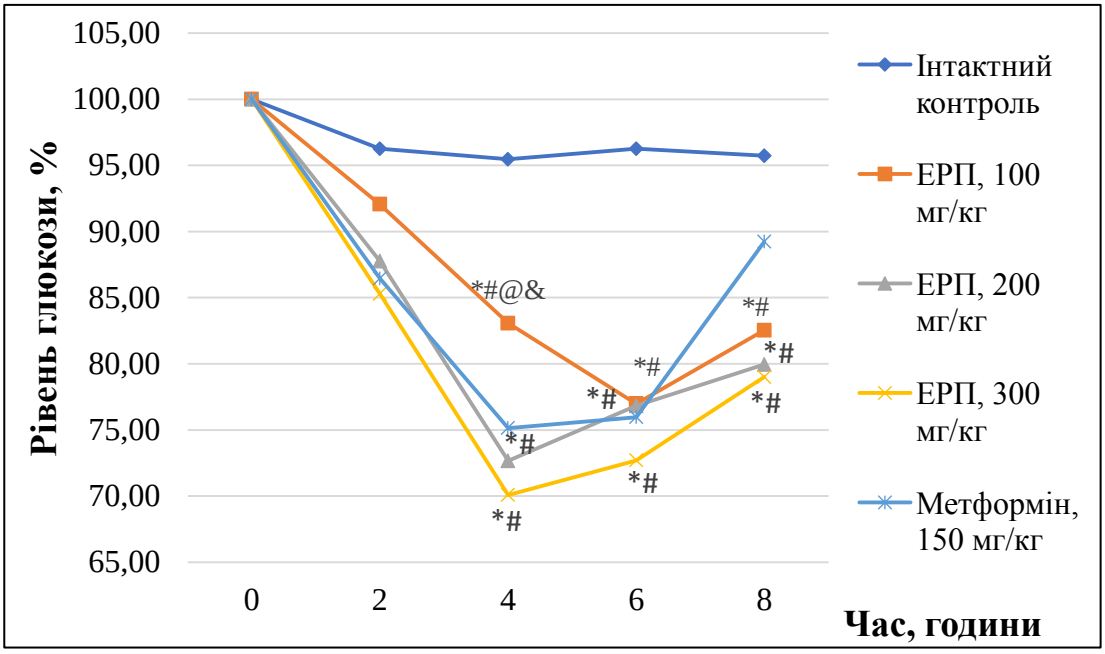
У екпериментальних тварин контролювали масу тіла до введення екстрактів і на 14 день після введення. Тварини набирали масу відповідно до фізіологічної норми.

Проведено також макроскопічне вивчення органів і тканин піддослідних тварин після евтаназії, яким внутрішньошлунково вводили ЕРП та ОРП. Візуальна оцінка стану внутрішніх органів не виявила ознак патологічних змін.

Проведені дослідження вказують, що $ЛД_{50}$ для екстракту з трави і олії з насіння рижію посівного знаходиться за межами 5000 мг/кг. Згідно з токсикологічною класифікацією речовин К. К. Сидорова ЕРП і ОРП при внутрішньошлунковому введенні належать до V класу токсичності – практично нешкідливих речовин.

5.4 Первинний фармакологічний скринінг

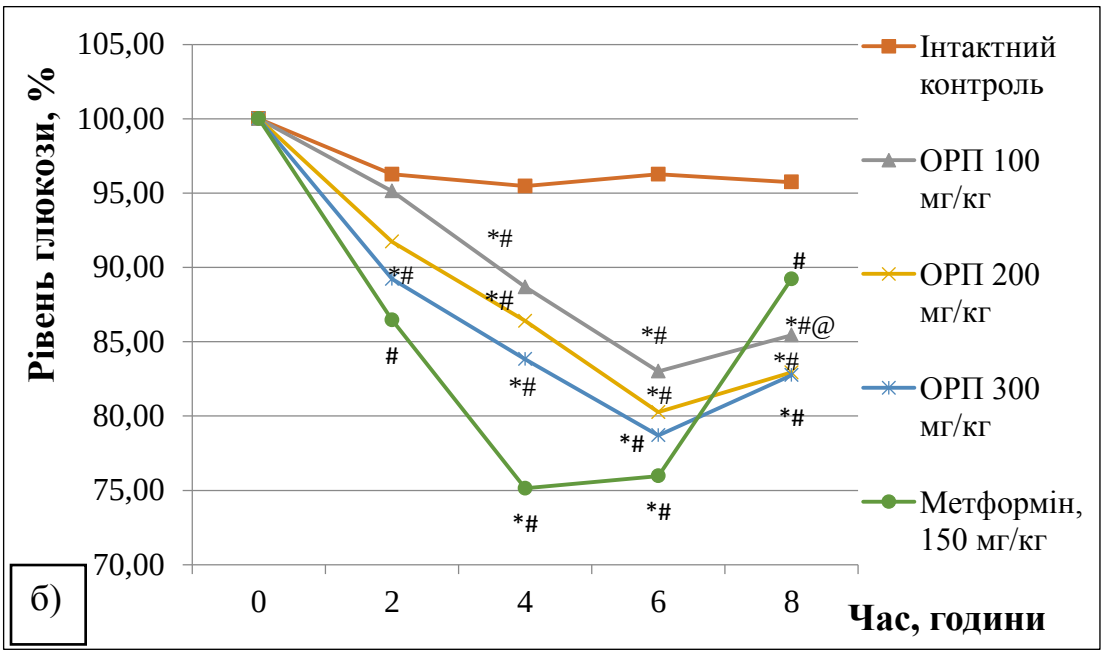
У результаті проведеного первинного фармакологічного скринінгу гіпоглікемічної активності ЕРП і ОРП була встановлена та підтверджена їхня здатність знижувати рівень глюкози, що мала дозозалежний характер (рис. 5.3, рис. 5.4, табл. 5.8).



Примітки:

1. * – p<0,05 – статистично значущі відмінності порівняно з показниками вихідного рівня глюкози ;
2. # – p<0,05 – статистично значущі відмінності порівняно з показниками інтактного контролю;
3. @ – p<0,01 – статистично значущі відмінності порівняно з показниками групи референс препарату;
4. & – p<0,01 – статистично значущі відмінності порівняно з показниками групи ЕРП та ОРП 200 мг/кг та 300 мг/кг;
5. n – кількість тварин в групі

Рисунок 5.3 – Зміна рівня глюкози під час проведення первинного фармакологічного скринінгу гіпоглікемічної активності ЕРП, (M±m), n=6



Примітки:

1. * – p<0,05 – статистично значущі відмінності порівняно з показниками вихідного рівня глюкози ;
2. # – p<0,05 – статистично значущі відмінності порівняно з показниками інтактного контролю;
3. @ – p<0,01 – статистично значущі відмінності порівняно з показниками групи референс препарату;
4. & – p<0,01 – статистично значущі відмінності порівняно з показниками групи ЕРП та ОРП 200 мг/кг та 300 мг/кг;
5. n – кількість тварин в групі

Рисунок 5.4 – Зміна рівня глюкози під час проведення первинного фармакологічного скринінгу гіпоглікемічної активності ОРП, (M±m), n=6

Таблиця 5.8 – Результати проведення первинного фармакологічного скринінгу гіпоглікемічного ефекту ЕРП і ОРП (M±m), n=6

Група	Вихідний рівень глюкози, ммоль/л	Рівень глюкози через 2 год, ммоль/л	Рівень глюкози через 4 год, ммоль/л	Рівень глюкози через 6 год, ммоль/л	Рівень глюкози через 8 год, ммоль/л
1	2	3	4	5	6
Інтактний контроль	3,75±0,02	3,61±0,02	3,58±0,02	3,61±0,02	3,59±0,03
ЕРП, 100 мг/кг	3,78±0,20	3,48±0,21	3,14±0,12*#	2,91±0,11*#	3,12±0,07*#

Продовж. табл. 5.8

1	2	3	4	5	6
ЕРП, 200 мг/кг	3,84±0,02	3,37±0,17	2,79±0,16$^{*\#}$	2,95±0,11$^{*\#}$	3,07±0,08$^{*\#}$
ЕРП, 300 мг/кг	3,81±0,20	3,25±0,18	2,67±0,14$^{*\#}$	2,77±0,17$^{*\#}$	3,01±0,07$^{*\#}$
ОРП, 100 мг/кг	3,71±0,06	3,53±0,06$^{*\#}$	3,29±0,06$^{*\#}$	3,08±0,10$^{*\#}$	3,17±0,08$^{*\#}$
ОРП, 200 мг/кг	3,75±0,24	3,44±0,25	3,24±0,17	3,01±0,15$^{*\#}$	3,11±0,14$^{*\#}$
ОРП, 300 мг/кг	3,71±0,10	3,31±0,11$^{*\#}$	3,11±0,12$^{*\#}$	2,92±0,10$^{*\#}$	3,07±0,12$^{*\#}$
Метформін, 150 мг/кг	3,62±0,16	3,13±0,17$^{\#}$	2,72±0,15$^{*\#}$	2,75±0,14$^{*\#}$	3,23±0,15

Примітки:

1. * – $p<0,05$ – статистично значущі відмінності порівняно з показниками вихідного рівня глюкози;
2. $^{\#}$ – $p<0,05$ – статистично значущі відмінності порівняно з показниками інтактного контролю;
3. n – кількість тварин в групі

У тварин, що отримували ЕРП в дозі 100 мг/кг, гіпоглікемічний ефект був помірним, мав достовірну відмінність від показників контрольної групи ($p<0,05$). ЕРП в дозі 200 мг/кг більше вплинув на рівень глюкози крові щурів, оскільки максимальний відсоток зниження, порівняно з початковим, склав 27,34 % та спостерігався на 4-й годині експерименту. Падальше підвищення дози ЕРП не призвело до статистичного збільшення гіпоглікемічного ефекту. Через 4, 6 та 8 години після введення густого екстракту в дозі 300 мг/кг рівень глікемії був меншим на 2,48 %, 4,11 % та 0,95 % порівняно з ефектом екстракту в дозі 200 мг/кг, жодна з цих різниць не мала статистичної достовірності. Виходячи з цих даних був зроблений висновок, що для подальших досліджень треба використовувати ЕРП в дозі 200 мг/кг.

У тварин, що отримували ОРП в дозі 100 мг/кг, гіпоглікемічний ефект також був помірним і мав достовірну відмінність від показників контрольної групи ($p<0,05$). ОРП в дозі 200 мг/кг більше вплинула на рівень глюкози крові щурів, оскільки максимальний відсоток зниження, порівняно з початковим, склав 19,73 % та спостерігався на 6-й годині експерименту. Подальше підвищення дози ОРП не призвело до статистичного збільшення гіпоглікемічного ефекту. Через 4, 6 та 8 год після введення олії в дозі 300 мг/кг рівень глікемії був меншим на 2,57 %, 1,56 % та 0,18 % порівняно з ефектом олії в дозі 200 мг/кг, жодна з цих різниць не мала статистичної достовірності. Виходячи з цих даних був зроблений висновок, що для подальших досліджень треба використовувати ОРП в дозі 200 мг/кг.

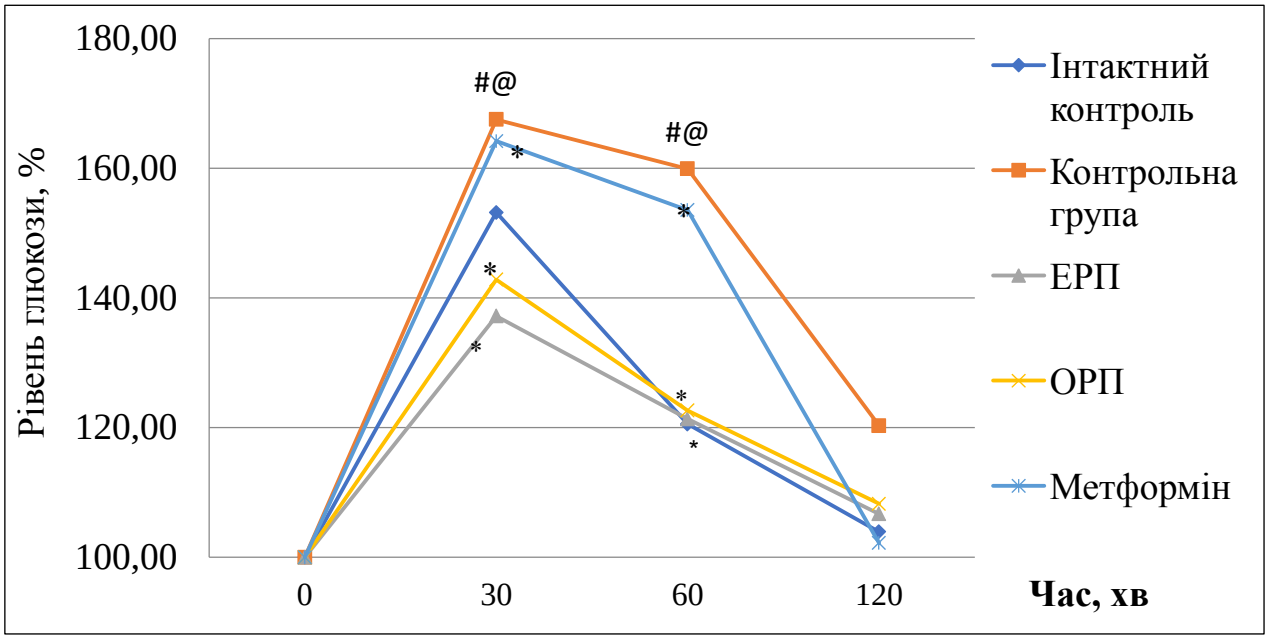
5.5 Дослідження гіпоглікемічної активності

Після двомісячної високофруктозної дієти (ВФД) аналіз тесту толерантності до глюкози показав формування глюкозотолерантності у тварин. Так в контрольній групі спостерігалось підвищення рівня глюкози на 30-й хвилині ОТТГ (у час максимального підйому рівня глюкози у крові експериментальних щурів у відповідь на пероральне вуглеводне навантаження) на 14,29 % відносно інтактного контролю. В той же час введення дослідних препаратів – ЕРП та ОРП викликало зниження рівня глюкози відповідно на 30,28 % та 24,71 % відносно контрольної групи та статистично не відрізнялась від групи інтактного контролю, що свідчить про наявність гіпоглікемічної активності цих екстрактів.

На 120 хв рівень глікемії інтактних щурів майже відновився, в той час як у щурів під дією плацебо залишався на 20,32 % вищим, що наочно продемонструвало сформовані порушення обміну глюкози у цих дослідних тварин.

Введення тваринам ЕРП, ОРП і метформіну запобігало розвитку таких відхилень, що підтверджено глікемічними кривими. У кінці тесту рівень

глікемії достовірно не відрізнявся від початкових значень у щурів під впливом ЕРП, ОРП. В групі піддослідних тварин, якім вводили референтний препарат, через 120 хвилин від початку ОТТГ також рівень глюкози відновився (рис. 5.5).



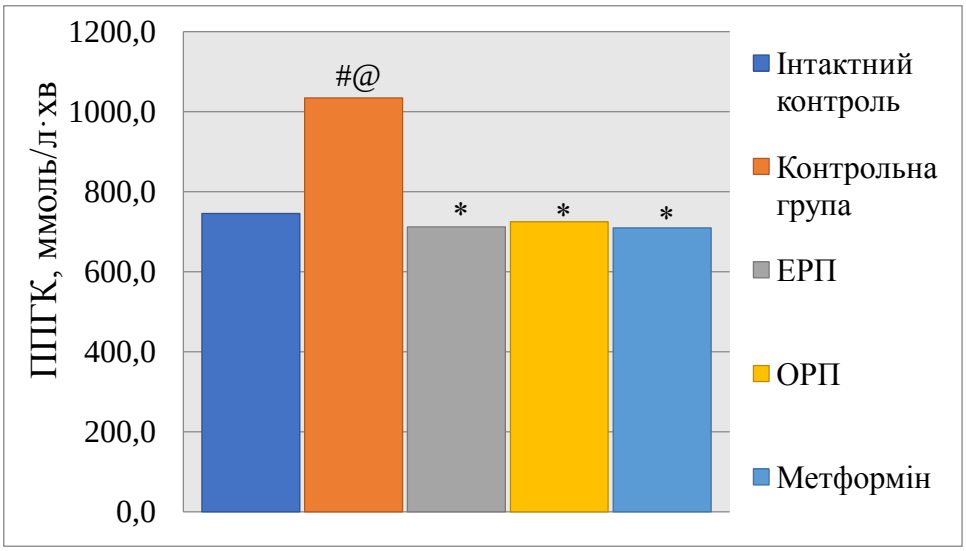
Примітки:

1. # – p<0,05 – статистично значущі відмінності порівняно з показниками інтактного контролю;
2. * – p<0,05 – статистично значущі відмінності порівняно з показниками контрольної групи;
3. @ – p<0,05 - статистично значущі відмінності порівняно з показниками групи референт препарату;
4. n – кількість тварин в групі

Рисунок 5.5 – Вплив ЕРП і ОРП на динаміку глікемії під час ОТТГ в умовах індукованої інсулінорезистентності, (M±m), n=6.

