ПВНЗ «Київський медичний університет»

ПВНЗ «Київський медичний університет»

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Анзіна Катерина Миколаївна

УДК: 615.322:582.929.4

ДИСЕРТАЦІЯ

Фармакогностичне дослідження деяких представників роду Самосил

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

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

Науковий керівник Гудзенко Андрій Вікторович, доктор фармацевтичних наук

Київ – 2023

АНОТАЦІЯ

Анзіна К.М. Фармакогностичне дослідження деяких представників роду Самосил. − Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація» (22 – Охорона здоров'я). – ПВНЗ «Київський медичний університет», Київ, 2023.

У дисертаційній роботі наведено результати експериментального комплексного фармакогностичного дослідження самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys* L.) та самосилу гірського (*Teucrium montanum* L.), встановлення вмісту основних класів біологічно активних речовин та параметрів стандартизації рослинної сировини.

В експериментальних дослідженнях за допомогою хімічних реакцій та інструментальних методів (паперова хроматографія, тонкошарова хроматографія, високоефективна рідинна хроматографія, газова хроматографія з мас-детекцією, ультрафіолетова та видима спектрофотометрія) проведено дослідження трави, листя, коренів, стебел та суцвіть самосилу гайового та самосилу гірського. Встановлено наявність таких компонентів, як полісахариди, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, монотерпени, тритерпеноїди, сесквітерпени, амінокислоти, вуглеводні, дубильні речовини, стерини, іридоїди, фенілпропаноїди, токофероли, хлорофіли та каротиноїди.

Хімічними та фізико-хімічними методами аналізу у сировині досліджуваних об'єктів визначено 117 компонентів, а саме: 3 гідроксикоричні кислоти, 3 флавоноїди, 18 амінокислот, 9 жирних кислот, 3 цукри, 21 монотерпен та монотерпеноїд, 23 сесквітерпени, 1 тритерпен, 1 токоферол, 3 стерини, 2 хлорофіли, 4 фенілпропаноїди, 7 вуглеводнів, 5 спиртів, 10 альдегідів та 4 кетони.

За допомогою рентгенфлуоресцентного методу аналізу досліджено якісний склад та кількісний вміст макро- та мікроелементів у коренях, суцвіттях, листках, стеблах і траві досліджуваної сировини, ідентифіковано та визначено вміст 13 мікро- та макроелементів. На основі отриманих даних можна зробити висновок, що в самосилі гайовому найбільший вміст мікро- та макроелементів встановлено в листках, а найменший – в коренях. Щодо самосилу гірського, то найбільший вміст мікро- та макроелементів встановлено в траві рослини, найменший – у суцвіттях. В найбільшій кількості в органах обох видів містились чотири елементи – калій, кальцій, сульфур та хлор. Калій має найбільшу концентрацію майже в усій сировині самосилу гайового (листя – 5169,55мг/100 г; суцвіття – 4580,81мг/100 г; стебло – 4576,73 мг/100 г; трава – 3544,36 мг/100 г; корені – 2207,42 мг/100 г). Для сировини самосилу гірського найбільш поширеним макроелементом є сірка, вміст якої в траві, коренях та стеблах становить 4312,70 мг/100 г, 3246,02 мг/100 г та 3461,13 мг/100 г відповідно. Досить у великій кількості також виявлено кальцій, концентрація в листях самосилу гайового становить 5274,91 мг/100 г, а в листях самосилу гірського – 3850,46 мг/100 г.

Для підтвердження якісного та визначення кількісного складу суми амінокислот використовували методику, запропоновану Штейном і Муром у сучасній модифікації, зі застосуванням автоматичного аналізатора амінокислот. Отримані дані свідчать про наявність 18 амінокислот, з яких 7 є незамінними. Найбільшу кількість амінокислот містить трава *Teucrium chamaedrys* L. – 7,161 мг/100 мг. Вміст амінокислот у коренях самосилу гайового та траві самосилу гірського практично однаковий 3,853 мг/100 мг та 3,703 мг/100мг відповідно. Найменша кількість амінокислот міститься у коренях самосилу гірського – 2,391 мг/100мг. В найбільшій кількості у траві і коренях *Teucrium montanum* L. та коренях *Teucrium chamaedrys* L. виявлено аспарагінову кислоту – 0,528 мг/100 мг, 0,336 мг/100 мг та 0,849 мг/100 мг відповідно, тоді як у траві *Teucrium chamaedrys* L. домінуючим компонентом є глутамінова кислота.

Визначення вмісту летких сполук проведено методом газової хроматографії з масс-детекцією. В екстракті трави самосилу гайового було виявлено та ідентифіковано 42 леткі компоненти. Найбільшу концентрацію серед летких сполук трави самосилу гайового має сесквітерпен хамазулен, вміст якого складає 53,20 мг/кг сировини, або 17,38 % вмісту всіх ідентифікованих летких сполук об'єкту дослідження. Дещо менший вміст має летка сполука віридифлорол, вміст якого складає 32,80 мг/кг сировини (10,72 % від усіх ідентифікованих летких сполук трави самосилу гайового). До мажоритарних речовин леткої фракції трави самосилу гайового відносяться наступні леткі сполуки: β-каріофіллен, сабінілацетат та гермакрен D, вміст яких складає 25,60 мг/кг, 24,40 мг/кг та 17,20 мг/кг сировини відповідно, або 8,36 %, 7,97 % та 5,62 %, від всіх ідентифікованих летких сполук самосилу гайового. В екстракті трави самосилу гірського було виявлено та ідентифіковано 44 леткі компоненти. Найбільшу концентрацію серед летких сполук трави самосилу гірського має каріофіленоксид, вміст якого складає 39,10 мг/кг сировини, або 14,09 % вмісту всіх ідентифікованих летких сполук об'єкту дослідження. До мажоритарних речовин леткої фракції трави самосилу гірського відносяться наступні леткі сполуки: гермакрен D, евгенол, вербенол та 1-октен-3-ол, вміст яких складає 22,80 мг/кг, 20,80 мг/кг, 18,20 мг/кг та 18,10 мг/кг сировини відповідно, або 8,22 %, 7,50 %, 6,56 % та 6,52 % відповідно від суми ідентифікованих сполук самосилу гірського.

Дослідження вмісту гідроксикоричних кислот та флавоноїдів проводили методом високоефективної рідинної хроматографії. В найбільшій кількості у сировині самосилу гайового переважає цикорієва кислота, її вміст у листі, траві та коренях становить відповідно 2,9257±0,050 %, 1,6057±0,048 % та 5,6548±0,167 %. Для сировини самосилу гірського є характерним високий вміст хлорогенової кислоти (в листях - 1,9429±0,058 %, в траві - 0,6026±0,017 % та 0,4782±0,014 % в коренях). Серед флавоноїдів в найбільшій кількості у сировині самосилу гайового виявлено рутин, вміст якого у листі, траві та коренях дорівнює 0,4237±0,012 %, 0,4069±0,012 % та 0,0302±0,001 %

відповідно. У сировині самосилу гірського вміст рутину також є найбільшим і становить 0,2667±0,007 % у листі та 0,0766±0,002 % у коренях рослини.

Вивчення жирнокислотного складу сировини проводили з використанням методу газової хроматографії детектуванням іонізацією полум'я. В ліпофільній фракції самосилу гайового ідентифіковано 8 жирних кислот, а в екстракті самосилу гірського відповідно 9. В найбільшій кількості в обох представниках, а саме самосилі гайовому та самосилі гірському знайдено вміст стеаринової кислоти, що складає 38,23 % та 32,15 % відповідно.

Дослідження кількісного вмісту полісахаридних фракцій в сировині самосилу гайового та самосилу гірського показало, що вміст полісахаридних фракцій у сировині самосилу гайового та самосилу гірського схожий. В найбільшій кількості виявлено ВРПС (3,12 % для самосилу гайового та 2,81 % для самосилу гірського). Вміст ПР становить 1,2 % і 0,97 % відповідно. Вміст ГЦ А визначено як 2,63 % для самосилу гайового та 2,36 % самосилу гірського. В найменшій кількості міститься ГЦ Б (1,08 % та 0,92 % відповідно).

За допомогою спектрофотометричного методу проведено дослідження вмісту ліпофільних речовин, а саме токоферолів, хлорофілів та каротиноїдів. Вміст токоферолів у два рази вищий в сировині самосилу гайового, ніж у сировині самосилу гірського. Вміст хлорофілів у обох видах сировини практично однаковий. Проте вміст каротиноїдів у сировині самосилу гірського вищий, ніж у сировині самосилу гайового.

З застосуванням методів ВЕРХ, ГХ-МС, ГРХ та УФ-спектрофотометрії розроблені методики аналізу сировини самосилу гайового та самосилу гірського за вмістом наступних БАР: флавоноїдів, оксикоричних кислот, полісахаридів, поліфенолів, амінокислот, жирних кислот, каротиноїдів, токоферолів та хлорофілів. В досліджуваній сировині встановлено високий вміст похідних гідроксикоричних кислот (для самосилу гайового – від 2,69±0,11 % до 2,75±0,12 %, для самосилу гірського – від 1,72±0,06 % до 2,10±0,07 %), флавоноїдів (для самосилу гайового – від 0,38±0,02 % до 0,44±0,02 %, для самосилу гірського – від 0,21±0,01 % до 0,24±0,01 %),

поліфенолів (для самосилу гайового – від 2,61±0,11 % до 3,07±0,12 %, для самосилу гірського – від 1,47±0,05 % до 2,51±0,09 %).

Обґрунтовано вибір оптимальних умов екстракції біологічно активних речовин із обох видів сировини. Оптимальними умовами екстракції є: використання сировини зі ступенем подрібнення 2-3 мм; в якості екстрагенту застосовувати 70 % етиловий спирт; співвідношення між сировиною та екстрагентом – 1:20; час екстракції – 45 хвилин, кратність екстракції - 2.

Проведено визначення морфолого-анатомічних ознак сировини самосилу гайового та самосилу гірського. Виявлено анатомо-морфологічні ознаки, що характерні для кожного з досліджених видів сировини та дозволяють ідентифікувати досліджувані об’єкти, а саме характерне опушення адаксіальної та абаксіальної поверхні і особливості епідермальних клітин листкової пластинки, особливості латеральних сторін зубців та їх апікальних кінців.

З метою стандартизації сировини визначено показники доброякісності для трави самосилу гайового, трави самосилу гірського, а також для сухого екстракту самосилу гайового. Описано способи ідентифікації та визначення кількісного вмісту основних груп біологічно активних речовин, які використано для розробки проектів МКЯ. Розроблені проекти МКЯ «Трава самосилу гайового», «Трава самосилу гірського», «Сухий екстракт трави самосилу гайового».

За результатами проведеного дослідження гострої токсичності сухого екстракту самосилу гайового встановлено, що він належить до V класу токсичності (практично не токсичних речовин) та виявляє протизапальну, антиоксидантну, анальгезуючу та протисудомну дію.

Новизна наукових досліджень підтверджено заявкою на патент України на корисну модель «Спосіб стандартизації трави самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys* L.) в багатокомпонентних рослинних сумішах» (заявка № U 2023 05076).

Результати фармакогностичного дослідження впроваджено у навчальний процес та науково-дослідну роботу споріднених кафедр закладів вищої освіти України.

Ключові слова: самосил гайовий, самосил гірський, фармакогностичне вивчення, біологічно активні речовини, анатомо-морфологічні ознаки, стандартизація, сухий екстракт, протизапальна активність, антиоксидантна активність.

Список публікацій здобувача

1. Anzina K. M., Gudzenko A. V., Kalko K. O. Preliminary phytochemical screening and antioxidant activities of the extract of *Teucrium chamaedrys L. PharmacologyOnLine*. 2021. V. 2, P. 972-977. (Scopus). (*Особистий внесок* – брала участь у плануванні та проведені експерименту, в обговоренні, обробці результатів дослідження та підготовці статті)
2. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Амінокислотний склад трави та коренів деяких перспективних рослин роду *Teucrium L.* флори України. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2022. Том 15. Випуск 6. С. 414–419. https://doi.org/10.33250/15.06.414 (*Особистий внесок* – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)
3. Anzina K. M., Gudzenko A. V. Component composition of essential oils of grass *Teucrium chamaedrys L.* using gas chromatography method with mass detection. *Farmatsevtychnyi Zhurnal*. 2022. Вип. 3. P. 77-81. https://doi.org/10.32352/0367-3057.3.22.09 (*Особистий внесок* – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)
4. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Вивчення вмісту полісахаридів у траві самосилу гайового та самосилу гірського. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2022. Том 16. Випуск 2. С. 131-135. https://doi.org/10.33250/16.02.131 (*Особистий внесок* – брала участь у плануванні та проведені експерименту, в обговоренні, обробці результатів дослідження та підготовці статті)

5. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Дослідження мікро- та макроелементного складу двох видів роду Самосил (*Teucrium* L.). *Фармацевтичний часопис*. 2022. Вип. 1. С. 20–24. https://doi.org/10.11603/2312-0967.2022.1.13053 (*Особистий внесок* – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)

6. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Вивчення вмісту амінокислот деяких вегетативних органів Teucrium chamaedrys L. *«Globalization of scientific knowledge: international cooperation and integration of sciences»*: матеріали III міжнародної науково-практичної конференції, 17 червня 2022, Вінниця, Україна - Відень, Австрія. Grail of Science. Випуск 16. С. 580-581. https://doi.org/grail-of-science.17.06.2022.100

7. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Визначення концентрації амінокислот в траві та коренях Teucrium montanum L.. *«Débats scientifiques et orientations prospectives du développement scientifique»:* матеріали III міжнародної науково-практичної конференції, 8 липня 2022, Париж, Франція. Collection of scientific papers «ΛΌГОΣ». С. 360-361. https://doi.org/logos-08.07.2022.106

8. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Дослідження кількісного вмісту мікро- та макроелементів *Teucrium chamaedrys* L. *«Grundlagen der modernen wissenschaftlichen forschung»*: матеріали II міжнародної науково-практичної конференції. 12 серпня 2022, Цюріх, Швейцарія. Collection of scientific papers «ΛΌГОΣ». С. 187-188. https://doi.org/logos-12.08.2022.59

9. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Порівняння кількісного вмісту мікро- та макроелементів у вегетативних органах *Teucrium montanum* L. *«Formation of innovative potential of world science»*: матеріали III міжнародної науково-теоретичної конференції, 19 серпня 2022, Тель-Авів, Ізраїль. Collection of scientific papers «SCIENTIA». 2022. С. 229-230. https://doi.org/10.36074/scientia-19.08.2022

10. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Аналіз жирнокислотного складу самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys* L.). *«Інноваційні тенденції сьогодення в сфері природничих, гуманітарних та точних наук»*: матеріали III

міжнародної наукової конференції, 29 вересня 2023, м. Рівне, Україна. Міжнародний центр наукових досліджень. Вінниця: Європейська наукова платформа, 2023.С. 177-179 https://doi.org/10.36074/mcnd-29.09.2023

11. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Визначення жирнокислотного складу самосилу гірського (*Teucrium montanum* L.). *«Ricerche scientifiche e metodi della loro realizzazione: esperienza mondiale e realtà domestiche»*: матеріали IV міжнародної науково-практичної конференції, 29 вересня 2023, Болонья, Італія. Collection of scientific papers «ΛΌГОΣ». 2023. С. 257-258. https://doi.org/10.36074/logos-29.09.2023

12. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Дослідження гострої токсичності сухого екстракту самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys L*). *«Scientific forum: theory and practice of research»*: матеріали IV міжнародної науково-теоретичної конференції, 6 жовтня 2023, Валенсія, Іспанія. Collection of scientific papers «SCIENTIA». 2023. С. 88-90 https://doi.org/10.36074/scientia-06.10.2023

13. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Визначення протизапальної активності сухого екстракту самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys L*). *«Інтелектуальний ресурс сьогодення: наукові задачі, розвиток та запитання»*: матеріали І міжнародної наукової конференції, 6 жовтня 2023. м. Дніпро, Україна. Міжнародний центр наукових досліджень. Вінниця: ТОВ «УКРЛОГОС Груп, 2023. 116 с. С. 100-101 https://doi.org/10.36074/mcnd-06.10.2023

ANNOTATION

Anzina K.M. Pharmacognostic study of representatives of *Teucrium* genus. – Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for obtaining the scientific degree of Doctor of Philosophy in specialty 226 "Pharmacy, industrial pharmacy" (22 - Health care). – PHEE «Kyiv Medical University», Kyiv, 2023.

The dissertation is devoted to the results of an experimental complex pharmacognostic study of representatives of the *Teucrium* genus: *Teucrium chamaedrys* L. and *Teucrium montanum* L., establishing the content of the main classes of biologically active compounds (BAC) and parameters of standardization of plant raw materials.

In experimental studies, using chemical reactions and instrumental methods (paper chromatography, thin-layer chromatography, high-performance liquid chromatography, gas chromatography with mass detection, ultraviolet and visible spectroscopy) on herb, leaves, roots, stems, and inflorescences of *Teucrium chamaedrys* L. and *Teucrium montanum* L. was determined the presence of such components as polysaccharides, hydroxycinnamic acids, flavonoids, monoterpenes, triterpenoids, sesquiterpenes, amino acids, hydrocarbons, tannins, sterols, iridoids, phenylpropanoids, tocopherols, chlorophylls, and carotenoids.

Using chemical and physicochemical methods, 117 components were qualitatively and quantitatively determined in the raw materials of the studied objects, namely: 3 hydroxycinnamic acids, 3 flavonoids, 18 amino acids, 9 fatty acids, 3 sugars, 21 monoterpenes and their derivatives, 23 sesquiterpenes, 1 triterpene, 1 tocopherol, 3 sterols, 2 chlorophylls, 4 phenylpropanoids, 7 hydrocarbons, 5 alcohols, 10 aldehydes and 4 ketones.

The qualitative composition and quantitative content of macro- and microelements in roots, inflorescences, leaves, stems and herb were investigated using the X-ray fluorescence method of analysis. The content of 13 micro- and macroelements was identified and determined. Based on the obtained data, it can be concluded that the highest content of micro- and macroelements in *Teucrium chamaedrys* L. was found in the leaves and the lowest content in the roots. As for *Teucrium montanum* L., the highest content of micro- and macroelements was found in the herb of the plant, the lowest - in the inflorescences. Four elements – potassium, calcium, sulfur, and chlorine – were found in the largest quantities in the raw materials of both species. Potassium has the highest concentration in almost all of the raw materials of *Teucrium chamaedrys* L. (leaves – 5169.55 mg/100 g;

inflorescences – 4580.81 mg/100 g; stem – 4576.73 mg/100 g; herb – 3544.36 mg/100 g; roots – 2207.42 mg/100 g). For the raw material of *Teucrium montanum* L., the most common macroelement is sulfur, the content of which in herb, roots, and stems is 4312.70 mg/100 g, 3246.02 mg/100 g, and 3461.13 mg/100 g, respectively. A rather large amount of calcium was also detected, the concentration in the leaves of *Teucrium chamaedrys* L. is 5274.91 mg/100 g, and in the leaves of *Teucrium montanum* L. – 3850.46 mg/100 g.

The qualitative and quantitative composition of the amino acids was confirmed by the method proposed by Stein and Moore in a modern modification, with the use of an automatic amino acid analyzer. The obtained data indicate the presence of 18 amino acids, of which 7 are essential. The herb *Teucrium chamaedrys* L. contains the largest amount of amino acids - 7.161 mg/100 mg. The content of amino acids in the roots of *Teucrium chamaedrys* L. and the herb of *Teucrium montanum* L. is almost the same, 3.853 mg/100 mg and 3.703 mg/100 mg, respectively. The smallest amount of amino acids is found in the roots of *Teucrium montanum* L. - 2.391 mg/100 mg. Aspartic acid was detected in the greatest amount in the herb and roots of *Teucrium montanum* L. and the roots of *Teucrium chamaedrys* L. - 0.528 mg/100 mg, 0.336 mg/100 mg and 0.849 mg/100 mg, respectively, while in the herb *Teucrium chamaedrys* L. the dominant component is glutamic acid.

Determination of the content of volatile compounds was carried out by the method of gas chromatography with mass detection. 42 volatile components were detected and identified in the extract of the herb *Teucrium chamaedrys* L.. The sesquiterpene hamazulene has the highest concentration among the volatile compounds of the herb *Teucrium chamaedrys* L., the content of which is 53.20 mg/kg of raw material, or 17.38 % of the content of all identified volatile compounds of the research object. The volatile compound viridiflorol has a slightly lower content, the content of which is 32.80 mg/kg of raw material (10.72 % of all identified volatile compounds of the grass *Teucrium chamaedrys* L.). The following volatile compounds include the following volatile compounds: β-caryophyllene,

sabinyl acetate and germacrene D, the content of which is 25.60 mg/kg, 24.40 mg/kg and 17.20 mg/kg of raw material, respectively, or 8.36 %, 7.97 % and 5.62 %, of all identified volatile compounds of the self-strength of the tree. 44 volatile components were detected and identified in the extract of the *Teucrium montanum* L. herb. Caryophyllene oxide has the highest concentration among the volatile compounds of the *Teucrium montanum* L. grass, the content of which is 39.10 mg/kg of raw material, or 14.09 % of the content of all identified volatile compounds of the research object. The following volatile compounds are included in the majority of the volatile fraction of the *Teucrium montanum* L. grass: hermacrene D, eugenol, verbenol, and 1-octen-3-ol, the content of which is 22.80 mg/kg, 20.80 mg/kg, 18.20 mg/ kg and 18.10 mg/kg of raw material, respectively, or 8.22 %, 7.50 %, 6.56 %, and 6.52 %, respectively, of the sum of the identified compounds of the *Teucrium montanum* L..

The study of the content of hydroxycinnamic acids and flavonoids was carried out by the method of high-performance liquid chromatography. Chicory acid prevails in the largest quantity in the raw material of *Teucrium chamaedrys* L., its content in the leaves, herb, and roots is 2.9257±0.050 %, 1.6057±0.048 % and 5.6548±0.167 %, respectively. A high content of chlorogenic acid is characteristic of the raw material of *Teucrium montanum* L. (1.9429±0.058 % in the leaves, 0.6026±0.017 % in the herb, and 0.4782±0.014 % in the roots). Among the flavonoids, rutin was found in the largest quantity in the raw material of *Teucrium chamaedrys* L., the content of which in the leaves, herb, and roots is equal to 0.4237±0.012 %, 0.4069±0.012 % and 0.0302±0.001 %, respectively. The rutin content is also the highest in the raw material of *Teucrium montanum* L. and equal to 0.2667±0.007 % in the leaves and 0.0766±0.002 % in the roots of the plant.

The study of the fatty acid composition of raw materials was carried out using the method of gas chromatography with flame ionization detection. Were identified 8 fatty acids in the lipophilic fraction of *Teucrium chamaedrys* L., and 9 fatty acids were identified in the extract of *Teucrium montanum* L., respectively. The

content of stearic acid, which is 38.23 % and 32.15 %, prevails in the largest amount in both representatives.