За виразністю гіпоглікемічної активності ЕРП і ОРП не поступалися препарату порівняння – метформіну. Підтвердженням цього були результати порівняльного аналізу площі під глікемічними кривими, що є інтегральним параметром оцінки навантаження глюкозою.

У результаті проведення ОТТГ розраховано, що ППГК у контрольній групі майже в 1,4 рази перевищує відповідну площу в групі інтактного контролю (1034,40 ммоль/л·хв та 746,1 ммоль/л·хв відповідно). В той же час ППГК у групах тварин, які отримували ЕРП (712,20 ммоль/л·хв), ОРП (725,10 ммоль/л·хв) та референтний препарат метформін (709,88 ммоль/л·хв) достовірно не відрізнялися від відповідної площі в групі інтактного контролю, що свідчить про зменшення толерантності до глюкози в цих групах експериментальних тварин (рис. 5.6).



Примітки:
– p<0,05 – статистично значущі відмінності порівняно з показниками інтактного контролю;
*– p<0,05 – статистично значущі відмінності порівняно з показниками контрольної групи;
@ – p<0,05 - статистично значущі відмінності порівняно з показниками групи референт препарату;
n – кількість тварин в групі

Рисунок 5.6 – Вплив ЕРП і ОРП на площу під глікемічною кривою під час ОТТГ в умовах індукованої інсулінорезистентності, (M±m), n=6.

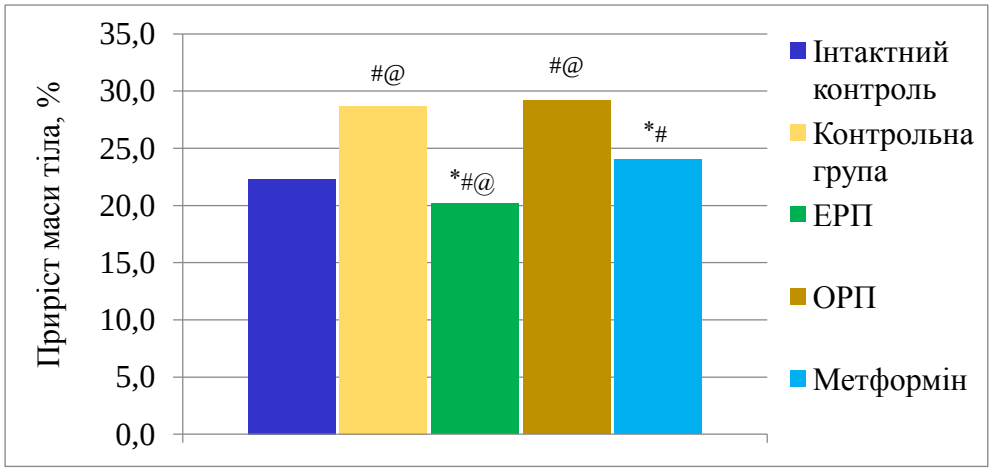
Під час проведення короткого інсулінового тесту у щурів в умовах ВФД було виявлено, що у інтактної групи рівень глюкози через 30 хв після введення інсуліну знизився на 57,63 %, а в контрольної групи на 36,71 %, що підтверджує

розвиток ІР. У тварин, які отримували ЕРП, ОРП і референтний препарат, відсотковий показник зниження глюкози статистично не відрізнявся від інтактної групи (53,24 %, 52,77 % і 52,85 % відповідно). Це свідчить про гальмування розвитку ІР у вищезазначених груп щурів.

Дослідження маси тіла показало, що на початок експерименту не було істотної різниці цього показника у тварин досліджуваних груп. Через 8 тижнів ВФД було отримано статистичне збільшення середньої маси тіла контрольної групи порівняно з інтактною групою.

Введення ЕРП послабило цей ефект, оскільки приріст середньої маси тіла в даній групі був статистично менший не тільки в порівнянні з контрольною групою, а і в порівнянні з групою, яка отримувала референтний препарат.

У той же час введення ОРП не послаблювало вплив фруктози на збільшення маси тіла і не мало істотної відмінності з показниками контрольної групи (рис. 5.7).



Примітки:

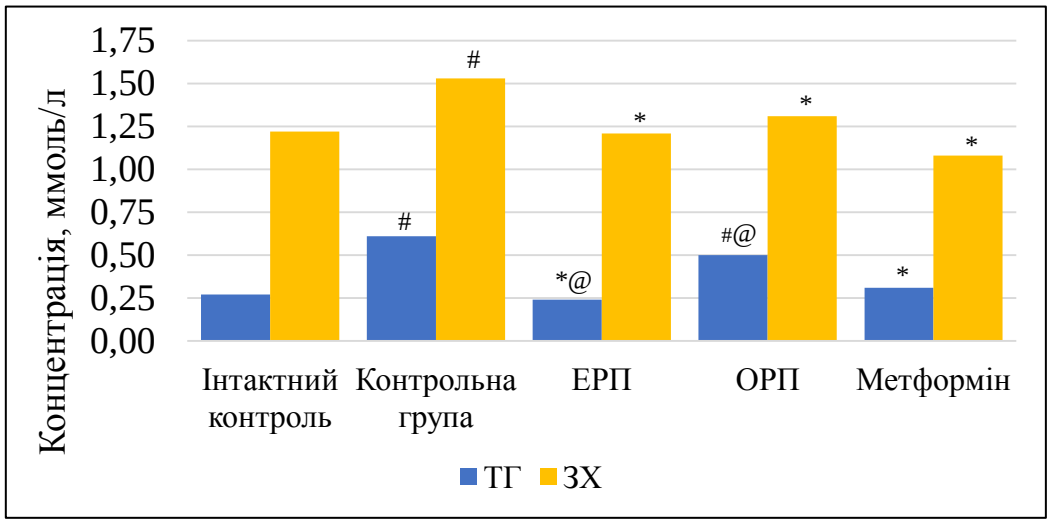
1. # – p<0,05 – статистично значущі відмінності порівняно з показниками інтактного контролю;
2. * – p<0,05 – статистично значущі відмінності порівняно з показниками контрольної групи;
3. @ – p<0,05 - статистично значущі відмінності порівняно з показниками групи референт препарату;
4. n – кількість тварин в групі

Рисунок 5.7 – Вплив ЕРП та ОРП на середню масу тіла за умов ВФД (M±m), n=6.

Дисліпідемія вважається одним з найбільш важливих прогностичних факторів ризику виникнення ускладнень серцево-судинних захворювань у хворих на МС та ЦД 2 типу [174].

Дослідження показників ліпідного обміну показало, що двомісячне введення фруктози призводить до зростання концентрації ЗХ і ТГ відносно показників, які спостерігали у інтактних тварин. Ці зміни концентрації ЗХ та ТГ, ймовірно, є наслідком порушення регуляції процесів ліполізу та ліпогенезу інсуліном за умов ІР [123].

Введення ЕРП сприяло поліпшенню ліпідного обміну, порушеного за умов МС, про що свідчила нормалізація ТГ та зниження концентрації ЗХ в сироватці крові навіть у порівнянні з інтактним контролем (рис. 5.8).



Примітки:

1. # – p<0,05 – статистично значущі відмінності порівняно з показниками інтактного контролю;
2. * – p<0,05 – статистично значущі відмінності порівняно з показниками контрольної групи;
3. @ – p<0,05 – статистично значущі відмінності порівняно з показниками групи референт препарату;
4. n – кількість тварин в групі

Рисунок 5.8 – Вплив ЕРП і ОРП на ліпідний профіль за умов індукованої ІР (M±m), n=6.

Вміст ТГ і ЗХ сироватки крові був значно збільшений на 125,93 % і 25,41 % у контрольній групі в порівнянні з показниками інтактного контролю.

За результатами дослідження, представленими на рис. 5.7, вміст ТГ в інтактної та контрольної групах становили відповідно 0,27±0,04 ммоль/л та 0,61±0,05 ммоль/л відповідно, концентрація ЗХ – 1,22±0,05 ммоль/л та 1,53±0,03 ммоль/л відповідно. Лікувальний вплив ЕРП нормалізував рівень ТГ і ЗХ в порівнянні з контрольною групою, про що свідчить зменшення рівня цих показників на 60,66 % та 20,92 % відповідно.

Застосування метформіну також позитивно вплинуло на ліпідний спектр крові піддослідних тварин, зменшивши рівень ТГ і ЗХ на 49,18 % та 29,41 % відповідно в порівнянні з контрольною групою.

Таким чином, у результаті фармакологічного дослідження встановлено, що густий екстракт трави та олія насіння рижію посівного сорту Славутич *(Camelina sativa (L.) Crantz)* у дозі 200 мг/кг за перорального введення протягом 14 діб за умов ВФД статистично достовірно гальмують формування глюкозотолерантності та інсулінорезистентності. Це підтверджується результатами ОТТГ, розрахованими ППГК і коротким інсуліновим тестом. Крім того, густий екстракт трави рижію виявив виражений гіполіпідемічний вплив на ліпідний обмін.

Це обумовлює необхідність подальшого, більш глибокого вивчення цієї рослинної сировини з метою створення на її основі нових препаратів для комплексного лікування метаболічного синдрому та ЦД 2-го типу.

5.6 Вивчення антирадикальної активності

Згідно даних літератури відомо, що фенольні сполуки мають здатність проявляти виражену антирадикальну активність. За результатами фітохімічного аналізу нами визначено, що у траві рижію посівного містяться фенольні сполуки, а саме флавоноїди, гідроксикоричні кислоти та поліфенольні сполуки. Тому ми вважали за доцільне дослідити АРА рижію посівного трави густого екстракту.

Аналіз DPPH - це швидка, проста та практична стратегія для кількісного визначення антиоксидантного ефекту, яка включає використання вільного радикала [175].

Інгібування радикала DPPH густим екстрактом з трави рижію посівного, залежало від концентрації (рис. 5.9). Відсоток інгібування вільного радикалу густим екстрактом в різних концентраціях (1, 5, 10, 25, 50, 100 та 200 мг/мл) коливався між (46,69±0,09) % і (98,85±0,11) %.

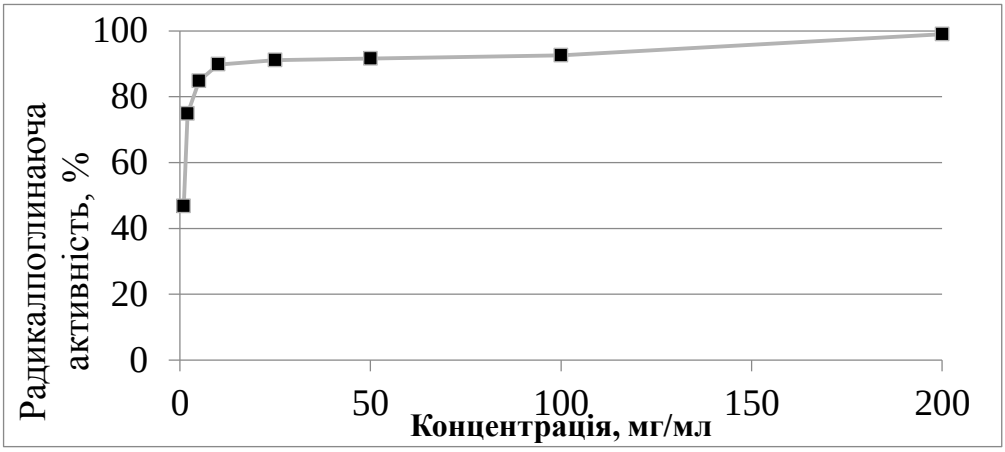


Рисунок 5.8 – Радикалпоглинаюча активність густого екстракту рижію посівного трави

ЕРП був здатний інгібувати радикал DPPH на 50 % з IC_{50}<1,5 мг/мл порівняно зі стандартною аскорбіновою кислотою, яка має IC_{50}<1 мг/мл. Активність інгібування DPPH екстракту показана в таблиці 5.9 та рис. 5.8.

Таблиця 5.9 – Показники антиоксидантної активності густого екстракту рижію посівного трави

Об’єкт	IC_{50}	АРА	АКЕ
Густий екстракт	1,15	0,87	0,037
Аскорбінова кислота	0,043	23,26	1,0

Отже, густий екстракт трави рижію посівного виявив антирадикальну активність при взаємодії з радикалом DPPH і виявив максимальне відсоткове інгібування (98,85±0,11) % при концентрації 200 мг/мл.

ВИСНОВКИ

1. Розроблено технологію одержання рижію посівного сорту Славутич трави екстракту густого. Методом ТШХ та ВЕРХ ідентифіковано рутин та хлорогенову кислоту, визначено їх вміст. Також визначено у досліджуваному екстракті кількісний вміст суми флавонодоїдів, кислот гідроксикоричних, поліфенольних сполук.

2. Розроблено проєкт МКЯ на одержану субстанцію рижію посівного «Рижію посівного трави екстракт густий», який стандартизовано за вмістом фенольних сполук (флавноноїдів, гідроксикоричних кислот та поліфенолів).

3. Встановлено, що за результатами визначення гострої токсичності густий екстракт та олія за класифікацією К. К. Сидорова можна віднести до V класу токсичності – практично нешкідливих речовин, $ЛД_{50}$>5000 мг/кг.

4. Досліджувані ЕРП та ОРП проявляли гіпоглікемічну активність у дозі 200 мг/кг, яка за сукупністю проявів не поступалася препарату порівння – синтетичному засобу метформіну. Також було відмічено, що ЕРП сприяв поліпшенню ліпідного обміну, порушеного за умов МС.

5. Екстракт густий виявив антирадикальну активність при взаємодії з радикалом DPPH і виявив максимальне відсоткове інгібування (98,85±0,11) % при концентрації 200 мг/мл.

За матеріалами розділу опубліковано роботи [176-178].

РОЗДІЛ 6
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Розвиток цивілізації призводить до значного прогресу в науці та покращенню якості життя людей. Але водночас це може викликати появу багатьох невідомих загроз. Однією з таких є сукупність метаболічних розладів, виникнення яких спричиняють: мала рухова активність, нездорове харчування, забруднення повітря, води, продуктів харчування, зростаючий темп життя, стрес [179, 180].

МС – клінічна та епідеміологічна проблема населення індустріально розвинених країн. Цей синдром характеризується абдомінальним ожирінням, інсулінорезистентностю, ЦД 2-го типу, дисліпідемією, артеріальною гіпертензією [84, 179, 180].

Дані епідеміологічних досліджень щодо поширеності МС не оптимістичні. Спостереження науковців і клініцистів всього світу, підтверджують, що на сьогоднішній день епідемія МС зростає. Результати епідеміологічних досліджень демонструють значне поширення МС у США, в Європі, зокрема у Польщі та Україні [182].

ЦД є найбільш поширеною метаболічною хворобою у світі. Діабет 2 типу – найпоширеніший тип діабету, на який припадає близько 90 % усіх випадків діабету. Як правило, він характеризується інсулінорезистентністю. Оскільки інсулін не може працювати належним чином, рівень глюкози в крові продовжує зростати, стимулюючи виділення ще більше інсуліну. У деяких людей з діабетом 2 типу це може з часом виснажити підшлункову залозу, в результаті чого організм буде виробляти все менше і менше інсуліну, спричиняючи ще більший рівень цукру в крові (гіперглікемія) [86].

Кількість зареєстрованих хворих на діабет в Україні перевищує 1,8 млн. осіб, переважає ЦД 2 типу (90-95) %, який пов’язаний з порушенням метаболізму вуглеводів та ліпідів [183].

Тому поширення МС та ЦД 2-го типу наразі є однією з найважливіших медико-соціальних проблем в усьому світі.

Першорядним завданням є вчасно розпочате лікування, яке включає немедикаментозні, а також медикаментозні методи корекції метаболічних порушень й ожиріння, причому при виборі лікарських препаратів необхідно враховувати їхні можливі метаболічні ефекти й органопротективну дію. Першочерговими повинні бути заходи, що спрямовані на зниження маси тіла та нормалізацію метаболічних порушень [184].

Також важливим етапом терапії МС є корекція порушеної толерантності до глюкози та лікування ЦД 2-го типу. Провідне місце у лікуванні ЦД відводиться дієті та засобам замісної терапії – препаратам інсуліну, а також пероральним антидіабетичним засобам [185].

В Україні серйозну соціальну проблему становить висока вартість ліків, тому що поширеність ЦД 2-го типу найбільш висока серед вразливих верств населення (особи літнього віку), а ранні ускладнення призводять до швидкої інвалідизації працездатних осіб [186].