The study of the quantitative content of polysaccharide fractions in the raw materials of *Teucrium chamaedrys* L. and *Teucrium montanum* L. showed that the content of polysaccharide fractions in the raw materials of *Teucrium chamaedrys* L. and *Teucrium montanum* L. is similar. In the largest number, water-soluble polysaccharides were found (3.12 % for *Teucrium chamaedrys* L. and 2.81 % for *Teucrium montanum* L.). The content of pectin substances is 1.2 % and 0.97 %, respectively. The content of hemicellulose A is defined as 2.63 % for *Teucrium chamaedrys* L. and 2.36 % for *Teucrium montanum* L.. The smallest amount contains hemicellulose B (1.08 % and 0.92 %, respectively).

Using the spectrophotometric method, the content of lipophilic substances, namely tocopherols, chlorophylls, and carotenoids, was studied. The content of tocopherols is two times higher in the raw material of *Teucrium chamaedrys* L. than in the raw material of *Teucrium montanum* L.. The content of chlorophylls in both types of raw materials is practically the same. However, the content of carotenoids in the raw materials of *Teucrium montanum* L. is higher than in the raw materials of *Teucrium chamaedrys* L..

Using the methods of HPLC, GC-MS, GC, and UV-spectrophotometry, the optimal parameters for the analysis of raw materials of *Teucrium chamaedrys* L. and *Teucrium montanum* L. were investigated for the content of the following BAC: flavonoids, oxycinnamic acids, polysaccharides, polyphenols, amino acids, fatty acids, carotenoids, tocopherols and chlorophylls. The high content of oxycinnamic acid derivatives (for *Teucrium chamaedrys* L. – 2,69±0,11 % to 2,75±0,12 %, for *Teucrium montanum* L. – 1,72±0,06 % to 2,10±0,07 %), flavonoids (for *Teucrium chamaedrys* L. – 0,38±0,02 % to 0,44±0,02 %, for *Teucrium montanum* L. – 0,21±0,01 % to 0,24±0,01 %), polyphenols (for *Teucrium chamaedrys* L. – 2,61±0,11 % to 3,07±0,12 %, for *Teucrium montanum* L. – 1,47±0,05 % to 2,51±0,09 %).

The choice of optimal conditions for the extraction of biologically active compounds from both types of raw materials is substantiated. The optimal extraction conditions are the use of raw materials with a grinding degree of 2-3 mm; use 70 % ethyl alcohol as an extractant; the ratio between raw materials and extractant is 1:20; extraction time - 45 minutes, multiplicity of extraction - 2.

Morphological-anatomical features of the raw materials of *Teucrium chamaedrys* L. and *Teucrium montanum* L. were determined. Anatomical and morphological features characteristic of each of the studied types of raw materials and allowing identification of the studied objects were revealed, namely, the characteristic pubescence of the adaxial and abaxial surface and the features of the epidermal cells of the leaf plate, the features of the lateral sides of the waves and their apical ends.

To standardize the raw materials, the indicators of good quality were determined for the herb of *Teucrium chamaedrys* L., the herb of *Teucrium montanum* L., as well as for the dry extract of *Teucrium chamaedrys* L.. The methods of identification and determination of the quantitative content of the main groups of biologically active compounds were used for the projects of quality control techniques (QCT). The projects of the quality control techniques for "Herb of *Teucrium chamaedrys* L.", "Herb of *Teucrium montanum* L.", and "Dry extract of *Teucrium chamaedrys* L." were developed.

According to the results of the study of the acute toxicity of the dry extract of *Teucrium chamaedrys* L., it was established that it belongs to the V class of toxicity (practically non-toxic substances) and exhibits anti-inflammatory, antioxidant, analgesic and anticonvulsant effects.

The novelty of the conducted research is confirmed by an application for a patent of Ukraine for a useful model "Method of standardization for the *Teucrium chamaedrys* L. herb in multi-component plant mixtures" (application № U 2023 05076).

The results of the pharmacognostic research were incorporated into the educational process and research work of related departments of higher education institutions in Ukraine.

Keywords: *Teucrium chamaedrys* L., *Teucrium montanum* L., pharmacognostic study, biologically active compounds, anatomical and morphological features, standardization, dry extract, anti-inflammatory activity, antioxidant activity.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ 2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ 18
ВСТУП 19
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНИЙ СТАН ВИВЧЕННЯ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ САМОСИЛ (Огляд літератури) 25
1.1 Загальна характеристика роду Самосил 25
1.2 Сучасний стан дослідження біологічно-активних речовин рослин роду Самосил 32
1.3 Застосування в медицині представників роду Самосил 43
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ 50
2.1 Матеріали та методи досліджень 50
2.2 Методики аналізу 54
2.3 Фармакологічні методи 61
РОЗДІЛ 3. ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У СИРОВИНІ ДЕЯКИХ ВИДІВ РОДУ САМОСИЛ 64
3.1 Ідентифікація основних груп біологічно активчних речовин 64
3.2 Вивчення елементного складу видів роду Самосил 76
3.3 Аналіз амінокислотного складу видів роду Самосил 82
3.4 Визначення вмісту летких сполук методом газової хроматографії з масс-детекцією 86
3.5 Дослідження вмісту гідроксикоричних кислот та флавоноїдів методом ВЕРХ 93
3.6 Встановлення жирнокислотного складу сировини видів роду Самосил 105
3.7 Визначення суми поліфенольних сполук в сировині 108
3.8. Визначення вмісту полісахаридів 111
3.9 Дослідження вмісту хлорофілів, каротиноїдів та токоферолів 114

Висновки до розділу 3 118
РОЗДІЛ 4. СТАНДАРТИЗАЦІЯ СИРОВИНИ ВИДІВ РОДУ САМОСИЛ .. 124
4.1 Анатомо-морфологічне вивчення видів роду Самосил 124
4.2 Розробка способів екстракції біологічно активних речовин із сировини..... 139
4.3 Визначення показників доброякісності сировини роду Самосил..... 148
4.4 Стандартизація самосилу гайового у рослинних сумішах 166
Висновки до розділу 4 168
РОЗДІЛ 5. ВИЗНАЧЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ОДЕРЖАННЯ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ СУХОГО ЕКСТРАКТУ САМОСИЛУ ГАЙОВОГО..... 170
5.1 Технологічні параметри одержання сухого екстракту самосилу гайового..... 170
5.2 Визначення показників доброякісності сухого екстракту трави самосилу гайового..... 173
5.3 Дослідження гострої токсичності..... 183
5.4 Дослідження протизапальної активності 187
5.5 Вивчення анальгезуючої та протисудомної активності..... 190
5.6 Дослідження антиоксидантної активності 192
Висновки до розділу 5 195
ВИСНОВКИ..... 198
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ..... 200
ДОДАТКИ..... 221

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АНД – аналітична нормативна документація;

АРА – антирадикальна активність;

БАР – біологічно активні речовини;

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;

ВРПС – водорозчинні полісахариди;

ГХ-МС – газорідинна хроматографія з масс детекцією;

ГЦ А – геміцелюлоза А;

ГЦ Б – геміцелюлоза Б;

ДФУ – Державна фармакопея України;

ЛРС – лікарська рослинна сировина;

МКЯ – методика контролю якості;

НТД – нормативно-технічна документація;

ПР – пектинові речовини;

ПХ – паперова хроматографія;

РСЗ – робочий стандартний зразок;

УФ – ультрафіолетовий;

ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Рослинні лікарські засоби широко використовуються як традиційною, так і народною медициною та складають суттєву частку всіх існуючих лікарських препаратів. Це обумовлено насамперед тим, що біологічно активні речовини (БАР) із сировини рослинного походження, при використанні протягом тривалого часу, не викликають значних побічних дій, є малотоксичними, проявляють широкий спектр терапевтичної дії.

На особливу увагу заслуговують ті лікарські рослини, що широко розповсюджені на території України, і до того ж мають великий досвід використання в медичній практиці. Проте, до наступного часу ще не для всієї вітчизняної традиційної лікарської рослинної сировини розроблена необхідна аналітично-нормативна документація з використанням сучасних методів аналізу.

Рослини роду Самосил в останній час активно вивчаються іноземними дослідниками щодо розробки та впровадження в практику нових лікарських засобів на їх основі. Рослини цього роду широко розповсюджені на території України, і вже тривалий час використовуються в народній медицині.

Аналіз джерел літератури свідчить про недостатнє фармакогностичне вивчення видів роду Самосил флори України, інформація про якісний склад та кількісний вміст БАР в сировині є незначною.

У зв`язку із вищезазначеним є доцільним проведення дослідження рослин даного роду з метою виявлення нових джерел біологічно активних речовин серед культивованих рослин та розробка відповідних методик контролю якості (МКЯ) на сировину та фітопрепаратів на їх основі, застосовуючи сучасні методи аналізу.

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

Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи ПВНЗ «Київський медичний університет» «Експериментальне і клінічне обґрунтування механізмів дії біологічно активних речовин, фізичних та інформаційних факторів» (№ державної реєстрації 0113U007296).

Мета і завдання дослідження

Метою роботи є фармакогностичне дослідження самосилу гайового та самосилу гірського для визначення показників контролю якості сировини і потенційних лікарських засобів за вмістом біологічно активних речовин з використанням сучасних методів аналізу.

Для досягнення цієї мети були поставлені такі завдання:

- провести фітохімічне дослідження сировини самосилу гайового та самосилу гірського;

- розробити методики аналізу біологічно активних речовин в сировині самосилу гайового та самосилу гірського, в моно- та багатокомпонентних препаратах;

- розробити спосіб одержання та провести стандартизацію екстрактів з трави самосилу гайового та трави самосилу гірського;

- вивчити фармакологічні властивості сухого екстракту з сировини самосилу гайового та визначити можливість створення лікарських засобів;

- розробити проекти методик контролю якості (МКЯ) на сировину самосилу гайового та самосилу гірського та на їх перспективні фітокомпозиції.

Об'єкт дослідження. Комплексне фармакогностичне дослідження видів роду Самосил, розробка та дослідження субстанцій, одержаних на основі сировини.

Предмет дослідження. Визначення якісного складу та кількісного вмісту БАР (терпеноїдів, фенолкарбонових та гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, полісахаридів, амінокислот тощо), мікро- та макроелементів у сировині та субстанціях, одержаних на їх основі; технологічні параметри

одержаних субстанцій; встановлення анатомічних діагностичних ознак сировини; дослідження показників якості сировини; розробка проектів МКЯ на сировину та субстанції; встановлення фармакологічної активності та токсичності отриманих субстанцій та лікарських засобів на їх основі.

Методи дослідження

Біологічно активні речовини вивчали з використанням фармакопейних методів аналізу, зокрема, використовували тонкошарову (ТШХ), паперову хроматографію (ПХ), методи високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), газо-рідинної хроматографії (ГРХ), ультрафіолетову (УФ) та інфрачервону (ІЧ) спектрофотометрію. Хімічну будову виділених речовин встановлювали методом УФ-спектрального аналізу з використанням спектрофотометра Shimadzu UV-1800, обладнаного УФ-детектором. ВЕРХ аналіз проводився на хроматографі Shimadzu ser. 20, обладнаному діодно-матричним детектором. ГХ-МС-аналіз проводився на газовому хроматографі Agilent 6890, обладнаному мас-спектрометричним детектором (модель 5973). Фармакологічні дослідження проводились *in vivo* та *in vitro*.

Статистичну обробку отриманих результатів експериментальних досліджень проводили згідно з вимогами ДФУ.

Наукова новизна отриманих результатів

Уперше проведено комплексне фармакогностичне вивчення сировини двох видів роду Самосил – самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys* L.) та самосилу гірського (*Teucrium montanum* L.).

Хімічними та фізико-хімічними методами у сировині досліджуваних об’єктів визначено 117 компонентів, а саме: 3 гідроксикоричні кислоти, 3 флавоноїди, 18 амінокислот, 9 жирних кислот, 3 цукри, 21 монотерпен та монотерпеноїд, 23 сесквітерпени, 1 тритерпен, 1 токоферол, 3 стерини, 2 хлорофіли, 4 фенілпропаноїди, 7 вуглеводнів, 5 спиртів, 10 альдегідів та 4 кетони.

Для трави самосилу гайового та самосилу гірського встановлено морфолого-анатомічні діагностичні ознаки та запропоновано параметри стандартизації.

Вперше розроблено способи одержання сухого екстракту з трави самосилу гайового, проведено його дослідження та запропоновано параметри стандартизації. Вивчено гостру токсичність та фармакологічну активність.

Новизна наукових досліджень підтверджено заявкою на патент України на корисну модель «Спосіб стандартизації трави самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys* L.) в багатокомпонентних рослинних сумішах».

Практичне значення отриманих результатів

Одержані фітохімічні та фармакологічні дані вказують на можливість використання самосилу гайового та самосилу гірського як лікарської рослинної сировини.

Розроблено проекти МКЯ «Трава самосилу гайового», «Трава самосилу гірського» та «Сухий екстракт трави самосилу гайового».

Розроблені методики аналізу БАР самосилу гайового та самосилу гірського запропоновані для удосконалення методів аналізу препаратів самосилу гайового та самосилу гірського.

Результати досліджень впроваджено у науково-дослідну роботу лабораторії фармацевтичного аналізу та навчальний процес Державної лабораторії з контролю якості лікарських засобів ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», кафедри клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, кафедри фармакогнозії та нутриціології Національного фармацевтичного університету, кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету ім І. Я. Горбачеського МОЗ України, кафедри фармацевтичного управління, технології ліків та фармакогнозії Івано-Франківського національного медичного університету, кафедри фармацевтичної технології і біофармації Національного університету охорони здоров’я України ім. П. Л. Шупика.

Особистий внесок здобувача

У наукових працях, опублікованих самостійно та зі співавторами особисто автором:

- проведений аналіз літературних даних щодо ботанічної характеристики, розповсюдження, хімічного складу і використання самосилу гайового та самосилу гірського в медицині;

- встановлено основні групи БАР в сировині самосилу гайового та самосилу гірського;

- ідентифіковано 117 БАР в сировині самосилу гайового та самосилу гірського;

- розроблено способи одержання екстрактів самосилу гайового та самосилу гірського;

- розроблено методики стандартизації трави самосилу гайового, трави самосилу гірського та сухого екстракту самосилу гайового для існуючих та потенційних препаратів, виготовлених на їх основі, за вмістом БАР з застосуванням сучасних аналітичних методів.

Постановка мети, задач дослідження, а також обговорення та узагальнення результатів здійснено за участю наукового керівника.

Співавторами наукових праць є науковий керівник та науковці, спільно з якими проведені дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на наступних науково-практичних конференціях: III Міжнародна науково-практична конференція «Globalization of scientific knowledge: international cooperation and integration of sciences».(17 червня 2022, Вінниця, Україна – Відень, Австрія); III Міжнародна науково-практична конференціїя «Débats scientifiques et orientations prospectives du développement scientifique» (8 серпня 2022, Париж, Франція); II Міжнародна науково-практична конференція «Grundlagen der

modernen wissenschaftlichen forschung» (12 серпня 2022, Цюріх, Швейцарія); III Міжнародна науково-теоретична конференція «Formation of innovative potential of world science» (19 серпня 2022, Тель Авів, Ізраїль); III Міжнародна наукова конференція «Інноваційні тенденції сьогодення в сфері природничих, гуманітарних та точних наук» (29 вересня 2023, Рівне, Україна); IV Міжнародна науково-практична конференціїя «Ricerche scientifiche e metodi della loro realizzazione: esperienza mondiale e realtà domestiche». (29 вересня 2023, Болонья, Італія); IV Міжнародна науково-теоретична конференція «Scientific forum: theory and practice of research» (6 листопада 2023, Валенсія, Іспанія); I Міжнародна наукова конференція «Інтелектуальний ресурс сьогодення: наукові задачі, розвиток та запитання» (6 листопада 2023, Дніпро, Україна).

Обсяг та структура дисертації

Дисертаційна робота викладена на 262 сторінці машинописного тексту, складається із анотації, вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 3 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 165 сторінок друкованого тексту. Робота проілюстрована 37 таблицями та 82 рисунками. Список використаних джерел налічує 192 найменування, з них 93 кирилицею та 99 латиницею.

РОЗДІЛ 1.
СУЧАСНИЙ СТАН ВИВЧЕННЯ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ САМОСИЛ
(Огляд літератури)

1.1 Загальна характеристика роду Самосил

Рослинні препарати, також відомі як фітопрепарати, виготовляють з лікарської рослинної сировини або екстрактів, отриманих з рослин. Вони використовувалися протягом століть у традиційній і народній медицині, і продовжують використовуватися сьогодні як форма альтернативної або додаткової терапії [1].

Існує декілька потенційних переваг використання рослинних препаратів, до яких відносять їх природне походження, значно меншу кількість побічних ефектів (у порівнянні з синтетичними препаратами), велику різноманітність рослинних засобів та можливість використання для лікування широкого спектру захворювань [2, 3, 4, 5].

Однак важливо зазначити, що безпека та ефективність рослинних препаратів не були ретельно вивчені, і необхідні додаткові дослідження, щоб повністю зрозуміти їх переваги та недоліки.

Для розширення переліку лікарської рослинної сировини, що використовується у традиційній медицині, необхідно проведення постійних пошуків нових об’єктів та аналіз їх можливостей до впровадження в медичну практику [6].

Одним з важливих критеріїв в процесі пошуку нових об’єктів потенційної лікарських рослинної є ареал їх поширення. Дослідження ареалу поширення лікарських рослин надає інформацію про їх здатність до виживання у різних середовищах, пошуку нових біологічно активних речовин (оскільки хімічний склад може змінюватись відповідно до місця прозростання) та можливості перенесення в інші регіони для вирощування, що дозволяє забезпечувати їхні ресурси там, де вони не є ендеміками [7, 8, 9, 10].

Однак варто зауважити, що збір лікарських рослин потребує обережного підходу, оскільки недбале використання може призвести до зниження їх популяцій або загрози зникнення. Для ефективного використання лікарських рослин має бути забезпечений баланс між їх збереженням та використанням [11, 12, 13].

До одних з найбільш поширених родин рослин варто віднести родину Глухокропивових, або Губоцвітих (*Lamiaceae*), яка включає більше 7000 родів [7].

Рослини цієї родини мають унікальні характеристики та багатий хімічний склад, а також дуже широкий спектр використання для лікування проблем зі шкірою, дихальною та травною системами, а також мають протизапальні, антиоксидантні та протигрибкові властивості.

Багато видів з родини *Lamiaceae* використовуються як спеції та ароматизатори і також можуть бути використані як природні антибіотики та консерванти [3, 6, 14].

Загальними характеристиками рослин родини *Lamiaceae* можна назвати: стебла прямостоячі або висхідні, прості або гіллясті від основи; супротивне листя яйцеподібної форми з великою кількістю ефіро-олійних залоз; квітки з двома губами (верхня губа містить дві пелюстки (шоломоподібна), а нижня губа містить три (трилопатева)); стебла квадратної форми, які є характерними та легко впізнаваними; плід – сухий горішок, що складається з чотирьох [3, 15].

Одним з родів, що входить до родини Глухокропивових є рід самосил (*Teucrium*), таксономічне положення якого наведено в таблиці 1.1.

Відповідно до інформаційної карти Королівського ботанічного саду в К'ю (рис. 1.1) рослини роду *Teucrium* можна віднайти як в країнах Північної та Південної Америки, Африки, так і в Європі, Середній Азії та навіть Австралії [16].

Таблиця 1.1

Таксономічна характеристика роду Самосил

Одиниці класифікації	Таксономічна характеристика роду самосил
Домен:	Еукаріоти (Eukaryota)
Царство:	Рослини (Plantae)
Відділ:	Судинні (Tracheophytes)
Надклас:	Покритонасінні (Angiosperms)
Клас:	Евдикоти (Eudicots)
Порядок:	Губоцвіті (Lamiales)
Родина:	Глухокропивові (Lamiaceae)
Рід:	Самосил (Teucrium)

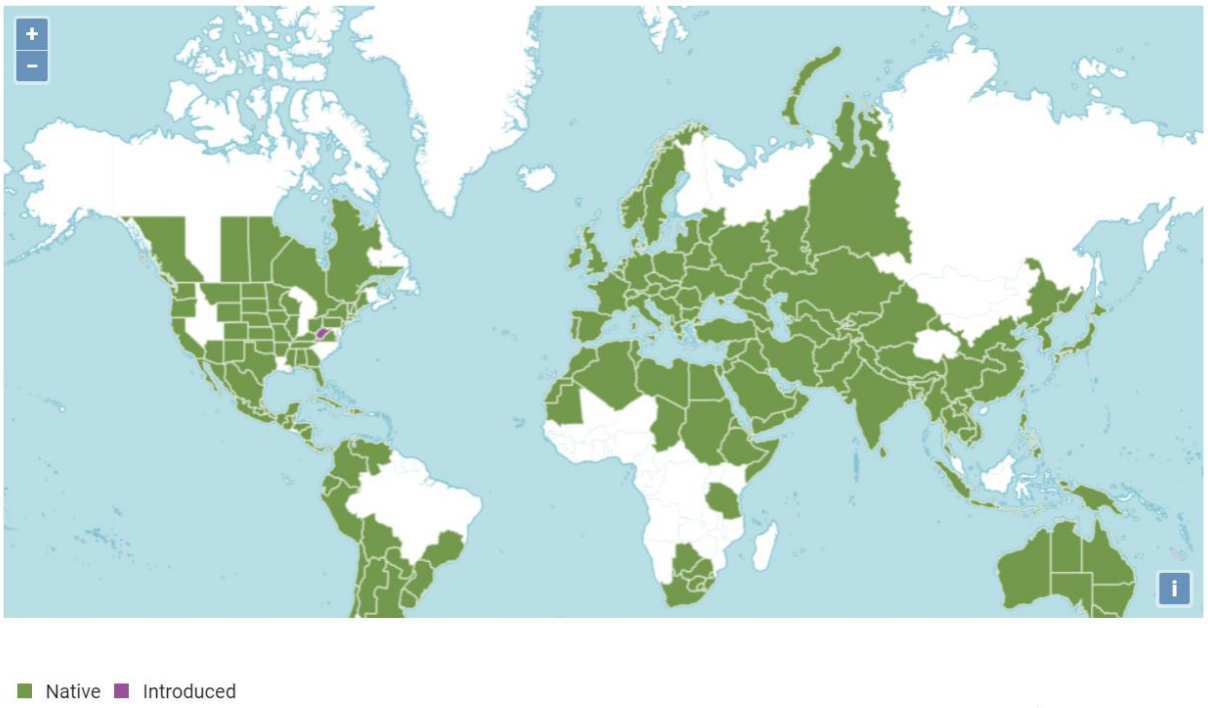


Рис. 1.1 Ареал поширення рослин роду *Teucrium* [16].

Рослини роду Самосил – це чагарники, напівчагарники або багаторічні трави (рідше однорічні або дворічні), часто ароматні.

Листки супротивні, сидячі або черешкові, прості, по краю цільні, різнозубчасті або перисто-лопатеві.

Суцвіття — пазушний напівзонтик, або волотистий чи колосоподібний щиток. Напівзонтик часто зведений до одиночних квіток, розташованих у пазухах листків або в приквіткових кистях чи голівках [17, 18].

Чашечка актиноморфна або 2-губа, зросла або ні, 5-лопатева, частки всі подібні або задня частка відрізняється від інших чотирьох, або задня, бічна та передня частки диференційовані як різні типи.