Дослідження антидіабетичних властивостей лікарських рослин та засобів на їх основі, впровадження їх у медичну практику є одним із шляхів вдосконалення лікування ЦД 2 типу та інсулінорезистентних станів [187-189]. Фітотерапію призначають, в основному, як допоміжний метод і обов’язково в комплексі з вищезазначеними методами лікування. Проте при легких формах ЦД можливе застосування лікарських рослин, як основного цукрознижувального засобу, доповнюючи ними дієтотерапію. Крім зниження вмісту глюкози в крові, також є необхідним корекція інших уражень та ускладнень при ЦД з боку різних органів та систем [185].

На даний момент в Україні зареєстровано лише 4 рослинних антидіабетичних препарати [99]. Тому пошук нових і ефективних лікарських фітозасобів є дуже актуальним завданням науковців і це стало метою нашої роботи.

Для реалізації поставлених завдань, дослідження проводили в три етапи. Перший етап передбачав аналіз літературних даних щодо потенційно перспективних рослин для вивчення та проведення фітохімічного дослідження вибраних рослин. Проаналізувавши літературні джерел щодо застосування рослин у народній медицині, ми вирішили провести фармакогностичне досліження маловивчених видів роду Рижій, а саме найпоширеніших в Україні – рижію посівного та рижію дрібноплодого. Згідно даних Шевченко І. А., Поляков О. І., Ведмедєва К. В., Комарова І. Б. [13] відомо, що рижій посівний проявляє антидіабетичні, гіполіпідемічні, антиоксидантні властивості.

Для уникнення помилки при зборі сировини ми вирішили виростити ці рослини на дослідних ділянках самостійно. Зразки насіння для вирощування отримали з Національного центру генетичних ресурсів рослин України (Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України).

Експериментальні дослідження доцільно починати з проведення попереднього вивчення хімічного складу сировини обох видів. На цьому ж етапі досліджень було проведено комплексне фітохімічне дослідження рижію посівного сорту Славутич та рижію дрібноплодого трави та насіння.

Спочатку провели попередню ідентифікацію деяких груп БАР за допомогою якісних реакцій. Підтвердження індивідуальних сполук проводили методами ПХ, ТШХ, ВЕРХ, ГХ-МС, атомно-емісійною спектрофотометрією.

У результаті ТШХ було встановлено наявність рутину в усіх зразках. Також у траві обох видів ідентифіковано хлорогенову кислоту. Ці ж сполуки підтверджені методом ВЕРХ та встановлений їх кількісний вміст. Згідно цих даних вищий вміст рутину визначено у рижію дрібноплодого насінні, також високий вміст хлорогенової кислоти у траві цієї ж рослини.

За допомогою спектрофотеметричного методу встановили кількісний вміст суми флавоноїдів, кислот гідроксикоричних та поліфенольних сполук. Відповідно до цих досліджень, вищий сумарний вміст даних груп БАР визначено у рижію посівного траві. Ці дані представлено на рис. 6.1.

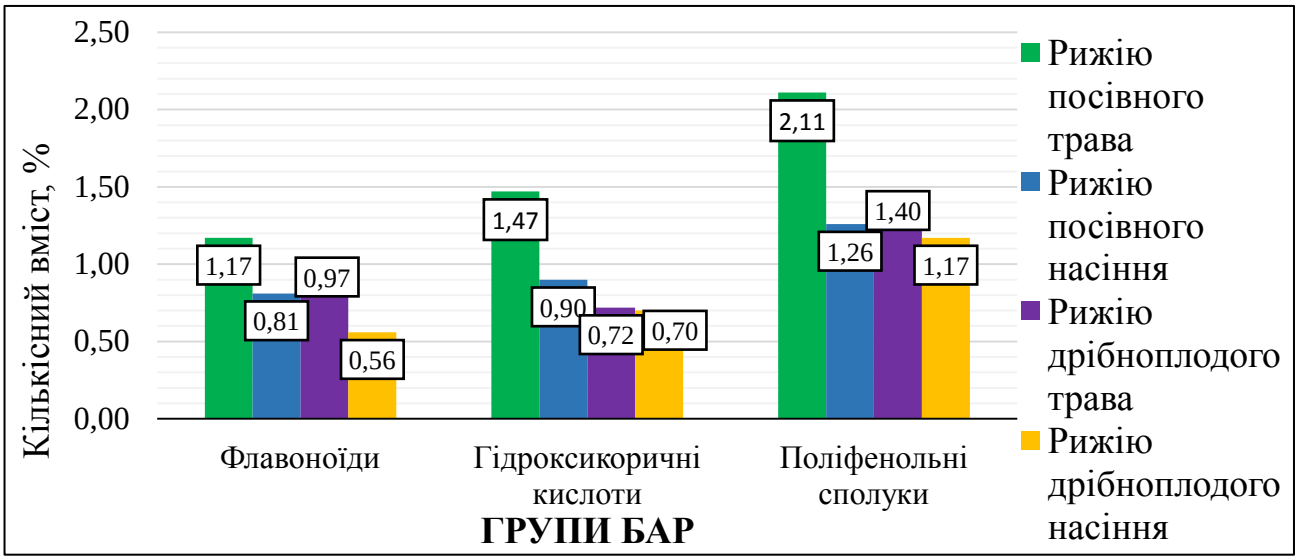


Рисунок 6.1 – Вміст фенольних сполук в сировині видів роду Рижій

Отримані результати подібні з результатами авторів Karamać M., Gai F., Peiretti P. G. [58], які вивчали вміст фенольних сполук у метанольних екстрактах з насіння рижію посівного, вирощеного та зібраного в Італії. Автори також ідентифікували рутин у насінні рижію посівного та визначили кількісний вміст суми флавоноїдів, гідроксикоричних кислот та поліфенолів. Крім рутину, вони ідентифікували хлорогенову кислоту, кверцетин-3-О-глюкозид та кверцетин, тоді як вітчизняні зразки, які ми зібрали, не містили цих сполук (кверцетин-3-О-глюкозиду та кверцетину). Відомо, що в листі рижію посівного міститься кверцетин [59]. Ми не знайшли достовірні літературні дані щодо вмісту фенольних сполук траві і насінні рижію дрібноплодого.

Методом ВЕРХ визначили якісний склад та кількісний вміст амінокислот за загальновідомою методикою. Найбільший вміст суми амінокислот було визначено у рижію посівного насінні (19,58 г/100г), в найменшій кількості – у рижію дрібноплодого траві (8,81 г/100г).

Встановлено, що у найбільшій кількості у рижію посівного траві були такі замінні амінокислоти: глутамінова, аспарагінова, пролін та аланін. Серед незамінних амінокислот найбільше виявлено лейцину, лізину, треоніну та фенілаланіну.

У рижію посівного насінні превалюючими замінними амінокислотами були: глутамінова, аспарагінова кислоти, аланін та серин. Серед незамінних – аргінін, лізин, лейцин та треонін (рис. 6.2).

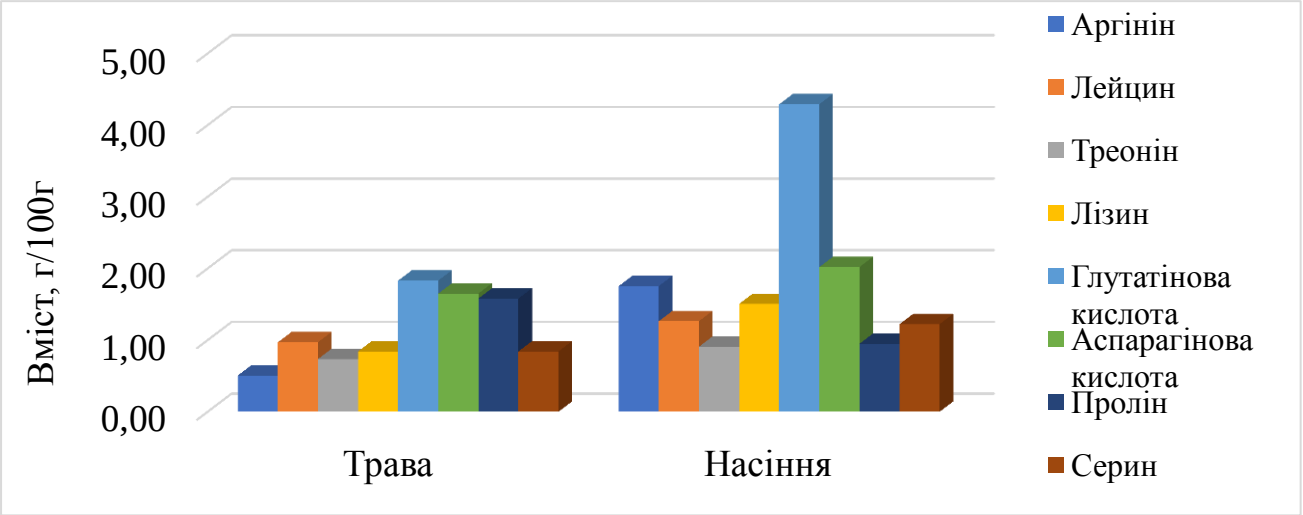


Рисунок 6.2 – Вміст амінокислот в сировині рижію посівного

У рижію дрібноплодого траві у найбільшій кількості виявлено замінні амінокислоти – глутамінову, аспарагінову, пролін та серин. Серед незамінних – аргінін, треонін та лізин. У рижію дрібноплодого насінні у найбільшій кількості серед замінних амінокислот виявлено глутамінову, аспарагінову кислоти, гліцин та аланін. Серед незамінних – аргінін, лізин, лейцин (рис. 6.3).

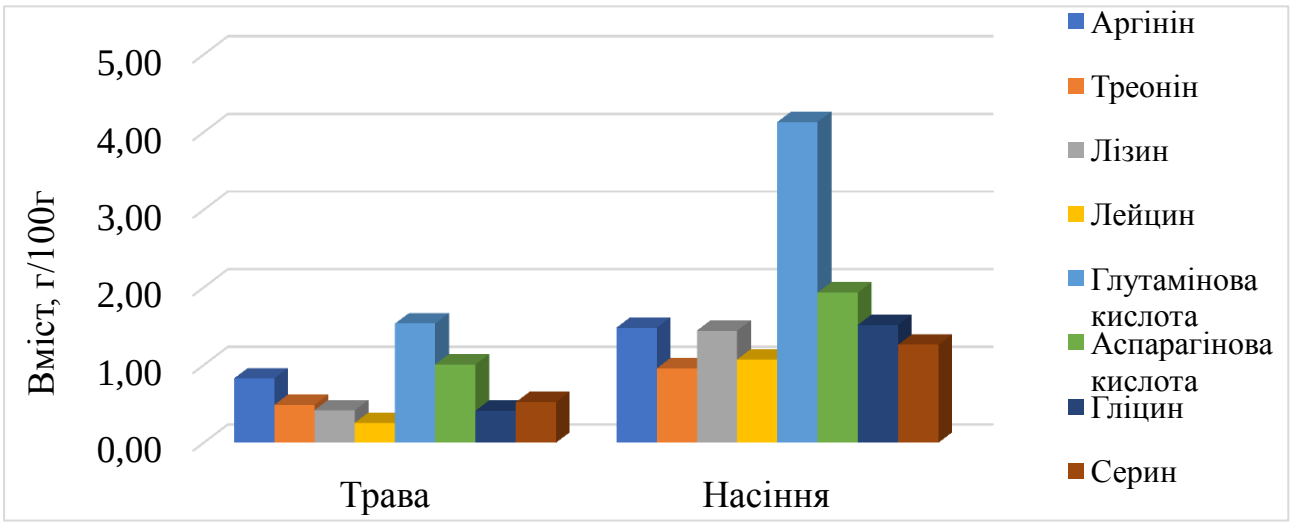


Рисунок 6.3 - Вміст амінокислот в сировині рижію дрібноплодого

Отримані нами дані щодо амінокислотного складу рижію посівного сорту Славутич насіння подібні до даних авторів [13, 190-192], які встановили, що превалюючими амінокислотами в їхніх досліджуваних зразках різних сортів рижію посівного були глутамінова, аспарагінова кислоти, аргінін, лейцин, валін, аланін. Ми не знайшли в доступних літературних даних інформації щодо вмісту амінокислот рижію дрібноплодого траві і насінні.

Також було вивчено вміст вуглеводів у сировині обох видів. Для цього спочатку були отримані моносахаридні фракції за методом Бейлі. За допомогою ТШХ ідентифікували окремі вуглеводи. В гідролізатах полісахаридних фракцій рижію посівного визначено наявність галактози, глюкози та арабінози. В гідролізатах полісахаридних фракцій рижію дрібноплодого було знайдено галактозу, глюкозу, арабінозу та ксилозу.

Кількісне визначення провели за допомогою модифікованого спектрофотометричного методу Дрейвуда з антронсульфатним реактивом. Кількісний вміст мохосахаридних фракцій представлений на рис. 6.4.

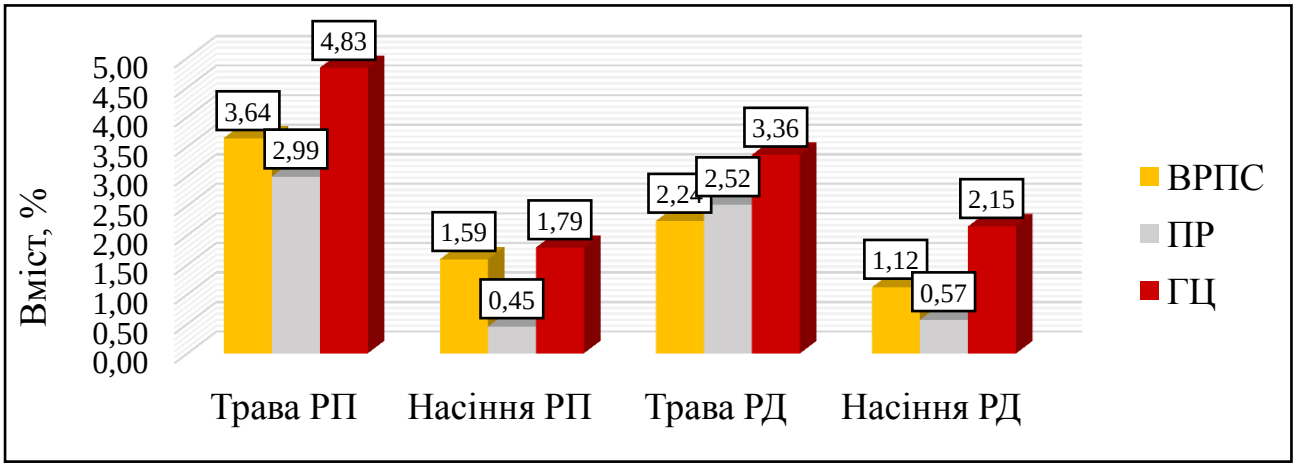


Рисунок 6.4 – Кількісний вміст моносахаридних фракцій в сировині видів роду Рижій

За результатами фракціонування було визначено, що вміст окремих вуглеводів у сировині обох видів рижію є досить подібним, але за кількісним вмістом переважає трава рижію посівного.

Отримані нами результати щодо вуглеводного вмісту рижію посівного насіння збігаються з даними дослідників [60], які визначали якісний та кількісний вміст галактози, глюкози, рамнози та ксилози. За допомогою ТШХ ми виявили арабінозу у насінні, але не виявили ксилози. Це може залежати від сорту та місця зростання рослини. Інформації стосовно досліджень вуглеводів у *Camelina sativa* траві та в сировині *Camelina microcarpa* в доступній літературі нами не було знайдено.

Методом одновимірної ТШХ було ідентифіковано органічні кислоти у рослинній сировині обох досліджуваних видів рослин. Кількісний вміст органічних кислот у сировині обох видів визначали титриметричним методом у перерахунку на яблучну кислоту. За результатами визначення було встановлено, що найвищий вміст вільних органічних кислот переважає у рижію посівного траві (4,08±0,05) %, що значно більше ніж у рижію дрібноплодого траві (0,54±0,01) %. Нами не знайдено достовірних літературних даних щодо вільних органічних кислот у сировині видів роду Рижій.

За допомогою ГХ-МС дослідження ідентифіковано та визначено кількісний вміст жирних кислот.

Так, у рижію посівного траві знайдено 5 ЖК (з яких 2 насичені та 3 ненасичених, які складають 35,20 % від загального вмісту). У рижію посівного насінні виявлено 11 ЖК – 4 насичених та 7 ненасичені, що складає 86,94 % від загального вмісту.

У рижію дрібноплодого траві виявлено 4 ЖК – відповідно 2 насичені та 2 ненасичених (35,98 %). У рижію дрібноплодого насінні виявлено 11 ЖК (4 насичених та 7 ненасичені – відповідно 87,47 % від загального вмісту).