Віночок різного кольору, зазвичай 1-губий з передньою губою, рідко 2-губий, 5-лопатевий, передня частка набагато більша за інші, зазвичай увігнута

Тичинок чотири дводинамічні, витягнуті, нитки дугоподібні або прямі, оболонки роздвоєні, зазвичай зливаються при розриві. Зав'язь неглибоко 4-лопатева. Рильця рівні або нерівні [19].

Плоди - горішки від обернено-яйцеподібних до сплющених або півкулястих, зазвичай від сітчасто-ребристих до альвеолярних, опушені або голі, мають латеральні рубці прикріплення, в 0,3-0,8 рази довші за горішок. Зазвичай присутній ендосперм [20, 21].

Самосил гайовий (Teucrium chamaedrys L.*)*, також відомий як Germander або Wall Germander, є багаторічною рослиною, що походить із Середземноморського регіону (рис. 1.2) [22].

Ареал поширення Самосилу гайового охоплює Середню, Атлантичну і південь Східної Європи, Кавказ, Середземномор'я, Малу Азію, Ірано-Туранську область; тип ареалу – субсередземноморський [15, 23, 24].

Самосил гайовий - це низькорослa рослина, яка зазвичай використовується як ґрунтопокривна або бордюрна рослина в садах. Найкраще росте в ґрунті з хорошим дренуванням і віддає перевагу сонцю, ніж півтіні. Він стійкий до посухи, може переносити спеку та посушливі умови,

але при регулярному поливі буде рости інтенсивніше. Щоб стимулювати здоровий ріст, важливо регулярно його удобрювати збалансованим добривом.



Рис. 1.2 Ареал поширення *Teucrium chamaedrys* L.

Самосил гайовий схильний до грибкових захворювань, таких як борошниста роса та коренева гниль, тому важливо уникати надмірного поливу та забезпечити належний дренаж. Такі шкідники, як слимаки та равлики, також можуть харчуватися листям, тому важливо перевіряти наявність цих шкідників [15].

Загалом *Teucrium chamaedrys* L. — це рослина, яка не потребує догляду, і добре підходить для різноманітних умов саду.

Самосил гайовий (рис. 1.3) має пагони довжиною 15-40 см, що мають не дуже густе опушення. Стебла з дерев'янистою основою, які ростуть горизонтально та зазвичай вкриті шаром м’яких волосків [25].



Рис. 1.3 Зовнішній вигляд самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys* L.)

Листки супротивні яйцевидно-еліптичні з розширеною основою, ширококлиноподібні, городчато-зубчасті, знизу негусто опущені, зверху майже голі. Листки зазвичай мають довжину 2-4 см і мають темно-зелений колір.

Самосил гайовий має невеликі квітки з двома губами, зазвичай рожевого або фіолетового кольору. Квітки зібрані в кисті і тримаються на коротких квітконіжках. Чашечка розсіяно опушена, зубці її трикутні. Плід горішок коричневого кольору, до 1,5 мм завдовжки [8, 25, 26].

Рослина має неглибоку, волокнисту кореневу систему, яка поширюється горизонтально та допомагає прикріпити рослину до землі. Зазвичай росте на скелях і кам'янистих схилах, на узліссях лісів і в степовій смузі [27].

Самосил гірський (Teucrium montanum L.*),* також відомий як гірський германець, або блакитний германець, поширений переважно у Середній Європі і Північному Середземномор'ї. Тип ареалу - середньоєвропейсько-балканський (рис. 1.4) [15, 22].

В Україні дуже поширений на вапняково-крейдяних відслоненнях Західного Поділля (Тернопільська, Рівненська, Івано-Франківська області) [24].



Рис. 1.4 Ареал поширення *Teucrium montanum* L.

Самосил гірський (*Teucrium montanum* L.) - це вічнозелена розпростерта напівчагарникова рослина висотою 15-30 см, здерев'яніла біля основи (рис. 1.5). Утворює густі дерновини, що швидко розростаються. Кореневище повзуче. Стебла численні, лежачі до висхідних, сильно гіллясті від основи, сірувато-білі від опушення, з гілками, що піднімаються на кінцях. Молоді пагони тонкі, жилаві, прямостоячі, опушені [19, 22].



Рис. 1.5 Зовнішній вигляд самосилу гірського (*Teucrium montanum* L.)

Листки супротивні, зібрані, від лінійних до вузько-довгастих, звужені з обох кінців, від 1 до 4 см завдовжки, яскраво-зелені та тонко опушені зверху, сіро-білі з густим пушком внизу; поля загнуті [28].

Квітки в декількох помилкових мутовках, тісно скупчених у верхівкове, густе головчасте суцвіття. Чашечка трубчасто-дзвінкова, з п'ятьма ланцетними зубцями. Віночок до 1-2 см завдовжки, білий, згодом стає кремовим і потім жовтим. Середня частина нижньої губи дуже велика, округла або ниркоподібна, злегка увігнута, розпростерта. Рослина зазвичай цвіте у червні-серпні.

T. montanum L. легко відрізнити від T. chamaedrys L. за жовтими квітками, зібраними в скупчення, і вузьким, як правило, беззубчастим листям. Цвіте з червня по вересень. В Альпах поширений на вапняних утвореннях [17, 22].

1.2 Сучасний стан дослідження біологічно-активних речовин рослин роду Самосил

За останні десятиліття науковці з усього світу зосередили свою увагу на вивченні рослинних ресурсів для отримання цінних БАР, які можуть бути використані в медицині, фармацевтиці, косметології та інших галузях. Важливий аспект досліджень - це пошук нових джерел БАР [10].

Сучасні наукові методи дозволяють систематично аналізувати склад рослинної сировини, визначати ключові активні компоненти та вивчати їх механізми дії. Виявлення нових БАР може призвести до розробки нових лікарських препаратів та засобів для збереження здоров'я. Окрім цього, розвиток біотехнологій дозволяє вирощувати рослини в контрольованих умовах та змінювати їхні генетичні характеристики для підвищення вмісту БАР [28].

Незважаючи на досягнені успіхи, багато рослинних джерел ще не були досліджені повноцінно, тому дослідження БАР рослин є актуальним та важливим сьогодні [5, 14].

Науковці з Крагуевацького університету, Сербія визначали вміст фенольних сполук та флавоноїдів в різних вегетативних частинах *Teucrium montanum* L. [29], а також антиоксидантні властивості екстрактів *Teucrium chamaedrys L* [30].

Науковці з Чорноморського технічного університету (Технічного університету Караденіз), Туреччини досліджували хімічний склад ефірних олій деяких сортів *Teucrium chamaedrys* L. [22].

При дослідженні летких сполук двох підвидів самосилу білого методом газової хроматографії з масс-детекцією, що прозростають у Марокко, було отримано наступні результати:

- в ефірній олії підвиду «aurum» було виявлено 26 компонентів. Основним компонентом був каріофілен (19,13 %), за ним йшли с-мууролен (13,02 %), s-кадинол (11,01 %), а-гурьюнен (9,2 %), розифоліол (8,79 %), 3-карен (7,04 %), з переважанням сесквітерпенових вуглеводнів (64,11 %);

- в ефірній олії підвиду «polium» було виявлено 22 компоненти. Його основними компонентами є 3-карен (16,49 %), с-мууролен (14,03 %), α -пінен (9,94 %), а-фелландрен (6,93 %) і каріофілен (7,51 %). Сесквітерпенові вуглеводні (54,5 %) і монотерпенові вуглеводні (38,23 %) становили найбільшу фракцію цієї олії [31].

Вченими з Тунісу було оцінено загальний фенольний і флавоноїдний вміст ефірних олій надземної частини самосилу білого. Загальний вміст фенолів в екстрактах коливався від 48,88±0,01 мг/г до 400,00±0,01 мг/г, а флавоноїдів від 2,75±0,01 мг/г до 38,85±0,04 мг/г відповідно. ГХ-МС аналіз ефірних олій привів до ідентифікації 71 сполуки, що становить 89,66 % від загального складу [32].

Вченими з Ірану була досліджена ефірна олія *Teucrium persicum Boiss*., отримана шляхом гідродистиляції надземних частин рослини та

проаналізований за допомогою ГХ та ГХ-МС методів. В результаті було виявлено 81 компонент, що становить 93,5 % від загальної кількості олії. Основними компонентами олії були каріофіленоксид (10,6 %), α−пінен (9,4 %), геранілліналоол (7,8 %), γ−кадинен (7,4 %), елемол (6,9 %) та α−кадинол (5,5 %) [33].

Вченими з Оману було проведено дослідження з метою вивчення фітохімічного складу листя *Teucrium mascatenses Bois*. Було ідентифіковано тридцять дві сполуки. Основними компонентами були лімонен (17,2 %), ліналоол (12,4 %), α-пінен (10,1 %), β-евдесмол (10,1 %), ліналілацетат (4,3 %), бергамотен (4,3 %), β-пінен (3,5 %) і β-селінен (2,5 %) [34].

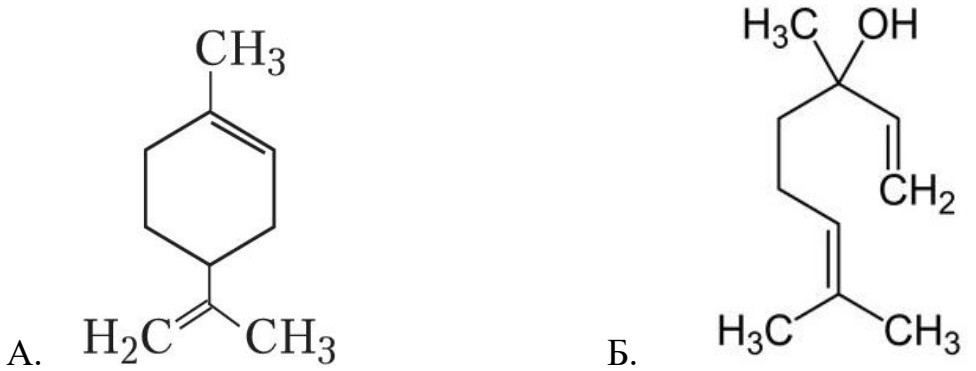
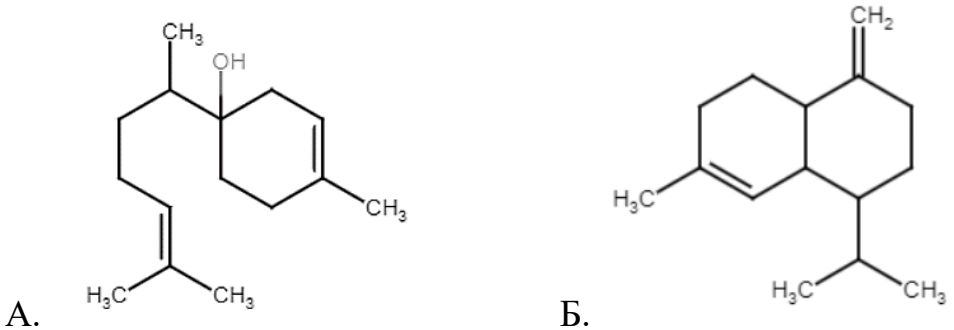


Рис. 1.6 Структурні формули лімонену (А) та ліналоолу (Б).

Вченими з Іспанії вивчено хімічний склад шести ефірних олій, отриманих з *Teucrium libanitis* і *Teucrium turredanum*, зібраних у різних місцях. Аналіз проведено за допомогою ГХ та ГХ-МС методів. Було ідентифіковано п'ятдесят три складові. Олія T. libanitis характеризується переважанням монотерпенового α-пінену (9,9–21,2 %) та сесквітерпеного δ-кадінену (5,3–9,7 %), тоді як олія T. turredanum має більший вміст сесквітерпеноїдів: β-каріофілену (15,6–32,6 %), α-гумулен (4,7–10,1 %) і β-бісаболол (6,4–8,3 %), а також менший відсоток монотерпеноїдів (<1 %) [35].