Таким чином, у результаті проведеного дослідження встановлено, що більший відносний вміст ненасичених жирних кислот знаходиться у насінні рижію дрібноплодого та насінні рижію посівного, різниця не значна, лише 0,53 %. Серед ненасичених ЖК лідируючим компонентом є α-ліноленова кислота (омега-3), якої найбільше у насінні рижію посівного – 39,95 %. Друге місце займає паулінова кислота (омега-7), якої найбільше також у насінні

рижію посівного – 20,15 %. На третьому місці лінолева кислота (омега-6), якої більше у насінні рижію дрібноплодого – 18,74 %.

Щодо олійності досліджуваних видів можна зробити висновок, що найбільший вміст олії по відношенню до рослинної сировини визначено у насінні рижію дрібноплодого (44,23 %). Даний показник рижію посівного складає 40,31 %.

Особливий інтерес представляє α-ліноленова кислота. Відомо, що омега-3 поліненасичені жирні кислоти збільшують плинність клітинних мембран, сприяють підвищенню кількості рецепторів до інсуліну та підвищують спорідненість інсуліну до цих рецепторів, збільшують кількість транспортерів глюкози [193].

Отримані нами дані збігаються з результатами подібних досліджень авторів Moser B. R., Kris S., Stuebiger G., Bail S., Unterweger H., Rodríguez-Rodríguez M. F. [80, 194, 195] щодо вивчення жирнокислотного складу насіння рижію посівного, які встановили, що превалюючими ЖК були ліноленова, лінолева, олеїнова кислоти. Нам не вдалося ідентифікувати олеїнову кислоту у насінні рижію посівного. Також наші дані щодо ЖК насіння рижію дрібноплодого аналогічні до даних авторів Kumar P. R. Tsunoda S. [69], які ідентифікували пальмітинову, стеаринову, олеїнову, лінолеву, ліноленову, ейкозенову та ерукову кислоти, які за кількісним вмістом поступалися нашим результатам. Нам не вдалося визначити лише стеаринову кислоту. Стосовно вмісту ерукової кислоти в олії отримані нами дані щодо її вмісту в олії рижію посівного збігаються з даними автора Zubr J. [192]. У доступних нам джерелах літератури ми не знайшли достовірні дані щодо вмісту ЖК траві обох видів.

Експериментальні дані щодо макро- та мікроелементного складу сировини рижію посівного і рижію дрібноплодого свідчать про наявність в сировині не менше 19 елементів. Порівняльний аналіз елементного складу зразків показав, що обидва види сировини мають однаковий елементний склад, який відрізняється тільки кількісно (рис. 6.5, рис. 6.6).

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

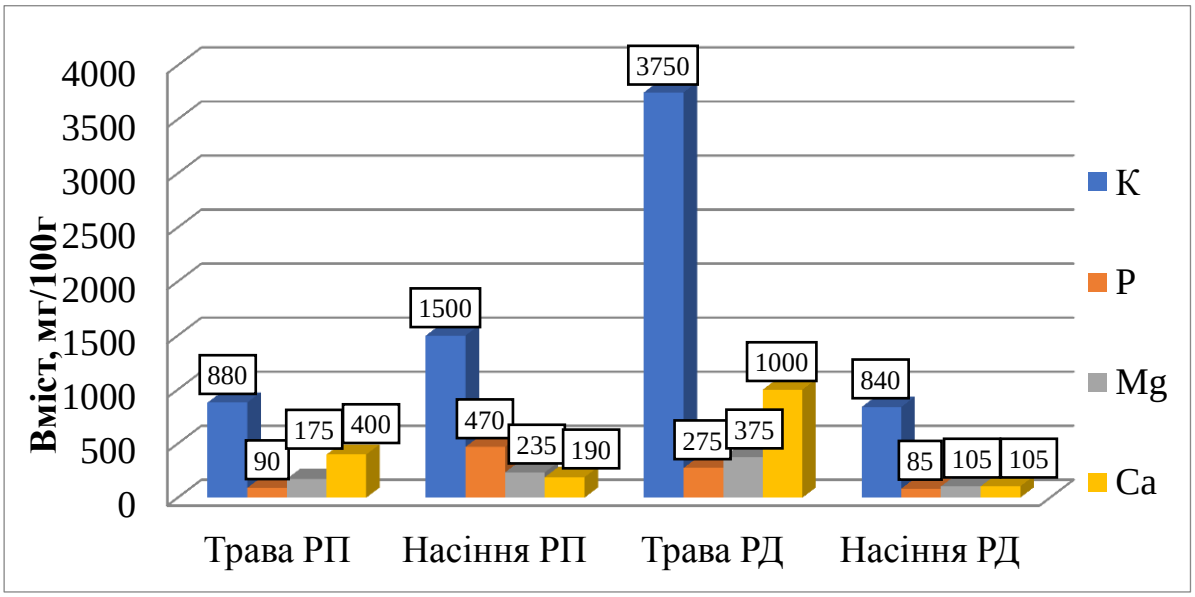


Рисунок 6.5 – Вміст макроелементів в сировині видів роду Рижій

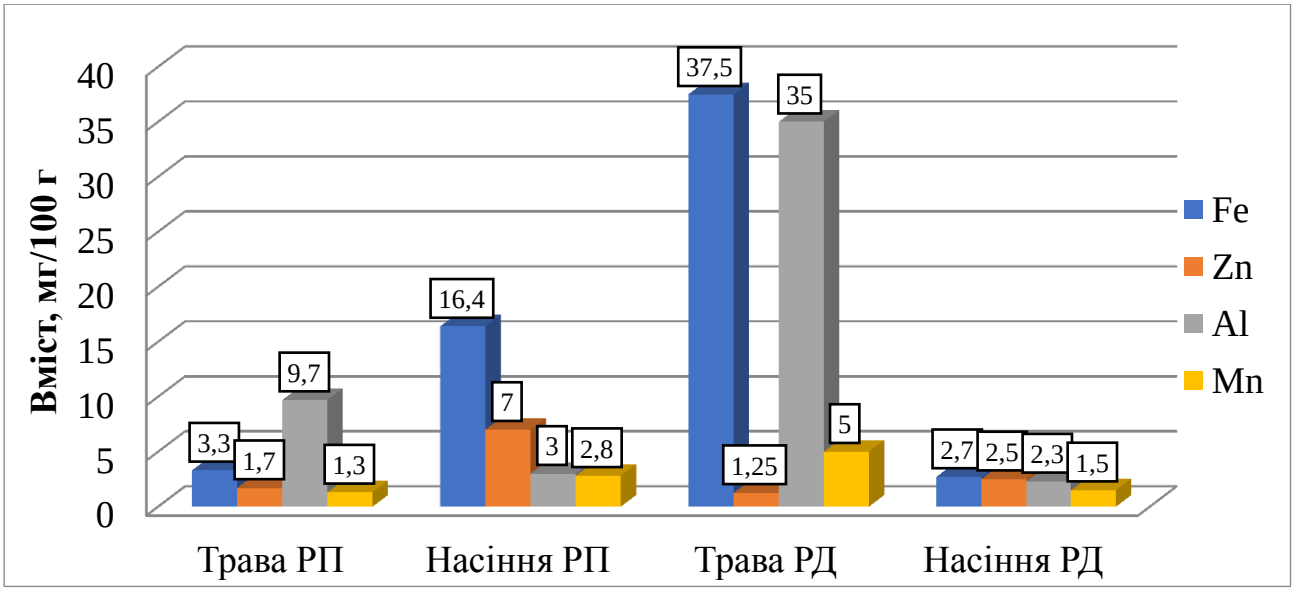


Рисунок 6.6 – Вміст мікроелементів в сировині видів роду Рижій

Певний інтерес представляють цинк та магній, які можуть проявляти різноманітні фармакологічні ефекти при лікуванні МС та ЦД. Відомо, що цинк відіграє важливу роль у діяльності підшлункової залози, синтезі інсуліну та процесах його зв’язування з гепатоцитами, синтезі ліпопротеїнів. Внаслідок

недостатності цього елемента порушується толерантність до глюкози [196-198]. Маґній відновлює чутливість до інсуліну. Маґній, з'єднуючись з інсуліном, активізує даний гормон і потенціює трансмембранний перехід глюкози у м'язи, гепатоцити та інші енергоємні, насичені мітохондріями клітини організму, перешкоджаючи тим самим формуванню ІР [198]. Вищий вміст цинку визначено у насінні рижію посівного, маґнію – у траві рижію дрібноплодого.

Також визначили елементний склад ґрунту, де були вирощені рослини. На основі отриманих даних розрахували КБН для оцінки вибіркового накопичення елементів. Найвищі показники КБН були для калію, фосфору та маґнію. У рижію дрібноплодого траві їх КБН складають: К – 15, Р – 2,75 і Mg – 1,07 та у рижію дрібноплодого насінні: К – 3,36. У рижію посівного насінні найвищий показник КБН був для фосфору – 1,57. У рижію посівного траві рівень акумуляції цих же елементів був значно нижчим на відміну від рижію дрібноплодого трави і дані показники були у рази менші: К – 0,52, Р – 0,3 і Mg – 0,12.

Отримані нами дані подібні з даними науковців [191], які також встановили, що домінуючими елементами у насінні рижію посівного є кальцій, фосфор, калій та маґній.

На другому етапі дослідження було проведено макро- та мікроскопічне дослідження рижію посівного та рижію дрібноплодого, визначення числових показників та стандартизація сировини.

Обидва види дуже подібні між собою за висотою, формою стебла та листків, суцвіттям та квітками, опушенням. Відмінності полягають в типах розвитку рослин: рижій посівний – ярова рослина, а рижій дрібноплодий – озима. Також у цих рослин відрізняються за розмірами і формою плоди: у рижію посівного більший обернено-яйцеподібний стручечок, в якому міститься дрібне насіння оранжевого кольору. У рижію дрібноплодого плід дещо менший за розмірами, грушеподібної форми; насіння дуже дрібне, темно-коричневого кольору. Мікроскопічні ознаки практично не відрізняються. Описані нами макроскопічні ознаки рижію посівного збігаються з даними інших авторів

Рахметов Д. Б., Городецький О. С., Качан Л. М., Вахній С. П., Хахула В. С., Зінченко О. І. [37, 199, 200]. У доступній літературі даних щодо морфолого-анатомічних ознак рижію дрібноплодого нами не було знайдено.

Також було визначено втрату в масі при висушуванні, загальну золу, золу нерозчинну в хлористоводневій кислоті, вміст екстрактивних речовин в сировині обох видів.

На основі даних досліджень було розроблено проєкти МКЯ на нову лікарську рослинну сировину «Рижію посівного сорту Славутич трава», «Рижію дрібноплодого трава».

Додатково були визначені технологічні параметри трави рижію посівного для подальшого вибору об’єму обладнання, підбору завантаження, розрахунку кількості екстрагента і проведення оптимізації процесу екстрагування.

На третьому етапі було отримано густий екстракт для експериментальних досліджень, проведено його фітохімічне вивчення та проведено визначення його фармакологічної активності.

Згідно літературних даних [201-204] фенольні сполуки можуть проявляти антидіабетичні властивості. Так як в сировині видів роду Рижій встановлена наявність флавоноїдів, кислот гідкроксикоричних та поліфенольних сполук було вирішено отримати субстанцію, яка містить найбільшу кількість цих сполук.

У результаті досліджень було визначено, що найбільший вміст даних БАР міститься у рижію посівного траві, тому ця рослина і була вибрана для подальших досліджень.

Перш ніж отримати екстракт густий були проведені дослідження для встановлення оптимальних умов екстракції. За результатами даних досліджень було встановлено, що найбільший вміст флавоноїдів, кислот гідкроксикоричних та поліфенольних сполук у витяжці виявляється при екстракції сировини 70% етанолом при співвідношенні сировини-екстрагенту 1:5 методом дробної мацерації протягом 3-х діб.

У подальшому в отриманому екстракті вивчався якісний склад та кількісний вміст фенольних сполук. Методом ТШХ була підтверджена наявність рутину та хлорогенової кислоти. Також проведено ВЕРХ дослідження даного екстракту, підтвержено наявність рутину та хлорогенової кислоти, визначено їх кількісний вміст ((2,04±0,02) % та (1,83±0,01) % відповідно). Результати дослідження кількісного вмісту фенольних сполук спектрофотометричним методом представлено на рис. 6.7.

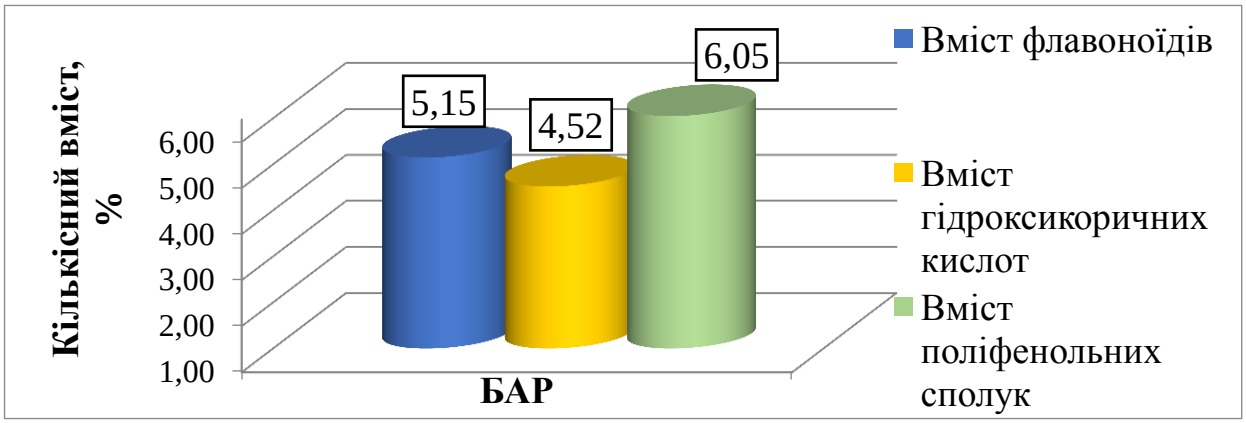


Рисунок 6.7 – Вміст фенольних сполук в густому екстракті

Першим етапом фармакологічних досліджень було встановлення гострої токсичності і зроблено висновок, що екстракт густий і олія рижію посівного відносяться до V класу токсичності – практично нешкідливих речовин [119].

Далі був проведений первинний фармакологічний скринінг та встановлення оптимальної дози. При застосуванні ЕРП і ОРП в дозі 200 мг/кг виявлено максимальну гіпоглікемічну активність. Збільшення дози до 300 мг/кг не призвело до збільшення гіпоглікемічної активності. Тому для подальших досліджень була обрана доза ЕРП і ОРП 200 мг/кг, оскільки не є доцільно використання більшої дози за відсутності статистичних відмінностей. Більш глибокі дослідження антидіабетичних властивостей екстрактів провели на моделі метаболічного синдрому за умов високофруктозної дієти.

В останні десятиліття значно зросло і продовжує зростати споживання харчової фруктози. Більшість дієтологів переконані, що фруктоза є

безпечнішою і кориснішою, ніж глюкоза. А отже, часто пропонують саме фруктозу, як замінник глюкози для різних категорій населення [205].

Доведено, що хронічне споживання фруктози, на відміну від інших вуглеводів, є ефективним індуктором МС у тварин, навіть у низьких дозах (водний розчин, 10 %) [121].

За умов ВФД, підвищений вміст фруктози здатен порушувати початкові етапи трансдукції інсулінового сигналу, в тому числі процеси фосфорилювання інсулінового рецептора та його субстратів IRS-1/2 [121]. Це в подальшому призводить до розвитку резистентності до дії гормону. В результаті довготривалого надходження високих доз фруктози на тлі низької фізичної активності енергетичний баланс стає позитивним, утворення лептину зменшується. Внаслідок цього зростає маса тіла, розвивається ожиріння та інші метаболічні порушення, характерні для МС [120].

Проведення ОТТГ у піддослідних тварин на фоні хронічного фруктозного навантаження після тривалого введення ЕРП та ОРП у дозі 200 мг/кг показало, що досліджувані субстанції здатні гальмувати формування глюкозотолерантності, за яким не поступається метформіну. Відсоток зниженя глікемії становив 30,28 % (ЕРП) та 24,71 % (ОРП) відносно контрольної групи та статистично не відрізнялась від групи інтактного контролю. Це підтверджено і результатами порівняльного аналізу площі під глікемічними кривими. Відповідно до ППГК відсоток зниження рівня глюкози в групі ЕРП склав 31,15 %, а в групі ОРП – 29,90 % у порівнянні з контрольною групою.

Проведений короткий інсуліновий тест в умовах ВФД показав, що у тварин, які отримували ЕРП, ОРП і референтний препарат, відсотковий показник зниження глюкози (53,24 %, 52,77 % та 52,85 % відповідно) статистично не відрізнявся від інтактної групи (57,63 %). Це свідчить про гальмування розвитку ІР у вищезазначених груп щурів.

Підвищення концентрації тригліцеридів у плазмі крові є очікуваним результатом сформованої інсулінорезистентності [206]. Вивчення впливу досліджуваних субстанцій на формування дисліпідемічних порушень які

виникають в умовах ВФД показало, що ЕРП корегує ці порушення на рівні метформіну. Рівні ТГ і ЗХ були відновлені до значень, ще не відрізнялись достовірно від інтактних тварин (ТГ – 0,24±0,02 ммоль/л, ЗХ – 1,21±0,07 ммоль/л).

Крім того встановлено, що ЕРП здатен гальмувати зростання маси тіла піддослідних тварин, яке реєструється в умовах ВФД на відміну метформіну, який менше впливав на цей процес. Так було встановлено, що через 8 тижнів ВФД збільшилася середня маса тіла контрольної групи порівняно з інтактною групою на 6,39 %. Введення ЕРП послабило цей ефект, приріст середньої маси тіла в даній групі був статистично менший в порівнянні з контрольною групою (на 8,54 %) і групою, що отримувала референтний препарат (на 4,65 %).

Таким чином, в результаті фармакологічного дослідження встановлено, що ЕРП та ОРП у дозі 200 мг/кг за перорального введення протягом 14 діб за умов ВФД статистично достовірно гальмує формування глюкозотолерантності та інсулінорезистентності.

Но основі цих даних було отримано патент України на корисну модель «Гіпоглікемічний рослинний засіб» та проєкт МКЯ «Рижію посівного трави екстракт густий».

У літературних джерелах є інформація щодо гіпоглікемічної активності олії рижію посівного [207], але немає даних стосовно даної активності фітопрепаратів, отриманих з трави цієї рослини.

Знайдено дані, які показують існування зв’язку між підвищеним рівнем вільних радикалів та ІР, яка є не лише однією з ключових ланок патогенезу ЦД 2 типу, але й основним компонентом МС та провідним чинником ризику судинної патології [183, 208-210]. Також відомо, що фенольні сполуки можуть проявляти антирадикальні та антиоксидантні властивості [211].

Тому нами було проведено дослідження антирадикальної активності ЕРП *in vivo* за допомогою вільного радикалу DPPH. В результаті дослідження була підтверджена вищезгадана активність рижію посівного трави екстракту густого. Встановлено, що максимальна антирадикальна активність проявляється в дозі

200 мг/мл. Нами підтверджено антирадикальну активність лише насіння рижію посівного [212]. Інфомарція щодо даної активності екстрактів з трави відсутня.

Таким чином, результати фітохімічного та фармакологічного вивчення ЕРП підтверджують доцільність його подальшого дослідження для впровадження в медичну практику як ефективного антидіабетичного засобу для застосування у комплексній фармакотерапії ЦД 2 типу та інсулінорезистентних станів. Встановлені гіпоглікемічна, гіпохолестеринемічна, антирадикальна дія ЕРП обумовлюють комплексну антидіабетичну дію засобу та можуть забезпечити профілактику мікро- та макросудинних ускладнень, впливаючи на ключові ланки патогенезу ЦД 2 типу.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення та практичне вирішення наукового завдання, що полягає у пошуку нових джерел БАР серед представників роду *Camelina*, шляхом комплексного порівняльного фармакогностичного дослідження сировини видів роду Рижій (*Camelina* (L.) *Crantz*) та отримання субстанцій на їх основі з гіпоглікемічною, гіполіпідемічною та антиоксидантною активністю.

1. Проведено аналіз джерел літератури для встановлення актуальності дослідження видів роду *Camelina (L.) Crantz* як перспективних лікарських рослин.

2. Виявлено у рижію посівного та рижію дрібноплодого траві і насінні наявність речовин фенольного характеру (флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, дубильних речовин), вуглеводів, органічних, жирних та амінокислот, ліпофільних пігментів, макро- та мікроелементів та встановлено кількісний вміст даних груп БАР.

3. Вивчено макро- та мікроскопічні ознаки сировини обох видів. Встановлені основні морфолого-анатомічні та діагностичні ознаки рижію посівного та рижію дрібноплодого. Розроблено проєкти МКЯ на нову ЛРС «Рижію посівного сорту Славутич трава» та «Рижію дрібноплодого трава».

4. Опрацьована технологія отримання експериментальної субстанції – рижію посівного трави густого екстракту, проведено його фітохімічне вивчення та стандартизацію. Розроблено проєкт МКЯ на дану субстанцію «Рижію посівного сорту Славутич трави екстракт густий».

5. Досліджено фармакологічні властивості отриманих субстанцій та встановлено наявність гіпоглікемічної, гіполіпідемічної та антирадикальної активності.

За результатами отриманих досліджень можна зробити висновок, що рижій посівний більш перспективніший та може використовуватися для подальших досліджень.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. BrassiBase: Introduction to a novel knowledge database on *Brassicaceae* evolution / M. Kiefer et. al. *Plant Cell Physiology*. 2014. Vol. 55, N 1. P. e3(1–9).
2. Database taxonomics as key to modern plant biology / M. A. Koch, D. A. German, M. Kiefer, A. Franzke. *Trends in Plant Science*. 2018. Vol. 23, N 1. P. 4–6.
3. *Camelina neglecta (Brassicaceae, Camelineae)*, a new diploid species from Europe / J. R. Brock, T. Mandáková, M. A. Lysak, I. A. Al-Shehbaz. *PhytoKeys*. 2019. Vol. 115. P. 51–57.
4. Рожкован В., Комарова І. Ранній посів рижію та його швидке дозрівання дають змогу вирощувати на одному полі впродовж року дві культури. *Зерно і хліб*. 2013. № 4 (72). С. 53–55.
5. Russo R., Reggiani R. Antinutritive compounds in twelve *Camelina sativa* genotypes. *Amer. J. Plant Sci*. 2012. Vol. 3. P. 1408–1412.
6. Определитель высших растений Украины / Д. Н. Доброчаева, М. И. Котов, Ю. Н. Прокудин и др. Киев : Наук. думка, 1987. 548 с.
7. Francis A., Warwick S. I. The Biology of Canadian weeds. 142. *Camelina alyssum* (Mill.) Thell.; *C. microcarpa* Andrz. ex DC.; *C. sativa* (L.) Cranrz. *Canad. J. Plant Sci*. 2009. Vol. 89, N 4. P. 791–810.
8. Al-Shehbaz I.A., Beilstein M.A. Flora of North America North of Mexico. *New York and Oxford*. 2010. Vol. 7. P. 451–453.
9. Putnam D. N., Budin J. T. *Camelina*: apromising low - input oilseed. and Commercialization. John Wiley and Sons. *Inc. New York, USA*. 1993. P. 314–322.
10. Zohary D., Hopf M. Domestication of plants in the Old World. N.Y : Oxford University Press, 2000. 3rd edn. 316 p.
11. Ehrensing D. T., Guy S. O. *Camelina*. *Oilseed Crops*. 2008. EM 8953-E. P. 1–7.

12. Crowley JG, Fröhlich A. Factors affecting the composition and use of *Camelina*. Teagasc Project Report 4319, Crop Research Centre, Teagasc. Dublin, Ireland. 1998.
13. Рижій, сафлор, кунжут. Стратегія виробництва олійної сировини в Україні (малопоширені культури) / І. А. Шевченко, О. І. Поляков, К. В. Ведмедєва, І. Б. Комарова. Запоріжжя : СТАТУС, 2017. 40 с.
14. Яковлєва-Носарь С. О., Терещенко К. А. Показники продуктивності рижію ярого за різних густот стояння. *Актуальні питання біології, екології та хімії*. 2015. Т. 10 (2). С. 4–11.
15. Species trials with oilseed plants: II *Camelina* / A. G. Plessers, W. G. McGregor, R. B. Carson, W. Nakoneshny. *Can. J. Plant Sci.* 1962. P. 452–459.
16. Bouby I. Two early finds of gold-of-pleasure (*Camelina* sp.) in middle Neolithic and Chalcolithic sites in western France. *Antiquity*. 1998. Vol. 72. P. 391–398.
17. Перспективы комплексной переработки рыжика озимого, культивируемого в Самарской области / К. С. Павленко, В. А. Куркин, А. В. Милехин, В. В. Зубков. *Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции* : сб. науч. тр. 2013. Вып. 68. С. 74–76.
18. Павленко К .С. Куркин В. А., Милехин А. В. Обоснование целесообразности комплексного использования рыжика озимого (*Camelina silvestris* L.). *Известия Самарского науч. центра РАН*. 2012. Т. 14. С. 2273–2275.
19. Прахова Т. Я., Прахов В. А., Шепелёва Е. А. Сравнительная продуктивность масличных культур в условиях Пензенской области. *Нива Поволжья*. 2009. № 3. С. 88–90.
20. Основы технологии возделывания рыжика посевного : практич. рекомендации / А. А. Смирнов, Т. Я. Прахова, И. И. Плужникова и др. Пенза, 2013. 32 с.
21. Discaver Life. URL : https://www.discoverlife.org/mp/20m?kind=Camelina&flags=glean.

22. Sarv V., Trass O., Diosady L. L. Preparation and Characterization of *Camelina sativa* Protein Isolates and Mucilage. *J. Am. Chemists' Soc*. 2017. Vol. 94, N 10. P. 1279–1285.
23. Система використання біоресурсів у новітніх біотехнологіях отримання альтернативних палив / Я. Б. Блюм та ін. К. : Аграр Медіа Груп, 2014. 359 с.
24. Рижій посівний як альтернатива ріпаку ярому для виробництва біодизеля / М. Д. Мельничук, Г. І. Демидась, Г. П. Квітко, Н. Я. Гетман. *Наук. доп. Нац. у-ту біоресурсів і природокористування України.* 2012. Т. 31. № 2. URL : http://www.nbuv.gov.ua/e-journals/Nd/2012_2/12dgi.pdf.
25. Рахметов Д., Самойленко И. Рыжей - альтернативная масличная культура. *Зерно*. 2012. № 2. С. 50–55.
26. Wiersema J. H., Blanca L. World Economic Plants: A Standard Reference. Second edition. CRC Press, 2013. 1336 p.
27. Zubr J. Oil-Seed Crop: *Camelina sativa*. *Industrial Crops and Products*. 1997. Vol. 6, issue 2. P. 113–119.
28. Штейник Р. Рыжик является единственной культурой, которая не наносит вреда земле и экологии. *АПК-информ*. 2016. №12. С. 61–64.
29. Ковалець О. Вплив мінеральних добрив та норми висіву на врожайність рижію в умовах західного Лісостепу України. *Вісник Львівського нац. аграрного ун-ту*. Сер .Агрономія. 2012. № 16. С. 635–639.
30. Комарова І. Б., Лях В. О. Мінливість біометричних показників рижію ярого. *Науково-технічний бюлетень Ін-ту олійних культур УААН*. 2009. № 14. С. 120–129.
31. Рослинництво. Технології вирощування сільськогосподарських культур / В. В.Лихочвор, В. Ф. Петриченко, П. В. Іващук та ін. Львів : НВФ «Українські технології», 2010. 1085 с.
32. Демидась Г. І., Квітко Г. П., Гетман Н. Я. Рижій посівний - олійна культура альтернативна ріпаку ярому для виробництва біодизеля. *Зб. наук. праць ВНВУ*. 2011. № 8 (48). С. 3–8.

33. Campbell M. C., Rossi A. F., Erskine W. Camelina (*Camelina sativa* (L.) Crantz): Agronomic potential in Mediterranean environments and diversity for biofuel and food uses. *Crop Pasture Sci Cross Ref*. 2013. Vol. 64. P. 388–398.
34. Robinson R. G. *Camelina* : A useful research crop and a potential oilseed crop. Minnesota Agricultural Experiment Station. University of Minnesota. 1987. Bulletin 579. P. 1 –12.
35. Gugel R. K., Falk K. C. Agronomic and seed quality evaluation of *Camelina sativa* in western Canada. *Can. J. Plant Sci*. 2006. Vol. 86. P. 1047–1058.
36. Інформаційно-довідкова система «Реєстр сортів». URL : http://service.ukragroexpert.com.ua/index.php.
37. Фізіологічні та морфометричні характеристики нових форм та сортів ярого рижію (*Camelina sativa*) / Д. Б. Рахметов та ін. *Вісник Укр. т-ва генетиків і селекціонерів*. 2014. Т. 12, № 1. С. 65–77.
38. Лихочвор А. М. Урожайність та якість насіння рижію ярого залежно від впливу елементів технології вирощування в умовах Лісостепу західного : дис. … канд. с.-г. наук, 2017. 242 с.
39. Darbyshire S. J. Inventory of Canadian agricultural weeds. Agriculture and Agri-Food Canada, Ottawa, ON. 2003. URL : http://dsp-psd.pwgsc.gc.ca/Collection/ A42-100-2003E.pdf.
40. Elia´s P. *Camelina microcarpa* L. in Slovakia. *Acta Fytotech. Zootech.* 2003. Vol. 3. P. 57–61.
41. Лях В. О., Комарова І. Б. Вміст та жирнокислотний склад олії рижію. *Бюл. ін-ту зернового господарства*. 2010. № 38. С. 137–142.
42. Faten M. I., El Habbasha S. F. Chemical Composition, Medicinal Impacts and Cultivation of *Camelina* (*Camelina sativa*): Review. *Int. J. Pharm. Tech. Res.* 2015. Vol. 8, N 10. P. 114–122.
43. Москва І. С. Стан та перспективи вирощування рижію ярого на Півдні Степу України. *Вісник аграрної науки Причорномор'я*. 2016. № 1. С. 99–109.

44. Abramovic H., Abram V. Physico-chemical properties, composition and oxidative stability of Camelina sativa oil. *Food Technol. Biotechno*. 2005. № 43. P. 63–70.

45. Леонард Ч. Е. Рыжиковое масло: потенциальный источник линолевой кислоты. *INFORM*. 1998. № 9. 6 с.

46. Rode J. Study of autochthon Camelina sativa (L.) Crantz in Slovenia. *J. Herbs Spices Med. Plants.* 2002. Vol. 9. P. 313–318.

47. McVay K. Camelina Production in Montana. URL : http://www.montana.edu/wwwpb/pubs/mt200701AG.pdf.

48. Hunter J., Roth G. Camelina Production and Potential in Pennsylvania. URL : http://extension.psu.edu/plants/crops/grains/small/production/camelina-production-and-potential-in-pennsylvania.

49. Grady K., Nleya T. Camelina Production. URL : http://agbiopubs.sdstate.edu/articles/ExEx8167.pdf.

50. Москва І. С., Гамаюнова В. В. Ефективність застосування регуляторів росту на врожайність рижію ярого сорту Степовий. *Матеріали міжнар. наук.-практ. конф.*, м. Житомир, 19-20 листоп. 2015 р. Житомир : ЖНАЕУ. 2015. С. 83–86.

51. Рудаков О. Б. Рыжиковое масло - состав и свойства. *Масла и жиры*. 2005. № 1. С. 13.

52. Масличные культуры для пищевого использования (проблемы селекции, сортимент) / С. Н. Кутузова, В. А. Гаврикова, А. Г. Дубовская и др. СПб. : ВИР, 1998. 70 с.

53. Рензяева Т. В. Белковые продукты из жмыхов рапса и рыжика: получение, качество, биологическая ценность. *Достижения науки и техники АПК.* 2009. № 4. С. 70–72.

54. Russo, R.; Reggiani R. Glucosinolates and Sinapine in *Camelina* Meal. *Food Nutr. Sci.* 2017. Vol. 8. P. 1063–1073.

55. Evaluation of *Camelina sativa* (L.) Crantz meal as an alternative protein source in ruminant rations / S. Colombini et. al. *J. Sci. Food Agric*. 2014. Vol. 94. P. 736–743.

56. Бортников С. Л. Технология возделывания рыжика на семена в условиях Кузбасса. *Аграрная наука*. 2010. № 6. С. 18–20.

57. Полякова Р. С. Кузнецова Г. Н. Сорта капустных культур селекции Сибирской опытной станции. *Земледелие*. 2009. № 2. С. 48.

58. Karamać M., Gai F., Peiretti P. G. Effect of the Growth Stage of False Flax (*Camelina sativa* L.) on the Phenolic Compound Content and Antioxidant Potential of the Aerial Part of the Plant. *Pol. J. Food Nutr. Sci*. 2020. Vol. 70, N 2. P. 189–198.

59. J. Leaf flavonoids of the cruciferous species, *Camelina sativa, Crambe spp., Thlaspi arvense* and several other genera of the family *Brassicaceae* / Onyilagha et al. *Biochem. Systematics Ecology*. 2003. Vol. 31, N 11. P. 1309–1322.