Хімічний склад ефірних олій висушених надземних частин двох видів самосилу був проаналізований вченими з Туреччини за допомогою ГХ та ГХ-МС методів. В ефірній олії двох видів самосилу ідентифіковано вісімдесят

компонентів. Олія самосилу білого характеризується монотерпеном β-піненом (10,2 %) і сесквітерпеном гермакреном D (10,1 %), тоді як *Teucrium multicaule* мав найвищий вміст сесквітерпенового каріофіленоксиду (31,1 %) [36].

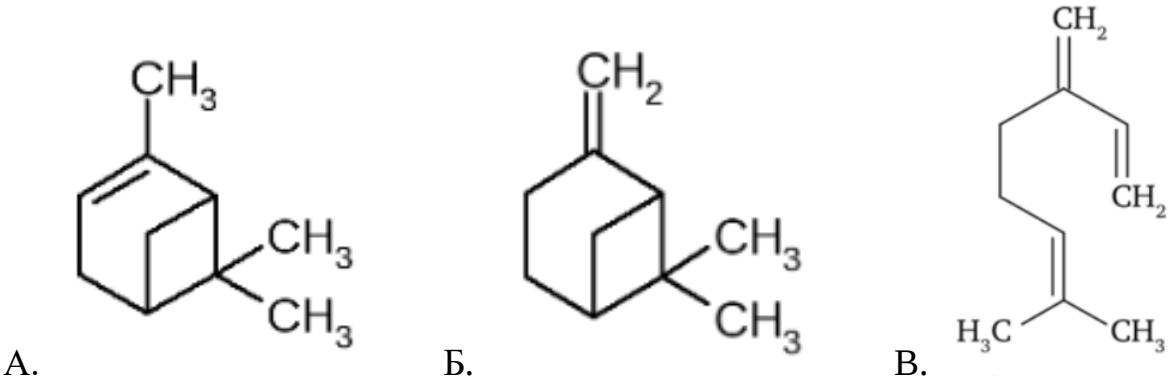


А. Б.

Рис. 1.7 Структурні формули β-бісабололу (А) та δ-кадінену (Б).

Хімічний склад ефірної олії, отриманої шляхом гідродистиляції з листя *Teucrium yemense Deflers*, вивчали методом ГХ-МС. Виявлено 12 сполук, що становлять 77,7 % від загальної кількості олії. Сесквітерпенові вуглеводні (73,9 %) були переважною частиною олії з δ-кадіненом (34,9 %), β- каріофілленом (22,7 %), а-гумуленом (6,1 %) і а-селіненом (5,4 %) як основними компонентами [37].

Спільними дослідженнями вчених з Франції та Алжиру декількох зразків самосилу білого було ідентифіковано 57 компонентів. У хімічному складі ефірної олії переважає присутність основного продукту α-пінену (14,1-18 %), β-пінену (15,3-18,1 %), гермакрену-D (3,8-19 %), мірцену (8,2-10,4 %), лімонену (5,3-8,7 %), сабінену (2,7-4,3 %), каріофілену-(Е) (1,8-2,3 %) і спатуленолу (1-2,9%) [38].



А. Б. В.

Рис. 1.8 Структурні формули α -пінену (А), β-пінену (Б) та мірцену (В) .

Вченими з Мазандаранського університету вивчено склад ефірної олії, отриманої з висушених квіткових надземних частин самосилу часникового (*Teucrium scordium* L. *(Labiatae*)). В ефірній олії виявлено 56 компонентів. Основними компонентами олії були β-каріофілен (22,8 %), (E)-β-фарнезен (10,4 %), каріофіленоксид (8,6 %), 1,8-цинеол (6,1 %) і β-евдесмол (5,1 %).

У склад спиртового екстракту ідентифіковано п'ятьдесят шість компонентів, основними інгредієнтами олії є β-каріофілен (22,8 %), (E)-β- фарнезен (10,4 %), оксид каріофілену (8,6 %), 1,8-цинеол (6,1 %) і β- евдесмол (5,1 %) [39].

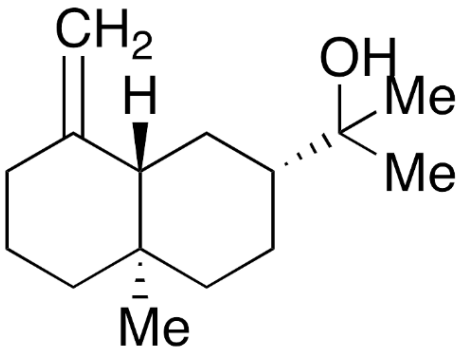
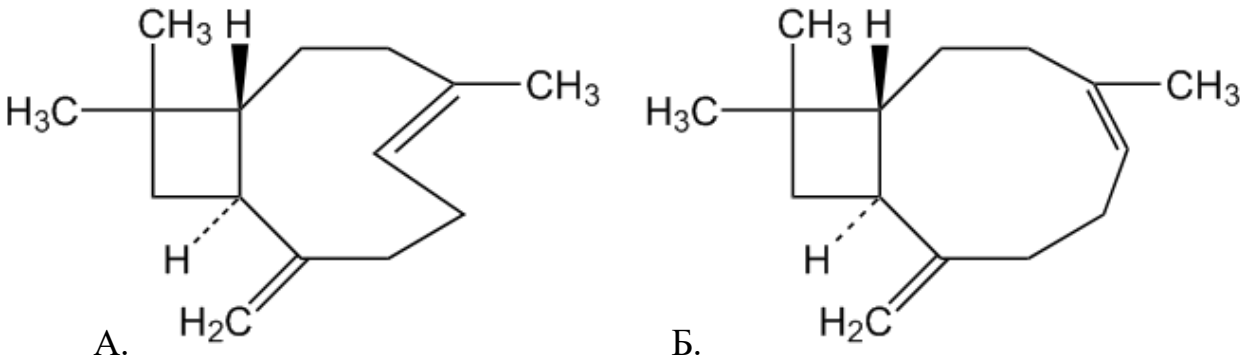


Рис. 1.9 Структурна формула β-евдесмолу (А).

Вченими з Болгарії було досліджено хімічний склад ефірної олії надземної частини самосилу головчатого, зібраного у період цвітіння на скелястих місцях і сухих пасовищах (Сербія) і дюнах уздовж узбережжя моря (Болгарія). Виявлено 45 сполуки для олії з Сербії та 44 для олії з Болгарії. Домінуючими компонентами сербської олії були сесквітерпени (59,6 %), найбільш поширеними компонентами були гермакрен D (31,8 %), транс-каріофілен (8,8 %) і біциклогермакрен (6,2 %), тоді як монотерпени становили 37,5 %, найбільш поширеними компонентами є ліналоол (14,0 %) і β-пінен (10,7 %). Ефірна олія з Болгарії характеризується високим вмістом монотерпенів, що становить 62,9 % (найпоширенішими компонентами є β- пінен (26,8 %), α-пінен (9,3 %) і лімонен (6,4 %), тоді як сесквітерпени

становлять 33,5 % (найпоширенішим компонентом був гермакрен D - 17,7 %) [40].

Ацетоновий екстракт *Teucrium orientale* L., який містив найбільшу кількість загальних флавоноїдів, піддавали хроматографічним методам виділення активних речовин. Таким чином, разом із 4 відомими флавоноїдами та 1 відомим іридоїдом було виділено новий іридоїд. Визначено вміст лютеолін-7-О-рутинозиду, лютеолін-7-О-глюкозиду, гесперетин-7-О-рутинозиду, 8-О-ацетилгарпагіду і 8-О-метилгарпагіду [41].



А. Б.

Рис. 1.10 Структурні формули каріофілену (А) та транс-каріофілену (Б).

Проаналізовано ефірну олію надземної частини *Teucrium parviflorum Schreb* з Туреччини. Олію отримували гідродистиляцією на апараті Клевенджера. Тридцять три компоненти охарактеризовано, що становлять (80,7 %) олії. Основними компонентами були β-каріофілен (18,6 %), гермакрен D (9,2 %), каріофіленоксид (8,8 %) і біциклогермакрен (6 %) [42].

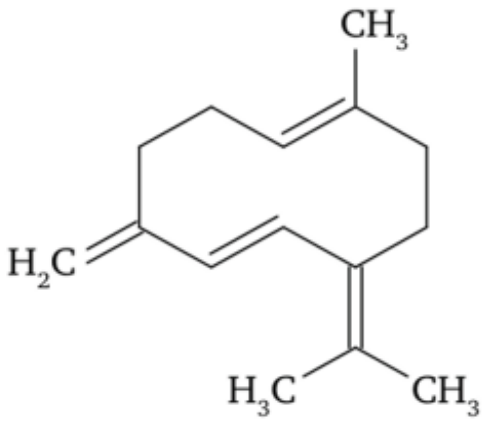


Рис. 1.11 Структурна формула гермакрену D.

Вченими з Румунії при вивчені етанольного екстракту самосилу гайового виявлено дві гідроксикоричні кислоти (хлорогенову та п-кумарову кислоти), одну дигідроксибензойну кислоту (гентизинову кислоту), один флавон (лютеолін) та три флавоноїдні глікозиди (ізокверцитрин, рутин та кверцитрин). Вміст ізокверцитрину становив (524,8±2,75 мкг/г), п- кумарової кислоти (25,68±0,33 мкг/г) і лютеоліну (20,42±0,47 мкг/г). Екстракт самосилу гайового містить велику кількість поліфенольних (243,65±3,46) [43].

В екстракті самосилу гайового з Греції кількісно визначено галлову, кофейну, ферулову кислоти, апігенін і кверцетин гідратований [44].

Вчені з Сербії визначали вміст загальних поліфенолів у сировині самосилу гайового за допомогою реактиву Фоліна-Чокальтеу. В результаті досліджень їх кількість коливалася від 15,98 до 208,17 мг/г.

Кількість флавоноїдів у рослинних екстрактах знаходилися в межах від 16,42 до 110,13 мг/г [30].

Висока концентрація флавоноїдів була у всіх екстрактах листя, тоді як у стеблах була виявлена трохи нижча концентрація. Найменша кількість виявлена у квітках.

Вчені з Хорватії проводили дослідження вмісту ефірних олій чотирьох хорватських видів самосилу за допомогою хроматографічних методів. Було ідентифіковано 54 різні сполуки: 33 для самосилу білого (*Teucrium polium* L.), 45 для самосилу жовтого (*Teucrium flavum* L.), 37 для самосилу гірського (*Teucrium montanum* L.) і 21 для самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys* L.), що становить 95,3 %, 97,3 %, 99,5 % і 98,3 % від загальної кількості олії відповідно. Основними компонентами досліджених ефірних олій є: для самосилу білого - β-каріофілен (52 %) та гермакрен D (8,7 %); для самосилу жовтого - β-каріофілен (23,1 %), гермакрен D (15,3 %) і α-пінен (10,5 %); для самосилу гірського - гермакрен D (17,2 %), β-пінен (12,3 %) і β-каріофілен (7,1 %); для самосилу гайового - β-каріофілен (47,6 %) і гермакрен D (29,0 %).

Фітохімічний аналіз показав, що самосил білий, самосил жовтий, самосил гірський і самосил гайовий характеризуються схожим складом ефірних олій. Досліджувані екстракти характеризуються високою часткою сесквітерпенових вуглеводнів β-каріофілену (7,1-52,0 %) і гермакрену D (8,7-17,0 %). Іншими важливими компонентами були β-пінен для самосилу гірського і α-пінен для самосилу жовтого [45].