60. Characterization of gum isolated from *Camelina* seed / N. Li, G. Qi, X. S. Sun, D. Wang. *Ind. Crops Prod*. 2016. Vol. 83. P. 268–274.

61. Effects of glycerol and nanoclay on physiochemical properties of camelina gum-based films / G. Qi et al. *Carbohydr. Polym.* 2016. Vol. 152. P. 747–754.

62. Cui S. W. Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications. Florida : CRC Press, 2005. P. 263–308.

63. Effect of spray drying on the properties of camelina gum isolated from camelina seeds / X. Cao et al. *Industrial Crops and Products*. 2018. Vol. 117. P. 278–285.

64. Knudsen K. E. B, Betty W. L. Determination of Oligosaccharides in Protein-Rich Feedstuffs by Gas-Liquid Chromatography and High-Performance Liquid Chromatography. *J. Agricult. Food Chem*. 1991. Vol. 39. P. 689–694.

65. Zubr J. Carbohydrates, vitamins and minerals of *Camelina sativa* seed. *Nutr. Food Sci.* 2010. Vol. 40. P. 523–531.

66. Kitts D. D. Carbohydrates and mineral metabolism. *Functional Food Carbohydrates*. CRC Press Boca Raton FL. 2007. P. 413–433.
67. Berdanier C. D. Carbohydrates In Berdanier CD (Ed). A*dvanced Nutriton: Macronutrients*. CRC Press Boca Raton FL. 2000. P. 197–258.
68. Slavin J. Dietary carbohydrates and risk of cancer. *Functional Food Carbohydrates*. CRC Press Boca Raton FL. 2007. P. 371–385.
69. Kumar P. R. Tsunoda S. Variation in oil content and fatty acid composition among seeds from the *Cruciferae*. *Brassica crops and wild allies: biology and breeding* / eds S. Tsunoda, K. Hinata, C. Gómez Campo ; Brassica Crops and Wild Allies. Tokyo : Japan Scientific Societies Press, 1980. P. 234–252.
70. Павленко К. С. Изучение динамики накопления флавоноидов в надземной части рыжика озимого. *Фундаментальные исследования*. 2013. № 10. С. 572–574.
71. Куркин В. А., Павленко К. С. Определение суммы флавоноидов в семенах рыжика озимого (*Camelina silvestris* L.). *Традиционная медицина*. 2012. № 5. С. 254–257.
72. Effects of dietary supplementation with camelina oil on porcine blood lipids / D. N. Eidhin, J. Burke, B. Lynch, D. O'Beirne. *J. Food Sci.* 2003. Vol. 68, N 2. P. 671–679.
73. Куркин В. А. Жирнокислотный состав масла семян рыжика озимого. *Фармация*. 2013. № 6. С. 30–32.
74. Russo R., Reggiani R. Antioxidants in flour of the oilseed crop Camelina sativa (L.) Crantz. *Int. J. Plant Biol*. 2018. Vol. 9, N 1. P. 39–42.
75. Кулакова С. Н., Гаппаров М. М., Викторова Е. В. О растительных маслах нового поколения в нашем питании. *Масложировая промышленность*. 2005. № 1. С. 4–8.
76. Hurtaud C., Peyraud J. L. Effects of feeding *Camelina* (seeds or meal) on milk fatty acid composition and butter spreadability. *J. Dairy Sci*. 2007. Vol. 90. P. 5134–5145.

77. Пешук Л. В., Носенко Т. Т. Біохімія та технологія оліжирової сировини. К. : Центр учбової літ., 2011. 296 с.

78. НаумкинВ. П. Проявления количественных признаков рыжика ярового при разных сроках сева. *Науково-технічний бюл. ін-ту олійних культур УААН*. 2009. № 1. С. 183–187.

79. Рыжик - перспективная масличная культура для производства биодизельного топлива / В. А. Гаврилова, Н. Г. Конькова, С. Нагорнов и др. *Агро XXI*. 2013. № 1-3. С. 43–44.

80. Moser B. R. *Camelina* (*Camelina sativa* L.) oil as a biofuels feedstock: Golden opportunity or false hope? *Lipid Technology*. 2010. Vol. 22, N 12. P. 270–273.

81. Alberti K. G. M. M., Zimmet P., Shaw J. Metabolic syndrome - a new worldwide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabetic Medicine*. 2006. Vol. 23, N 5. P. 469–480.

82. Grundy S. M. Metabolic Syndrome Pandemic. *Arteriosclerosis, Thrombosis Vascular Biol*. 2008. Vol. 28, N 4. P. 629–636.

83. Aronne L. J., Segal K. R. Adiposity and fat distribution outcome measures: assessment and clinical implications. *Obes Res*. 2002. Vol. 10, suppl. 1. P. 14S–21S.

84. Міщенко Л. А. Метаболічний синдром. *Здоров'я України*. 2007. № 10. С. 24–25.

85. Vollenweider P., vonEckardstein A., Widmann C. HDLs, Diabetes, and Metabolic Syndrome. *Handbook of Experimental Pharmacology*. 2014. Vol. 224. P. 405–421.

86. International Diabetes Federation Diabetes Atlas. 8th ed. URL : http://www.diabetesatlas.org.

87. Zheng Y., Ley S. H., Hu F. B. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat. Rev. Endocrinol*. 2018. Vol. 14, N 2. P. 88–98. URL : https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.151.

88. Асфандиярова Н. С. Смертность при сахарном диабете 2 типа. *Сахарный диабет*. 2015. № 18 (4). С. 12–21.

89. Contraindication to metformin therapy in patients with type 2 diabetes - a population-based study of adherence to prescribing quidelines / A. M. Emsley Smith et al. *Diabet. Med*. 2003. Vol. 18. P. 483–488.

90. Montgomery M. K., Turner N. Mitochondrial dysfunction and insulin resistance: an update. *Endocrine Connections*. 2015. № 4. P. 1–15.

91. Особливості фітотерапії цукрового діабету крізь призму коморбідності й профілактики ускладнень (огляд літ.) / О. І. Волошин та ін. *Міжнар. ендокринологіч. журн*. 2019. Т. 15, № 3. С. 258–267. URL : https://doi.org/10.22141/2224-0721.15.3.2019.172113.

92. Чазова И. Е., Мычка В. Б. Метаболический синдром. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2003. № 3. С. 32–38.

93. Phytotherapy in the Management of Diabetes: A Review / P. Governa et al. *Molecules*. 2018. Vol. 23, N 1. P. 105–127.

94. El-Soud N. A., El-Laithy N., El-Saeed G. Antidiabetic activities of Foeniculum vulgare Essential oil in streptozotocin-induced diabetic rats. *Macedonian J. Med. Sci*. 2011. Vol. 4. P. 139–146.

95. El-Abhar H. S., Schaalan M. F. Phytotherapy in diabetes: Review on potential mechanistic perspectives. *World J. Diabetes*. 2014. Vol. 5, N 2. P. 176–197.

96. Kar A., Choudhary B. K., Bandyopadhyay N. G. Comparative evaluation of hypoglycaemic activity of some Indian medicinal plants in alloxan diabetic rats. *J. Ethnopharmacol*. 2003. Vol. 84. P. 105–108.

97. Hypotensive, hypoglycemic and hypolipidemic effects of bioactive compounds from microalgae and marine microorganisms / C. Zhao et al. *Int. J. Food Sci. Technol*. 2015. Vol. 50, N 8. P. 1705–1717.

98. Камінський О. В. Офіційні критерії діагностики цукрового діабету, нормоглікемія і самоконтроль глікемії. *Міжнар. ендокринол. журн*. 2017. Т. 13, № 3. С. 184–190.

99. Державний реєстр лікарських засобів. URL : http://www.drlz.com.ua/.

100. Процька В. В. Фармакогностичне дослідження хости подорожникової та хости ланцетолистої) : дис. … канд. фарм. наук. Х., 2017. 224 с.

101. Практикум по фармакогнозии : учеб. пособие для студ. вузов / В. Н. Ковалев и др. Х. : Золотые страницы, 2003. 640 с.

102. Коляджин Т. І. Фармакогностичне дослідження астранції великої (*Astrantia major* L.) : дис. ... канд. фарм. наук. І.Ф, 2020. 215 с.

103. Гончаров О. В. Фармакогностичне дослідження видів роду глуха кропива : дис. …канд. фарм. наук. Х., 2016. 212 с.

104. Хохлова К. О. Розробка і валідація методики кількісного визначення суми флавоноїдів у настойці. *Фармац. часопис*. 2014. № 1. С. 93–97.

105. Солодовниченко Н. М., Журавльов М. С., Ковальов В. Н. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати : посіб. з фармакогнозії з основами біохімії лікар. рослин. Х. : Вид-во НФАУ. Золоті сторінки, 2001. 408 с.

106. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Держ. підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Х. : Держ. підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 3. 732 с.

107. Рокунь Д.-М. В. Фармакогностичне вивчення моркви посівної (*Daucus carota L. var. sativus*) : дис. ... канд. фарм. наук. Х., 2018. 190 с.

108. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Держ. підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Х. : Держ. підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.

109. Федосов А. І. Дослідження амінокислотного складу артишоку суцвіть. *Фармац. часопис*. 2017. № 3. С. 25–30.

110. Стойко Л. І. Фармакогностичне дослідження золототисячника звичайного (*Centaurium erythraea* Rafn.) і тирлича хрещатого (*Gentiana cruciata* L.) родини *Gentianaceae* : дис. ... канд. фарм. наук. Х., 2018. 167 с.

111. Ющишена О. В., Цуркан О. О. Кількісне визначення різних груп вуглеводів в листі, стеблах та суцвіттях вітексу священного (*Vitex agnus-*

castus L.) та вітексу коноплевидного (*Vitex cannabifolia* Sieb.). *Фармац. журн.* 2013. № 4. С. 89–94.

112. Кисличенко В. С., Ярошенко І. В., Кузнєцова В. Ю. Вивчення полісахаридного та елементного складу клубенів салепу. *Вісник фармації*. 2008. № 1. С. 8–11.
113. Козачок С. С., Марчишин С. М., Виноградов Б. О. Якісний склад та кількісний вміст органічних кислот у зборі антиалергічному. *Фармац. часопис*. 2012. № 4. С. 67–72.
114. Rodrigues M., Oderis M. Determination of Vitamin C and Organic Acids in various fruits by HPLC. *J. Chromatogr. Sci*. 2011. Vol. 11. P. 433–437.
115. Кількісне визначення органічних кислот у траві *Filipendula ulmaria* (L.) / Maxim. Н. Є. Бурда та ін. *Укр. біофармац. журн*. 2010. № 1 (6). С. 59–61.
116. 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. *Pharma Innovat. J*. 2017. Vol. 6, N 11. P. 463–466.
117. Study of macro- and microelements composition of *Veronica longifolia* L. herb and *Veronica teucrium* L. herb and rhizomes, and extracts obtained from the ses pecies / A. P. Osmachko at al. *Azerb. Pharmac. Pharmacother. J*. 2017. Vol. 17, N 1. P. 24–28.
118. Державна Фармакопея України / Держ. підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доп. 1. Х. : Держ. підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с
119. СтефановА. В. Доклинические исследования лекарственных средств. К. : Авиценна, 2002. 568 с.
120. High-fructose corn syrup causes characteristics of obesity in rats: increased body weight, body fat and triglyceride levels / M. E. Bocarsly, E. S. Powell, N.

M. Avena, B. G. Hoebel. *Pharmacol., Biochem. Behavior*. 2010. Vol. 97, N 1. P. 101–106.

121. Khitan Z., Kim D. H. Fructose: a key factor in the development of metabolic syndrome and hypertension. *J. Nutrition Metab*. 2013. 2013. P. 1–12.
122. Klevanova V., Trzhetsynskiy S. Antidiabetic activity of blood burnet extract in high fructose fed insulin resistant rats. *J. Pharmacy Pharmacol*. 2015. Vol. 3. P. 425–433.
123. Залесский В. Н., Великая Н. В. Молекулярные и биохимические механизмы развития печеночных и непеченочных эффектов фруктозы, фруктозо-индуцированное воспаление низких градаций. *Проблеми харчування*. 2012. № 3/4. С. 12–22.
124. Buccolo G. Quantitative determination of serum triglyceride by use of enzymes. *Clin. Chem*. 1973. Vol. 5. P. 476–482.
125. Настоянка первоцвіту весняного – джерело фенольних сполук з антиоксидантною активністю / Н. Є. Стадницька та ін. *Chemistry, Technol. Appl. Substance*. 2018. Vol. 1, N 1. P. 94–98.
126. Державна Фармакопея України / Держ. підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доп. 2. Х. : Держ. підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. 336 с.
127. Дослідження флавоноїдів первоцвіту весняного (*Primula veris* L.) / С. М. Марчишин, Л. Г. Шостак, М. І. Луканюк, І. М. Тимченко. *Здобутки клінічної і эксперим. медицини*. 2015. № 2-3. https://doi.org/10.11603/1811-2471.2015.v23.i2-3.5251.
128. Залигіна Є. В., Подплетня О. А., Соколова К. В. Визначення вмісту суми флавоноїдів ускладі густих екстрактів з незрілих плодів горіха волоського. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2018. № 4-5 (60). С. 69–73.

129. Experimental and chemometric study of antioxidant capacity of basil (*Ocimum basilicum*) extracts / B. Teofilović et al. *Industrial Crops and Products*. 2017. Vol. 100. P. 176–182.

130. Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview / D. Tungmunnithum, A. Thongboonyou, A. Pholboon, A. Yangsabai. *Medicines*. 2018. Vol. 5, N 3. P. 93.

131. Ali Asgar M. Anti-Diabetic Potential of Phenolic Compounds: A Review. *Int. J. Food Properties*. 2012. Vol. 16, N 1. P. 91–103.

132. Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability. *Phenolic Compounds-Biol. Activity* / I. O. Minatel et al. Ed. 1. Chapter : Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability. 2017. P. 24.

133. Ільїнська Н. І., Гонтова Т. М. Дослідження флавоноїдів у траві деяких сортів рослин роду Жоржина. *Укр. біофармац. журн*. 2017. № 2 (49). С. 50–52.

134. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Ю. С. Тараховский, Ю. А. Ким, Б. С. Абдрасилов, Е. Н. Музафаров. Пущино : Synchrobook, 2013. 311 с.

135. Войцехівська О. В., Ситар О. В., Таран Н. Ю. Фенольні сполуки: різноманіття, біологічна активність, перспективи застосування. *Вісник Харківського нац. аграрного ун-ту.* Сер. Біологія. 2015. Вип. 1. С. 104–119.

136. Марчишин С. М., Гусак Л. В., Бердей Т. С. Дослідження кислот гідроксикоричних трави чистецю зібольда. *Медична та клінічна хімія*. 2016. Т. 18, № 3. С. 13–16.

137. Порівняльний аналіз гідроксикоричних кислот артишоку, що вирощений в Україні та Франції / А. І. Федосов та ін. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2017. Т. 10, № 1. С. 49–53.

138. Chlorogenic Acid and Rutin Play a Major Role in the In Vivo Anti-Diabetic Activity of Morus alba Leaf Extract on Type II Diabetic Rats / A. Hunyadi et al. *PLoS ONE*. 2012. Vol. 7, N 11. P. e50619.

139. Делян Є. П. Амінокислотний склад надземних органів рослин роду *Sonchus*. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2016. № 1 (47). С. 102–106.

140. Марчишин С. М., Гарник М. С. Дослідження амінокислот трави розхідника звичайного (*Glechoma hederacea* L.). *Укр. біофармац. журн*. 2013. № 5. С. 40–44.

141. Шанайда М. І. Визначення якісного складу та кількісного вмісту вуглеводів у траві представників родини *Lamiaceae* Juss. *Фармац. часопис*. 2015. № 4. С. 15–18.

142. Reparative effects of lyceum barbarum polysaccharide on mouse ovarian injuries induced by repeated superovulation / B. Liu et al. *Theriogenology*. 2020. Vol. 145. P. 115–125. URL : http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.01.048.

143. Physicochemical, functional, and biological properties of water-soluble polysaccharides from *Rosa roxburghii* Tratt fruit / L.Wang et al. *Food Chem*. 2018. Vol. 249. P. 127–135. URL : http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.011.

144. Immune-enhancing effects of polysaccharides MLN-1 from by-product of Mai-luo-ning in vivo and in vitro / L. Nie et al. *Food Agricult. Immunol* .2019. Vol. 30, N 1. P. 369–384. URL : http://doi:10.1080/09540105.2019.1582612.

145. Guo T., Qing Wei J., Ping Ma J. Antitussive and expectorant activities of *Potentilla anserina*. *Pharm. Biol*.2015. Vol. 54, N 5. P. 807–811. URL : https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1080734.

146. Chen L., Huang G. Antitumor Activity of Polysaccharides: An Overview. *Curr. Drug Targets*. 2018. Vol. 19, N 1. P. 89–96. URL : https://doi.org/10.2174/1389450118666170704143018.

147. In vivo anti-radiation activities of the *Ulva pertusa* polysaccharides and polysaccharide-iron (III) complex / J. Shi et al. *Int. J. Biol. Macromolecules*. 2013. Vol. 60. P. 341–346. URL : https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.06.001.

148. Chen L., Huang, G. The antiviral activity of polysaccharides and their derivatives. *Int. J. Biol.l Macromolecules.* 2018. Vol. 115. P. 77–82. URL : https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.056.

149. Pentasaccharides for the treatment of deep vein thrombosis / G. M. Brandao, D. R. Junqueira, H. A. Rollo, M. L. Sobreira. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2017. URL : http://doi.org/10.1002/14651858.cd011782.pub2.

150. Chen G., Kan J. Characterization of a novel polysaccharide isolated from *Rosa roxburghii* Tratt fruit and assessment of its antioxidant in vitro and in vivo. *Int. J. Biol. Macromolecules*. 2018. Vol. 107. P. 166–174. URL : http://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.160.

151. Cho C.-W., Song Y.-R., Lim W.-C. Acute Oral Toxicity and Genotoxicity of Polysaccharide Fraction from Young Barley Leaves (*Hordeum vulgare* L.). *Foods*. 2020. Vol. 9, N. 6. P. 809–819. URL : http://doi:10.3390/foods9060809.

152. Дученко М. А., Демешко О. В., Романова С. В. Якісне та кількісне визначення органічних кислот *Gleditsia Triacanthos*. *Зб. наук. праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика*. 2017. Вип. 27. С. 55–60.

153. Жири у виробництві харчової продукції: монографія / Л. З. Шильман та ін. ; під заг. ред. Л. З. Шильмана. Суми : Університетська книга, 2016. 278 с.

154. Іжевська О. П. Дослідження ліпідів шроту насіння льону та перспектива використання його у м’ясних стравах. *Наук. вісник ЛНУВМБ імені С.З. Ґжицького. Сер: Харчові технології*. 2019. Т. 21, № 91. С. 9–13.

155. Москаленко А. М., Попова Н. В. Дослідження складу жирних кислот безсмертника приквіткового (*Helichrysum bracteatum*). *Укр. біофарм. журн*. 2018. № 4 (57). С. 64–68.

156. Порівняльне визначення амінокислотного та мінерального складу листя *Prunus Persica*, заготовленого в Таджикистані та Україні / Г. Ф. Наврузова та ін. *Фармац. часопис*. 2016. № 1. С. 30–33.

157. Хортецька Т. В., Смойловська Г. П., Мазулін О. В. Дослідження макро- та мікроелементного складу листя *Plantago altissima* L. *Національне виробництво й економіка в умовах реформування: стан і перспективи інноваційного розвитку та міжрегіональної інтеграції* : зб. наук. праць міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 30 жовт. 2015 р. (ПДАТУ, м. Кам'янець-Подільський). Тернопіль, 2015. С. 112–114.

158. Біоактивність неорганічних сполук : навч. посібн. для аудит. та самост. роботи студентів / Є. Я. Левітін, І. О. Ведерникова, А. О.Коваль, О. С. Криськів ; за ред. проф. Є. Я. Левітіна. Х. : НФаУ, 2017. 83 с.

159. Ковтун-Водяницька С. М. Мінеральний склад сировини рослин роду *Isodon* (*Schradex Bernth*) Spach. *Наукові записки НаУКМА. Біологія та екологія*. 2016. Т. 184. С. 29–33.

160. Макро- та мікроелементи (обмін, патологія та методи визначення): монографія / М. В. Погорєлов та ін. Суми : Вид-во СумДУ, 2010. 147 с.

161. Колісник Ю. С., Кисличенко В. С., Кузнєцова В. Ю. Пігменти трави грициків звичайних (*Capsella bursa-pastoris*). *Фармац. журн*. 2013. № 1. С. 75–77.

162. Дослідження елементного складу рижію посівного *(Camelina sativa (L.) Crantz)* та рижію дрібноплодого *(Camelina microcarpa Andrz.)* / 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.

163. Цикало Т. О., Тржецинський С. Д. Дослідження фенольних сполук рижію посівного (*Camelina sativa (L.) Crantz*) та рижію дрібноплодого (*Camelina microcarpa Andrz.*). *Фармац. часопис*. 2020. № 4. С. 18–24.

164. 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.

165. 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.

166. 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.

167. 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.

168. 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.

169. Сас І. А., ГрицикА. Р., Мельник М. В. Дослідження морфолого-анатомічних ознак видів роду Буквиця (*Betonica L.*). *Фармац. журн.* 2016. № 3-4. С. 70–75.

170. Цикало Т. О., Тржецинський С. Д. Макро- та мікроскопічне вивчення *Camelina sativa (L.) Crantz*. *Фармац. часопис*. 2019. № 1. С. 33–39.

171. 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.

172. 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 народження), 20-21 лют. 2020 р., К. : ПАЛИВОДА А. В., 2020. С. 271–273.

173. Настойки, экстракты, эликсиры и их стандартизация / А. Е. Александрова и др. СПб. : СпецЛит, 2001. 223 с.

174. Чернишов В. А., Чирва О. В., Валентинова І. А. Деякі особливості вторинної дисліпідемії у пацієнтів з високим кардіометаболічним ризиком. *Укр. терапевт. журн*. 2016. № 1. С. 50–60.

175. Поздняков В. В., Василенко А. О. Использование тест-систем для оценки общей антиоксидантной активности семян. *Селекція і насінництво*. 2017. Вип. 112. С. 153–163.

176. 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.

177. 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.

178. Гіпоглікемічний рослинний засіб : пат. 144188 Україна : МПК A61K 36/00, A61P 3/06, A61P 3/10, A61P 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.

179. Рутовський Я. А., Качмарська М. О. Метаболічний синдром, цукровий діабет: епідеміологія і наслідки для здоров'я. *Україна. Здоров'я нації*. 2012. № 2-3. С. 163–167.

180. Патогенез метаболічного синдрому та його зв'язок із перебігом доброякісної гіперплазії передміхурової залози / М. Л. Кирилюк, Ф. І. Костєв, Б. Д. Черпак, С. С. Шагалюк. *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія*. 2012. № 2. С. 3–15.

181. Метаболічний синдром: діагностика та профілактика в практиці сімейного лікаря / В. І. Ткаченко, Т. О. Багро, Н. В. Видиборець, О. К. Бондар. *Ліки України*. 2016. № 1-2 (197-198). С. 42–45.

182. Метаболічний синдром - небезпечний чинник у розвитку серцевих хвороб. *Здоров'я і довголіття*. 2011. № 35. URL : http://www.zid.com.ua/2011/09/metabolichnyj-syndromnebezpechnyj-chynnyk-u-rozvytku-sertsevyh-hvorob/?lang=uk.

183. Сорокіна М. В. Фармакологічне обґрунтування застосування сухого екстракту імбиру при цукровому діабеті 2 типу та метаболічному синдромі : дис. … канд. фарм. наук. Х., 2019. 202 с.

184. Мультидисциплінарний підхід до терапії метаболічного синдрому та ожиріння як запорука ефективності їхнього лікування / К. М. Милиця та ін. *Семейная медицина*. 2015. № 4. С. 38–40.

185. Совтус І. М. Можливості застосування лікарських рослин волинської області в фітотерапії цукрового діабету. *Медсестринство*. 2016. № 2. С. 40–43. URL : https://doi.org/10.11603/2411-1597.2015.2.5161.

186. Тронько Н. Д., Науменко В. Г. Принципы рациональной терапии сахарного диабета 2-типа : метод. рекомендации. К., 2005. 32 с.

187. Andre J. S. Cardiovascular Effects of New Oral Glucose-Lowering Agents DPP-4 and SGLT-2 Inhibitors. *Circ. Res*.2018. Vol. 122, N 10. P. 1439–1459.

188. Beneficial effects of ginger *Zingiber officinale* Roscoe on obesity and metabolic syndrome: a review / J. Wang et al. *Ann N.Y. Acad. Sci.* 2017. Vol. 1398 (1). P. 83–98.

189. Nasri H., Rafieian-Kopaei M. Metformin: Current knowledge. *Int. J. Res. Med. Sci*. 2014. Vol. 19, N 7. P. 658–664.

190. *Camelina sativa*: A study on amino acid content / Ș. L. Bătrîna et al. *Rom. Biotechnol. Lett*. 2020. Vol. 25, N 1. P. 1136–1142.

191. Physical and chemical characteristics and fatty acids composition of seeds oil isolated from *Camelina sativa* (L) cultivated in Mongolia / B. Chantsalnyam, C. Otgonbayar, O. Enkhtungalag, P. Odonmajig. .*Mongol. J. Chem.* 2014. Vol. 14. P. 80–83. URL : https://doi.org/10.5564/mjc.v14i0.205.

192. Zubr J. Dietary Fatty Acids And Amino Acids Of *Camelina Sativa* Seed. *J. Food Quality*. 2003. Vol. 26, N 6. P. 451–462. URL : https://doi:10.1111/j.1745-4557.2003.tb00260.x.

193. The cardiovascular effects of flaxseed and its omega-3 fatty acid, alpha-linolenic acid / D. Rodriguez-Leyva, C. M. C. Bassett, R. McCullough, G. N. Pierce. *Canad. J. Cardiol*. 2010. Vol. 26, N 9. P. 489–496. URL : https://doi:10.1016/s0828-282x(10)70455-4

194. Analisis of voliate compounds and triacylglycerol composition of fatty seed oil gained from flax and false flax / S. Kris, G. Stuebiger, S. Bail, H. Unterweger. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*. 2006. Vol. 108, N 1. P. 48–60.

195. Characterization of the morphological changes and fatty acid profile of developing *Camelina sativa* seeds / M. F. Rodríguez-Rodríguez et al. *Industrial Crops and Products*. 2013. Vol. 50. P. 673–679. URL : https://doi:10.1016/j.indcrop.2013.07.042.

196. Цинк і наноцинк: властивості, застосування у клінічній практиці / І. С. Чекман та ін. *Укр. мед. часопис*. 2013. № 2 (94), Т. III/IV. С. 42–47.

197. Метаболічні ефекти цинку (огляд літ.) / С. М. Мартинова та ін. *Укр. журн. медицини, біології та спорту*. 2019. Т. 4, № 6. С. 16–24.

198. Суслик Г. І., Капустинська О. С. Роль макро- та мікроелементів у патогенезі цукрового діабету 2-го типу. *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія*. 2014. № 2. С. 19–24.

199. Технічні культури: навч. посібник / О. С. Городецький, Л. М. Качан, С. П. Вахній, В. С. Хахула ; за ред. О. С. Городецького. Біла Церква, 2018. 288 с.

200. Рослинництво : практикум / О. І. Зінченко та ін. Вінниця : Нова Книга, 2008. 536 с.

201. Вивчення складу флавоноїдів і гіпоглікемічної дії сухих екстрактів стулок квасолі / Л. В. Вронська, А. І. Дуб, І. М. Кліщ, А. Є. Демид. *Укр. біофармац. журн*. 2018. № 2. С. 62–69.

202. Стечишин І. П., Дуб А. І. Антиоксидантна та гіпоглікемічна активність біофлавоноїдів за цукрового діабету II типу. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. № 6. С. 15–22.

203. Hypoglycemic effects of phenolic compounds-rich aqueous extract from water dropwort (*Oenanthe javanica* DC.) on streptozotocin-induced diabetic mice / S. He et al. *New J. Chem*.2020. DOI :10.1039/c9nj05533a.

204. Hypoglycemic activity of a novel anthocyanin-rich formulation from lowbush blueberry, *Vaccinium angustifolium* Aiton / M. H. Grace et al. *Phytomedicine*. 2009. Vol. 16, N 5. P. 406–415. DOI : 10.1016/j.phymed.2009.02.018.

205. Лозінська Л. М., Семчишин Г. М. Фруктоза як фактор розвитку карбонільного і оксидативного стресів та прискореного старіння дріжджів *Saccharomyces cerevisia*. *Укр. біохім. журн.* 2011. Т. 83, № 4. С. 67–76.

206. Comparative effects of fructose and glucose on lipogenic gene expression and intermediary metabolism in HepG2 liver cells / K. M. Hirahatake, J. K. Meissen, O. Fiehn, S. H. Adams. *PLoS One*. 2011. Vol. 6, N 11. P. 265–283.

207. Средство, обладающее гиполипидемическим, антиоксидантным и гипогликемическим действием, для лечения сердечно-сосудистых и эндокринных заболеваний и способ его применения : пат. 2246964 РФ :

МПК A61K 35/78, A61P 3/06, 3/10, 5/00, 9/00. Пром. собственность, 2005, Бюл. № 6.

208. Місюра К. В. Взаємозв'язок дисліпідемії з запаленням та інсулінорезистентністю у осіб із різною масою тіла. *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія*. 2017. № 4(60). С. 70–82.
209. Сахарный диабет и атеросклероз: эпигенетические механизмы патогенеза / Л. К. Соколова и др. *Укр. кардіол. журн*. 2017. № 6. С. 104–117.
210. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study/ I. M. Stratton et al. *Brit. Med. J*. 2000. Vol. 321. P. 405–412.
211. Іващенко І. В. Дослідження фенольних сполук полину естрагонового (*Artemisia dracunculus* L.) за інтродукції в Житомирському. *Агроекологічний журн*. 2016. № 2. С. 60–64
212. Rahman M. J., Ambigaipalan P., Shahidi F. Biological Activities of *Camelina* and *Sophia* Seeds Phenolics: Inhibition of LDL Oxidation, DNA Damage, and Pancreatic Lipase and α-Glucosidase Activities. *J. Food Sci*. 2017. Vol. 83, N 1. P. 237–245. DOI :10.1111/1750-3841.14007.

ДОДАТКИ

Додаток А

«Затверджую»
Проректор з науково-педагогічної роботи Національного фармацевтичного університету
професор _____
Інна ВЛАДИМИРОВА
«10» 06 2020 р.

Акт впровадження

1. **Найменування для впровадження:** Макро- та мікроскопічне дослідження видів роду Рижій.
2. **Ким запропоновано:** Запорізьким державним медичним університетом, кафедрою фармакогнозії, фармакології та ботаніки; 69035, м. Запоріжжя, просп. Маяковського, 26. **Автори:** Цикало Т.О., Тржецинський С.Д.
3. **Джерела інформації:**
   1) Цикало Т.О., Тржецинський С.Д. Макро- та мікроскопічне вивчення *Camelinasativa (L.) Crantz*. *Фармацевтичний часопис*. 2019. №1. С. 33-39.
   2) 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 травня 2018 р. Запоріжжя : ЗДМУ, 2018. С. 174-175.
   3) Цикало Т.О., Тржецинський С.Д., Рябчун В.К.Мікроскопічний аналіз рижію дрібноплодого. *PLANTA+. Досягнення та перспективи*: матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., присвяченої пам'яті доктора хімічних наук, професора Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження) 20–21 лютого 2020 р., Київ.: ПАЛИВОДА А. В., 2020. С. 271-273.
4. **Рекомендовано впровадити:**навчальний процес, у лекційному курсі.
5. **Термін впровадження:** 2019-2020 навчальний рік.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань морфолого-анатомічної будови рижію посівного та рижію дрібноплодого.

Завідувач кафедри ботаніки
Національного фармацевтичного університету
д. фарм. наук, проф. Тетяна ГОНТОВА

Продовж. дод. А

«Затверджую»
Проректор з науково-педагогічної
роботи НФаУ
проф. Тетяна КРУТСЬКИХ

«__» 09 2020р.

Акт впровадження

1. **Найменування для впровадження:** Результати фітохімічного дослідження видів роду рижій.
2. **Установа, автори:** Запорізький державний медичний університет, Цикало Т.О., Тржецинський С.Д.
3. **Джерела інформації:**

1. Цикало Т.О., Тржецинський С.Д., Гришина О.В., Рябчун В.К. Дослідження елементного складу рижію посівного (*Camelina sativa (L.) Crantz)* та рижію дрібноплодого (*Camelina microcarpa Andz.*). *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* 2018. Т.11, №3(28). С. 318-321.
2. 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, м. Тернопіль, 27-28 вересня 2018 р. Тернопіль, 2018. С.49-50.
3. Цикало Т.О. Визначення кількісного вмісту вільних органічних кислот в траві рижію посівного. Матеріали XIII міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених м. Тернопіль. 15-17 квітня 2019 р. Тернопіль, С. 231-232.
4. 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 м. Тернопіль, 30-31 травня 2019 р. Тернопіль, 2019. С.63-64.

4. **Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії Національного фармацевтичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, у лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань хімічного складу видів роду рижій.
7. **Строки впровадження:** вересень 2020- червень 2021 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармакогнозії
Національного фармацевтичного
університету,
д. фарм. наук, професор Кошовий О.М.