Вчені з Італії досліджували хімічний склад, якісну та кількісну мінливість ефірних олій трьох видів роду Самосил. Досліджуваними видами, що дико ростуть на Сицилії, були самосил жовтий (*Teucrium flavum* L.), самосил гірський (*Teucrium montanum* L.) і самосил головчатий (*Teucrium capitatum* L.). Ефірні олії екстрагували гідродистиляцією та аналізували методом ГХ-МС. Загалом ідентифіковано 74 сполуки.

Встановлено, що основною групою самосилу жовтого є сесквітерпенові вуглеводні (48,3 %). β-бісаболен (26,8 %) був основним компонентом цього класу, а також високим був вміст β-каріофілену (6,6 %), γ-кадинену (5,5 %) і α-каріофілену (3,1 %). Оксигеновані сесквітерпени були присутні в меншій кількості (11,0 %) з каріофіленоксидом (3,1 %) як основною сполукою класу, тоді як оксигеновані монотерпени були практично відсутні. Монотерпенові вуглеводні становили 27,0 %, основним продуктом був лімонен (12,7 %), за ним йшли α-пінен і β-пінен (7,0 % і 5,4 % відповідно).

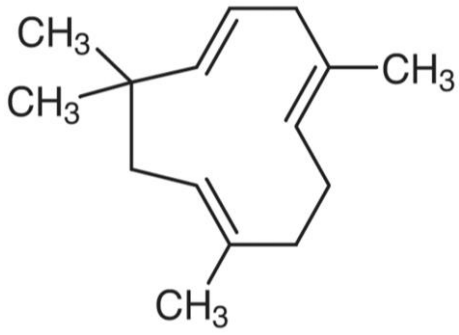


Рис. 1.12 Структурна формула α-каріофілену.

Самосил головчатий в основному містить монотерпенові вуглеводні (72,7 %), α-пінен (19,9 %), β-пінен (27,6 %) і сильвестрен (16,6 %), тоді як оксид ледену (12,1 %), епіглобулол (13,5 %) і лонгіфоленальдегід (14,5 %) визначено як основні складові серед оксигенованих сесквітерпенів (63,5 %) самосилу гірського [46].

За результатами проведеного огляду доступних джерел літератури, щодо вмісту летких сполук у рослинах роду самосил, прослідковується закономірність наявності в якості мажоритарних компонентів гермакрену D, β-каріофілену, каріофіленоксиду, α-пінену та β-пінену. Відповідно до цього можна виділити найбільш розповсюджені хемотипи рослин роду Самосил, такі як: гермакрен D, гермакрен D - β-пінен, гермакрен D - α-пінен, β- каріофілен - гермакрен D та каріофіленоксид. При цьому також можливим є наявність хемотипів β-бісаболол – лімонен, лімонен – ліналоол, каріофілен - α-пінен, α-пінен - β-пінен, δ-кадинен - β- каріофілен для окремих регіонів зростання, або кліматичних зон.

Можна припустити з великою долею вірогідності, що рослини роду Самосил флори України можуть містити наступний перелік БАР:

- флавоноїди (клас фенольних сполук, широко поширених у рослинах, які зазвичай мають антиоксидантні та протизапальні властивості. Кверцетин, апігенін, лютеолін та рутин є одними з найбільш поширених у рослинах роду);

- сапоніни (підклас терпеноїдів, біологічно активні глікозиди рослинного походження) [47, 48];

- дубильні речовини (рослинні сполуки, які мають в’яжучі та антиоксидантні властивості. Дубильні речовини містяться в листках і стеблах більшості рослин роду самосил) [49, 50];

- ефірні олії (леткі ароматичні сполуки, які містяться в усіх рослинах. В рослинах ідентифікована велика кількість летких сполук різної структури).

Важливо відзначити, що хімічні сполуки можуть мати потенційні лікувальні властивості, але необхідні додаткові дослідження, щоб повністю зрозуміти їх вплив.

Таблиця 1.2

Перелік сполук, що переважають в ефірних оліях деяких представників роду Самосил

Сполука / Країна	каріофілен	α-каріофілен	β-каріофілен	транс-каріофілен	каріофіленоксид	германкрен D	біциклогермакрен	а-пінен	β-пінен	лімонен	ліналоол	δ-кадинен	γ–кадинен	β-евдесмол	α-гумулен	β-бісаболол	мірцен
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Teucrium capitatum L.																	
Італія								19,9	27,6								
Сербія				8,8		31,8	6,2		10,7		14,0						
Болгарія						17,7		9,3	26,8	6,4							
Teucrium chamaedrys L.																	
Хорватія			47,6			29,0											
Туреччина			14,2			32,1	6,7					13,1					
Teucrium flavum L.																	
Хорватія			23,1			15,3		10,5									
Італія		3,1	6,6		3,1			7,0	5,4	12,7			5,5			26,8	
Teucrium libanitis																	
Іспанія								9,9-21,2				5,3-9,7					
Teucrium mascatenses Bois.																	
Оман								10,1	3,5	17,2	12,4			10,1			
Teucrium montanum L.																	
Хорватія			7,1			17,2			12,9	4,6	3,6						4,2
Сербія					6,9	15,0		12,4	4,8			4,5	4,1	10,1			

Продовж. табл. 1.2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Teucrium multicaule Montbret Et Aucher																	
Туреччина					31,1												
Teucrium parviflorum Schreb																	
Туреччина			18,6		8,8	9,2	6,0										
Teucrium persicum Boiss																	
Іран					10,6			9,4			7,8		7,4				
Teucrium polium L.																	
Марокко	19,1							9,9									
Туреччина						10,1			10,2								
Алжир	1,8-2,3					3,8-19		14,1-18	15,3-18,1	5,3-8,7							8,2-10,4
Хорватія			52,0			8,7											
Teucrium scordium L.																	
Туреччина			22,8		8,6									5,1			
Teucrium turredanum																	
Іспанія	15,6-32,6														4,7-10,1	6,4-8,3	
Teucrium yemense Deflers																	
Ємен			22,7									34,9			6,1		

1.3 Застосування в медицині представників роду Самосил

Лікарські засоби рослинного походження використовувалися століттями в системах традиційної медицини і все ще широко використовуються сьогодні. [7, 51].

Ефективність фітопрепаратів не завжди була досконало вивчена і до їх застосування слід підходити обережно. Важливо визначити можливості виникнення будь-яких потенційних реакцій при взаємодії з іншими лікарськими засобами [3, 52].

Рослинні лікарські засоби часто доступніші та дешевші за синтетичні ліки, що робить їх більш привабливими для людей у районах із недостатнім обслуговуванням, або з обмеженими ресурсами [4, 9, 53, 54].

Перші згадки про застосування рослин родини *Teucrium* зустрічаються на сторінках наукової роботи англійського ботаніка, натураліста та лікаря Джона Джерарда «The Herball or Generall Historie of Plantes», що була видана у 1597 році. В роботі зазначено, що цю рослину варили у воді і пили для лікування задишки та кашлю. Листя розтирали (у ту епоху штампували) з медом, проціджували і вкладали в очі, щоб видалити поплавці (забирає павутину) і покращити потьмарення зору [5].

Біологічна активність екстрактів з рослин роду Самосил була підтверджена численними експериментальними дослідженнями, згідно з якими вони можуть виявляти антиоксидантну, протипухлинну, протизапальну, антиноцеціптивну, спазмолітичну, гіполіпідемічну, гіпоглікемічну, противиразкову та антибактеріальну властивості [56, 57, 58, 59].

Як правило, ароматичні рослини родини Глухокропивових багаті поліфенольними сполуками, і велика кількість з них добре відома своїми антиоксидантними властивостями [60, 61, 62].

Поліфеноли є потужними антиоксидантами, які захищають клітини від пошкоджень, спричинених вільними радикалами, та допомагають боротися з

окиснювальними процесами. Ці властивості можуть бути корисними для підтримання загального здоров'я та зниження ризику розвитку деяких хронічних захворювань.

У звязку з цим самосил гайовий (*Teucrium chamaedrys* L.) та самосил гірський *(Teucrium montanum* L.) представляють потенційну медичну цінність.

Рослини роду Самосил відомі своїми лікувальними властивостями. В народній медицині їх використовували для лікування різноманітних захворювань, включаючи проблеми з травленням, респіраторні проблеми та захворювання шкіри.

Дослідженнями різних представників роду *Teucrium* займаються вчені з усього світу.

Вчені з медичного університету Шахіда Бехешті, Іран вивчали вплив екстрактів *Teucrium polium* L. на загоєння ран у щурів [63].

Хамзех Амірі вивчала антиоксидантні властивості ефірних олій та спиртових екстрактів *Teucrium orientale* L. [60].

Вчені Сплітського університету, Хорватія вивчали антифітовірусну активність багатих на сесквітерпени ефірних олій з чотирьох хорватських видів роду *Teucrium* [45].

Дослідники з Республіканського університету Сівас, Туреччина вивчали антимікробні та антиоксидантні властивості представників роду Самосил [64].

Винахідники з Університету Святих Кирилла та Мефодія в Скопье, Північна Македонія також досліджували антиоксидантні властивості деяких видів роду *Teucrium* [65].

Доведено, що екстракти цих рослин мають різноманітну біологічну активність, зокрема було показано, що екстракти рослин роду Самосил мають антимікробну дію проти різних патогенів, включаючи бактерії та грибки. Вважається, що ця активність пояснюється наявністю в рослинах таких сполук, як флавоноїди та ефірні олії. Екстракти з рослин роду ефективні проти ряду мікроорганізмів, включаючи *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* та *Candida albicans* [26, 38, 42, 44, 58, 64, 67, 68, 69].

Дослідження деяких представників роду показали, що екстракти рослин мають протизапальну дію та можуть бути ефективними для зменшення запалення в організмі. Ця активність пояснюється наявністю в рослинах флавоноїдів, які мають здатність пригнічувати вироблення прозапальних медіаторів і зменшувати запалення в організмі. Екстракти з рослин роду Самосил можуть бути ефективними для зменшення запалення при різних станах, включаючи астму, коліт і артрит [70, 71, 72, 73, 74, 75].

Природні антиоксиданти активно вивчаються на предмет їх здатності захищати організми та клітини від пошкоджень, спричинених окисним стресом. Трави і спеції, в основному є нешкідливими джерелами отримання природних антиоксидантів. Існує зростаючий попит на оцінку антиоксидантних властивостей рослинних екстрактів, і в останні роки увага була зосереджена на антиоксидантних засобах з природних джерел [76, 77, 78].

З доступних джерел інформації відомо, що екстракти рослин роду Самосил виявили антиоксидантну активність, тобто вони можуть поглинати вільні радикали та запобігати пошкодженню клітин і тканин. Активність пояснюється наявністю в рослинах флавоноїдів та ефірних олій [30, 31, 32, 41, 43, 44, 46, 59, 60, 62, 64, 65, 69, 72, 79, 80, 81].

Деякі рослини роду також показали активність щодо серцево-судинної системи, включаючи здатність знижувати артеріальний тиск і рівень холестерину, також використовували як природний сечогінний засіб і для зниження рівня цукру в крові [82, 83, 84, 85, 86, 87, 88].

Загалом, біологічна активність екстрактів рослин роду Самосил є складною та багатогранною, і необхідні подальші дослідження, щоб повністю зрозуміти механізми, за допомогою яких ці рослини здійснюють свою дію.

У вітчизняній та закордонній народній медицині квітучу надземну частину самосилу гайового використовують у вигляді настою для підвищення апетиту, як діуретичний засіб при захворюваннях нирок, набряках, при гастралгії, дизентерії, діареї, жовчнокам'яній хворобі, кровохарканні [89].