Продовж. дод. А

«Затверджую»
Проректор з наукової роботи
Тернопільського
національного медичного
університету імені
І. Я. Горбачевського МОЗ України
_____ проф. Кліщ І.М.
«14» 09 2020 р.

АКТ ВПРОВАЖЕННЯ

1. Найменування для впровадження: Перспективи використання рослин роду Рижій.

2. Установа, автори: Запорізький державний медичний університет, Цикало Т.О., Тржецинський С.Д.

3. Джерела інформації:

1. Цикало Т.О., Тржецинський С.Д., Гришина О.В., Рябчун В.К. Дослідження елементного складу рижію посівного *(Camelina sativa (L.) Crantz)* та рижію дрібноплодого *(Camelina microcarpa Andz.). Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2018. Т.11, №3(28). С. 318-321.

2. Цикало Т.О., Тржецинський С.Д. Макро- та мікроскопічне вивчення *Camelina sativa (L.) Crantz*. *Фармацевтичний часопис*. 2019. №1. С. 33-39.

3. Tetiana O. Tsykalo, Serhiy D. Trzhetsynskyi. 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; 69, 137-142.

4. Пат. на корисну модель 144188 Україна, МПК A61K 36/00, A61P 3/06, A61P 3/10, A61P 5/00. Гіпоглікемічний рослинний засіб / Цикало Т. О., Тржецинський С. Д. № u 2020 02233; заяв. 06.04.2020; опубл. 10.09.2020, Бюл. №17. 3 с.

4. Де впроваджено: кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

5. Форма впровадження: науково-дослідна робота, навчальний процес, у лекційному курсі.

6. Ефект від впровадження: вдосконалення методик фітохімічних, фармакологічних досліджень та поглиблення знань студентів в області морфолого-анатомічного аналізу рослинної сировини видів роду Рижій.

7. Строки впровадження: 2020-2021 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою
д. фарм. наук, професор **С. М. Марчишин**

Продовж. дод. А

«Затверджую»
Проректор з науково-педагогічної
роботи післядипломної освіти
ПВНЗ «Київський медичний
університет»
д. мед.н., проф. Доан С.І.
_____
«_14_» ____05____ 2020 р.

Акт впровадження

1. **Найменування для впровадження:** Перспективи використання рослин роду рижій.
2. **Установа, автори:** Запорізький державний медичний університет, Цикало Т.О., Тржецинський С.Д.
3. **Джерела інформації:**

1. Цикало Т.О., Тржецинський С.Д., Гришина О.В., Рябчун В.К. Дослідження елементного складу рижію посівного (Camelina sativa (L.) Crantz) та рижію дрібноплодого (Camelina microcarpa Andz.). *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2018. Т.11, №3(28). С. 318-321.
2. 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 м. Тернопіль, 30-31 травня 2019 р. Тернопіль, 2019. С.63-64.
3. Цикало Т.О. Визначення кількісного вмісту вільних органічних кислот в траві рижію посівного. Матеріали XIII міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених м. Тернопіль. 15-17 квітня 2019 р. Тернопіль, С. 231-232.
4. 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, м. Тернопіль, 27-28 вересня 2018 р. Тернопіль, 2018. С.49-50.
5. 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 вересня 2020 р. Тернопіль : ТНМУ, 2020. С.53-54.

4. **Де впроваджено:** кафедра фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет».
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, у лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань визначення біологічно активних речовин у сировині видів роду рижій.
7. **Строки впровадження:** 2019 – 2020 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармацевтичної
та біологічної хімії, фармакогнозії
ПВНЗ «Київський медичний університет»
доктор фармацевтичних наук **Коновалова О.Ю.**

Продовж. дод. А

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з науково-педагогічної
(інноваційної та науково-дослідної) роботи
Національного фармацевтичного
університету, доцент
_____ Інна ВЛАДИМИРОВА
«11» _____ 2020 року

Акт впровадження

1. Найменування для впровадження: Перспективи використання рослин роду Рижій.

2. Установа, автори: Запорізький державний медичний університет, Цикало Т.О., Тржецинський С.Д.

3. Джерела інформації:

1. Цикало Т.О., Тржецинський С.Д., Гришина О.В., Рябчун В.К. Дослідження елементного складу рижію посівного (*Camelina sativa (L.) Crantz)* та рижію дрібноплодого (*Camelina microcarpa Andz.*). *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2018. Т.11, №3(28). С. 318-321.

2. Цикало Т.О., Тржецинський С.Д. Макро- та мікроскопічне вивчення *Camelina sativa (L.) Crantz*. *Фармацевтичний часопис*. 2019. №1. С. 33-39.

3. Tetiana O. Tsykalo, Serhiy D. Trzhetsynskyi. 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; 69, 137-142

4. Пат. на корисну модель 144188 Україна, МПК A61K 36/00, A61P 3/06, A61P 3/10, A61P 5/00. Гіпоглікемічний рослинний засіб / Цикало Т.О., Тржецинський С.Д. № u 2020 02233; заяв. 06.04.2020; опубл. 10.09.2020, Бюл. №17. 3 с.

4. Де впроваджено: кафедра хімії природних сполук та нутриціології Національного фармацевтичного університету.

5. Форма впровадження: навчальний процес, у лекційному курсі.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань студентів з питань хімічного складу та фармакологічної активності видів роду Рижій.

7. Строки впровадження: 2019-2020 навчальний рік.

Завідувач кафедри хімії природних сполук і нутриціології Національного фармацевтичного університету, д. фарм. наук, професор **В. С. Кисличенко**

Відповідальний за впровадження: к. фармац. н., доцент кафедри хімії природних сполук і нутриціології НФаУ **О. М. Новосел**

Продовж. дод. А

«Затверджую»
Перший проректор
Івано-Франківського національного
медичного університету
_____ проф. Г.М. Ерстенюк
«30» 11 2020 р.

АКТ ВПРОВАЖЕННЯ

1. **Найменування для впровадження:** Фітохімічне вивчення видів роду рижій.
2. **Установа, автори:** Запорізький державний медичний університет, Цикало Т.О., Тржецинський С.Д.
3. **Джерела інформації:**

1. Цикало Т.О., Тржецинський С.Д., Гришина О.В., Рябчун В.К. Дослідження елементного складу рижію посівного (*Camelina sativa (L.) Crantz*) та рижію дрібноплодого (*Camelina microcarpa Andz.*). *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* 2018. Т.11, №3(28). С. 318-321.
2. 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 м. Тернопіль, 30-31 травня 2019 р. Тернопіль, 2019. С.63-64.
3. Цикало Т.О. Визначення кількісного вмісту вільних органічних кислот в траві рижію посівного. Матеріали XIII міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених, м. Тернопіль. 15-17 квітня 2019 р. Тернопіль, С. 231-232.
4. 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, м. Тернопіль, 27-28 вересня 2018 р. Тернопіль, 2018. С.49-50.
5. 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 вересня 2020 р. Тернопіль : ТНМУ, 2020. С.53-54.

4. **Де впроваджено:** кафедра фармації Івано-Франківського національного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес та науково-дослідна робота.
6. **Ефект від впровадження:** вдосконалення методик фітохімічних досліджень та поглиблення знань студентів з питань хімічного складу видів роду Рижій.
7. **Строки впровадження:** 2019 - 2020 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармації
Івано-Франківського національного
медичного університету
д. фарм. наук, професор **А.Р. Грицик**

Продовж. дод. А

«ЗАТВЕРДЖУЮ»:
Заст. директора з наукової роботи
_____ М. Р. Микитюк
«25» грудня 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування для впровадження:** Перспективи використання рижію посівного.
2. **Установа, автори:** Запорізький державний медичний університет, Цикало Т.О., Тржецинський С.Д.
3. **Джерела інформації:**

1. Tetiana O. Tsykalo, Serhiy D. Trzhetsynskyi. 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; 69, 137-142
2. Пат. на корисну модель 144188 Україна, МПК A61K 36/00, A61P 3/06, A61P 3/10, A61P 5/00. Гіпоглікемічний рослинний засіб / Цикало Т.О., Тржецинський С.Д. № u 2020 02233; заяв. 06.04.2020; опубл. 10.09.2020, Бюл. №17. 3 с.
3. Цикало Т.О., Тржецинський С.Д. Гіпоглікемічна активність екстрактів рижію посівного. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019*: збірник тез доповідей наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів 13-17 травня 2019 р., Запоріжжя: ЗДМУ, 2019, С. 157-158

4. **Де впроваджено:** Державна установа "Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України"
5. **Форма впровадження:** до використання у науково-дослідній роботі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань щодо фармакологічних досліджень сировини рижію посівного сорту Славутич.
7. **Строки впровадження:** грудень 2020- червень 2021р.

Відповідальний за впровадження:

Зав. відділом експериментальної фармакології
та токсикології
ДУ «Інститут проблем ендокринної
патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України»,
д-р. біол. наук, проф. Горбенко Н.І.

Продовж. дод. А

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Перший проректор
з науково-педагогічної роботи роботи
Львівського національного
медичного університету
імені Данила Галицького
член-кор. НАМНУ
професор М.Р.Гжегоцький
«26» 01 2021 р.

Акт впровадження

1. Найменування для впровадження: Результати вивчення видів роду Рижій як перспективних джерел нових видів ЛРС

2. Установа автори: Запорізький державний медичний університет, кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки; 69035, м. Запоріжжя, просп. Маяковського, 26. Цикало Т.О., Тржецинський С.Д.

3. Джерела інформації:

1. Цикало Т.О., Тржецинський С.Д., Гришина О.В., Рябчун В.К. Дослідження елементного складу рижію посівного *(Camelina sativa (L.) Crantz)* та рижію дрібноплодого *(Camelina microcarpa Andz.)*. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2018. Т.11, №3(28). С. 318-321.

2. Цикало Т.О., Тржецинський С.Д. Макро- та мікроскопічне вивчення *Camelina sativa (L.) Crantz*. *Фармацевтичний часопис*. 2019. №1. С. 33-39.

3. Tetiana O. Tsykalo, Serhiy D. Trzhetsynskyi. 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; 69, 137-142.

4. Гіпоглікемічний рослинний засіб: пат. 144188 Україна, МПК A61K 36/00, A61P 3/06, A61P 3/10, A61P 5/00. Цикало Т.О., Тржецинський С.Д. Заявник та патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т та автори. № u202002233; заявл. 06.04.2020; опубл. 10.09.2020, Бюл. №17. 3 с.

5. 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 вересня 2020 р. Тернопіль : ТНМУ, 2020. С.53-54.

6. 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 листопада 2020 р, Харків : НФаУ, 2020. С. 492-493.

4. Де впроваджено: кафедра фармакогнозії і ботаніки ЛНМУ імені Данила Галицького

5. Форма впровадження: у навчальний процес (лекційний курс та практичні заняття при вивченні тем «Полісахариди», «Фенольні сполуки») і наукову роботу (планування і виконання магістерських робіт)

6. Ефективність впровадження: поглиблення знань студентів щодо хімічного складу видів роду Рижій, а також перспектив їх використання як джерел нових видів ЛРС.

7. Термін впровадження: 2020-2021 навчальний рік

Розглянуто на засіданні кафедри фармакогнозії і ботаніки, протокол № 6 від 05.01.2021 року

Завідувач кафедри
фармакогнозії і ботаніки
Львівського національного
медичного університету імені Данила Галицького
канд. фарм. наук, доцент **Н.В. Шаповалова**

Додаток Б
СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ:

1. Дослідження елементного складу рижію посівного *(Camelina sativa (L.) Crantz)* та рижію дрібноплодого *(Camelina microcarpa Andrz.)* / 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 дрібноплодого (*Camelina microcarpa Andrz.*). *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 A61K 36/00, A61P 3/06, A61P 3/10, A61P 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).*

Додаток В
АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної медицини і фармації (до 50-річчя заснування ЗДМУ)» (Запоріжжя, 30 травня 2018 р., форма участі – публікація тез);

2. VII науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 27-28 вересня 2018 р., форма участі – публікація тез);

3. XIII міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 15-17 квітня 2019 р., форма участі – публікація тез);

4. Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної медицини і фармації (Запоріжжя, 13-17 травня 2019 р., форма участі – доповідь на секційному засіданні та публікація тез);

5. V Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 30-31 травня 2019 р., доповідь на секційному засіданні та публікація тез);

6. Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій пам’яті доктора хімічних наук, професора Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження) «PLANTA+. Досягнення та перспективи» (Київ, 20–21 лютого 2020 р., форма участі – публікація тез);

7. VII науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 23-24 вересня 2020 р., форма участі – публікація тез).

8. V міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів

різної направленості дії» (Харків, 26 листопада 2020 р., форма участі – публікація тез).

Додаток Г

УКРАЇНА

ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 144188

ГІПОГЛІКЕМІЧНИЙ РОСЛИННИЙ ЗАСІБ

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі **10.09.2020**.

Заступник Міністра розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України О.В. Романішин

Додаток Д

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВЯ УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з наукової роботи
Запорізького державного
медичного університету
професор _____ В.О. Туманський
«01» 02 2021 р.

Заявник, країна: _____

Виробник, країна: _____

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
(ПРОЄКТ)

Camelinae sativae herba

РИЖІЮ ПОСІВНОГО ТРАВА

Трава по 100 г у пачці

Продовж. дод. Д

6. ПАКУВАННЯ

По 100 г у чистих, сухих пачках із внутрішнім пакетом.

7. МАРКУВАННЯ (ТЕКСТ ЕТИКЕТУВАННЯ)

На пачці має бути вказана назва рослинної сировини латинською та українською мовами, найменування та місцезнаходження, номер телефону постачальника, знак для товарів та послуг, маса сировини в упаковці при максимально допустимій волозі, реєстраційний номер, номер партії (серії) та термін придатності.

8. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

У сухому захищеному від світла та вологи місці за температури не вище 25°С.

9. ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Розробники:
професор, доктор біологічних наук,
завідувач кафедри фармакогнозії,
фармакології та ботаніки
Запорізького державного
медичного університету С. Д. Тржецинський

Аспірант кафедри фармакогнозії,
фармакології та ботаніки
Запорізького державного
медичного університету Т. О. Цикало

Продовж. дод. Д

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВЯ УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з наукової роботи
Запорізького державного
медичного університету
професор _____ В.О. Туманський
«01» 02 2021р.

Заявник, країна: _____

Виробник, країна: _____

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
(ПРОЄКТ)

Camelinae microcarpae herba

РИЖІЮ ДРІБНОПЛОДОГО ТРАВА

Трава по 100 г у пачці

Продовж. дод. Д

6. ПАКУВАННЯ

По 100 г у чистих, сухих пачках із внутрішнім пакетом.

7. МАРКУВАННЯ (ТЕКСТ ЕТИКЕТУВАННЯ)

На пачці має бути вказана назва рослинної сировини латинською та українською мовами, найменування та місцезнаходження, номер телефону постачальника, знак для товарів та послуг, маса сировини в упаковці при максимально допустимій волозі, реєстраційний номер, номер партії (серії) та термін придатності.

8. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

У сухому захищеному від світла та вологи місці за температури не вище 25°С.

9. ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Розробники:
професор, доктор біологічних наук,
завідувач кафедри фармакогнозії,
фармакології та ботаніки
Запорізького державного
медичного університету С. Д. Тржецинський

Аспірант кафедри фармакогнозії,
фармакології та ботаніки
Запорізького державного
медичного університету Т. О. Цикало

Продовж. дод. Д

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВЯ УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з наукової роботи
Запорізького державного
медичного університету
професор _____ В.О. Туманський
«01» 02 2021 р.

Заявник, країна: _____

Виробник, країна: _____

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
(ПРОЄКТ)

Camelina sativa (L.) Crantz herbae extractum spissum
РИЖІЮ ПОСІВНОГО ТРАВИ ЕКСТРАКТ ГУСТИЙ
у банках із скломаси для виробництва нестерильних лікарських форм по 100 г

Продовж. дод. Д

5. ПАКУВАННЯ

По 100 г у чистих, скляних банках із гвинтовою горловиною з пластмасовими кришками, що нагвинчуються.

6. МАРКУВАННЯ

На етикетці має бути вказана назва препарату латинською та українською мовами, найменування та місцезнаходження заявника та виробника, маса субстанції, реєстраційний номер, номер партії (серії) та термін придатності.

7. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

У сухому захищеному від світла та вологи місці за температури не вище 12-15°С.

8. ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Розробники:

професор, доктор біологічних наук,
завідувач кафедри фармакогнозії,
фармакології та ботаніки
Запорізького державного
медичного університету С. Д. Тржецинський

Аспірант кафедри фармакогнозії,
фармакології та ботаніки
Запорізького державного
медичного університету Т. О. Цикало