Також відвар трави рекомендують при анемії, хронічних респіраторних захворюваннях, метеоризмі, як легке проносне і при лихоманці. Самосил використовують при захворюваннях очей, геморої, ревматизмі, подагрі, білях у жінок – зовнішньо (у вигляді ванн, компресів, спринцювання). Також зовнішньо самосил гайовий застосовують для лікування фурункулів, гнійних ран, при запаленні очей, рослина вважається тонізуючою, ранозагоювальною, протизапальною, кровоспинною.

Трава самосилу гайового багата на ефірну олію і дитерпеноїди, які мають високі бактерицидні, антисептичні та протизапальні властивості [90].

Настої та відвари з листя та квіток самосилу гайового мають чудові в'яжучі властивості, за що їх цінують у народній медицині. Також корисними є протилихоманкові та гемостатичні (кровоспинні) властивості цієї рослини.

Використовується самосил гайовий і для підвищення імунітету. Засоби, створені на основі рослини, покращують апетит, стимулюють травлення та жовчоутворення, мають хорошу сечогінну, тонізуючу та загальнозміцнюючу дію [91, 92, 93, 94].

Настій із трави самосилу гайового застосовують внутрішньо при болях у кишечнику та шлунку, метеоризмі, печії та дизентерії, алергії та подагрі.

У нетрадиційній медицині листя самосилу гайового використовували для різноманітних цілей, включаючи лікування кашлю та застуди, як сечогінний. і як в’яжучий засіб. Однак важливо відзначити, що лікувальні властивості цієї рослини не були широко вивчені і їх ефективність не була повністю встановлена, тому необхідні подальші дослідження, щоб повністю зрозуміти потенційно можливе використання *Teucrium chamaedrys* L. в медицині [95].

В медицині Індії дуже розповсюдженим є використання самосилу морського (*Teucrium marum* L.) у гомеопатії. На фармацевтичному ринку представлено лікарський засіб «Teucrium Marum Verum» виробництва компанії SBL Private Limited, Індія.



Рис. 1.13 Teucrium Marum Verum

Засіб «Teucrium Marum Verum» використовують для лікуванні поліпів у носі. Крім того, він також корисний для лікування поліпів, які можуть виникнути у вусі, прямій кишці або сечовому міхурі. Засіб ефективний для лікування всіх типів поліпів, які знаходяться в будь-якому місці тіла. Крім того, самосил морський також корисний для лікування глистів у кишечнику.

Самосил морський добре працює у випадках, коли закладеність носа виникає, незважаючи на хірургічне видалення поліпів. Це чудовий засіб для лікування випадків втрати нюху (аносмії). Він має добре відомий ефект для лікування атрофічного риніту (хронічне захворювання носа, що характеризується атрофією, тобто зменшенням слизової оболонки носа та нижньої кістки). Цей препарат ефективний при нежиті і чханні [96].

Лікарський засіб «Teucrium Marum Verum» допомагає впоратися з болем у животі, який має ріжучий/тягучий/роздираючий характер. Самосил морський також призначають людям з аскаридами в кишечнику [96].

Щодо його дії на очі, самосил морський корисний при лікуванні тарзальних пухлин. Вони безболісні, але супроводжуються затуманенням зору. По-друге, він показаний при червоних, запалених очах. Усуває надмірну сльозотечу з очей, особливо на відкритому повітрі. Нарешті, його можна використовувати для випадків червоних, набряклих верхніх повік.

Самосил морський також має обмежену дію на вуха. Він може зменшувати стріляючий біль у вусі. Він також показаний для усунення шумів у вухах (тиннітус) типу дзвону/шипіння. Ефективно справляється з сухим лишаєм з лусочками білого кольору на вухах і за ними [96].

На фармацевтичному ринку України, відповідно до даних бази нормативно-директивних документів МОЗ України зареєстрований лише один лікарський препарат, що містить рослини роду Самосил [97].



Рис. 1.14 Лікарський засіб Лімфоміозот

Лікарський засіб «Лімфоміозот» виробництва компанії Heel GmbH, Німеччина до складу якого входить сировина самосилу шавлієвого (*Teucrium scorodium* L.).

Препарат створений для покращення відтоку лімфи з усіх органів і тканин, виявляє дезінтоксикаційну, антиексудативну, імуномоделюючу, протизапальну дію, яка заснована на активації захисних сил організму і нормалізації порушених функцій за рахунок речовин рослинного, мінерального та тваринного походження, які входять до складу препарату [98].

Важливо зазначити, що рослини роду Самосил мають велику кількість БАР у своєму складі та широкий спектр фармакологічних властивостей, однак хімічний склад самосилу гайового та самосилу гірського вивчено не достатньо, тому необхідні додаткові дослідження, щоб повністю зрозуміти

потенційні переваги та ризики використання даної лікарської рослинної сировини у фармацевтичній галузі.

Відомості про стандартизацію даних видів сировини в літературі відсутні, що робить повне фармакогностичне вивчення самосилу гайового та самосилу гірського необхідним та актуальним.

РОЗДІЛ 2.
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Матеріали та методи досліджень

Для фармакогностичного дослідження в якості об'єктів було використано квітки, листки, стебла, траву і корені *Teucrium chamaedrys* L. та *Teucrium montanum* L., інтродуковані на дослідних ділянках Ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України в м. Київ.

Сировину було заготовлено у фазі розвитку вегетативних органів (травень) та у фазі цвітіння (червень) у 2018-2020 роках на дослідних ділянках Ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України в м. Київ.

Ідентифікацію рослинної сировини проводили шляхом візуального огляду неозброєним оком та з використанням лупи, що має 10-ти кратне збільшення.

Для мікроскопічного аналізу вегетативні органи рослини попередньо розмочували в спирто-водно-гліцериновій суміші. В деяких випадках використовували сировину в свіжому вигляді.

Для визначення розмірів досліджуваної сировини були використані міліметрова лінійка і міліметровий папір. На свіжому і гербарному матеріалі вивчали анатомо-морфологічну будову. Запах сировини визначали при розтиранні, колір – при денному світлі, смак – у відварі.

Для вивчення структури та опису морфологічних ознак використовувався мікроскоп Stemmi-2000 з можливістю збільшення в межах 6-50 разів. З метою реєстрації та збереження отриманих результатів використовували фотокамеру Canon Power Shot A-640 для зйомки.

Проведені дослідження дозволили встановити основні зовнішні ознаки та відповідність сировини.

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту щодо визначення БАР проводили за допомогою сучасних хімічних та інструментальних методів

аналізу (ПХ, ТШХ, ВЕРХ, ГХ-МС, рентген-флуоресцентного аналізу, спектрофотометрії, гравіметрії).

Для вивчення БАР методами ТШХ використовували деякі сорти паперу "Filtrак" (FN № 1-3) та пластинки Kisegel 60 F254, HPTLC-Alufolien Kieselgel 60 F254, виробництва Merck, Німеччина [99].

Дослідження проведено відповідно до загальноприйнятих вимог ДФУ щодо ідентифікації та кількісного визначення різних класів БАР [100, 101, 102. 103].

Отримані результати являються середньою величиною 5 проведених досліджень.

Хроматографічні дослідження проводили використовуючи наступні системи розчинників:

ТШХ – 1 – бутанол – оцтова кислота – вода (40:12:28);

ТШХ – 2 – етилацетат – льодяна кислота оцтова – мурашина кислота – вода (100:11:11:26);

ТШХ – 3 – н-бутанол – оцтова кислота – вода (4:1:5);

ТШХ – 4 – хлороформ − метанол (4:1);

ТШХ – 5 – 1-пропанол – вода – оцтова кислота льодяна (20:80:1);

ТШХ – 6 – толуол – диетиловий ефір – оцтова кислота – вода (125:125:3:22);

ТШХ – 7 – етилацетат – метанол – вода (77:15:8);

ТШХ – 8 – ванілін – сульфатна кислота – етанол (1:2:100);

ТШХ – 9 – гексан – етилацетат (2:1);

ТШХ – 10 – хлороформ – етилацетат (9:1);

ТШХ – 11 – петролейний ефір - хлороформ - оцтова кислота (10:4:0,4);

ПХ – 1 – бутанол – оцтова кислота льодяна – вода (4:1:2).

Біологічно активні речовини на хроматографічних пластинках визначали до та після обробки реактивами, виявляючи забарвлення при денному світлі та при УФ-променях при довжині хвилі 365 та 254 нм. В якості проявників використовували:

1) пари розчину аміаку концентрованого;

2) 1 % розчин ваніліну в 50 % фосфорній кислоті;

3) анілінфталатний реактив (0,165 г аніліну та 0,83 г кислоти фталевої в 100 мл бутанолу, насиченого водою);

4) пари йоду;

5) 0,5 % розчин анісового альдегіду в суміші з оцтовою кислотою-метанолом-сірчаною кислотою (конц.) у співвідношенні 10:85:5;

6) реактив Шталя;

7) 1 % розчин залізо-амонійних галунів;

8) 1 % розчин ваніліну;

9) розчин нінгідрину;

10) 20 % розчин сірчаної кислоти;

11) 1 % розчином дифенілборилоксиетиламіну в метанолі та 5 % розчином поліетиленгліколю-4000 в етанолі.

ВЕРХ-дослідження проводили на хроматографі Shimadzu ser. 20, обладнаному діодно-матричним детектором, автосаплером і термостатом колонок з застосуванням наступних хроматографічних параметрів:

ВЕРХ1 - колонка Phenomenex Luna C18 (2), розміром 250 мм х 4,6 мм, розмір частинок 5 мкм; температура колонки – 35^{0}С; довжина хвилі детектування – 330 нм; швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв; об'єм проби, що вводився – 5 мкл [104].

Рухома фаза:

Час, хв	0-5	5-35	35-40	40-60	60-65	65-70	70-85
Елюент А, %	95	95→75	75	75→50	50→20	20	95
Елюент Б, %	5	5→25	25	25→50	50→80	80	5

Елюент А: 0.1 % розчин трифтороцтової кислоти в в воді;

Елюент Б: 0.1 % розчин трифтороцтової кислоти в ацетонітрилі.

ГРХ-дослідження проводили на газовому хроматографі Shimadzu GC-2014, обладнаному полум'яно-іонозаційним детектором, з застосуванням наступних хроматографічних параметрів:

ГРХ-1 – колонка: Optima®-FFAP, виробництва «Masherey-Nagel», Німеччина, довжиною 30 м, діаметром 0,25 мм.

– температура інжектора та детектора 220^0C;

– температура печі 65^0C (час витримки 2 хв), приріст температури 5^0C/хв до температури 220^0C (час витримки 10 хв);

– газ-носій – азот;

– швидкість газу-носія 2 мл/хв;

– розподіл потоку 1:10;

– об`єм інжектування 1мкл.

ГХ-МС дослідження проводилось на газовому хроматографі Agilent 6890, обладнаним мас-спектрометричним детектором (модель 5973) за таких умов:

– капілярна колонка DB-5 з внутрішнім діаметром 0,25 мм і довжиною 30 м;

– газ-носій – гелій;

– швидкість газу-носія 1,2 мл/хв;

– температура інжектора – 250^0C;

– температура печі 50^0C (час витримки 0 хв), приріст температури 4^0C/хв до температури 320^0C (час витримки 0 хв).

Для ідентифікації компонентів використовувалась бібліотека компонентів масс-спектрів NIST05 та WILEY 2007 з загальною кількістю спектрів більше 470000 в поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS та NIST.

Ідентифікацію досліджуваних компонентів виконували за мас-спектрами та часами утримування компонентів.

Для ідентифікації та вивчення наявних груп БАР готували витяжки відповідно до наведених нижче методик.

Приготування рідкого екстракту здійснювали методом мацерації: до подрібненої сировини (ступінь подрібнення 2-3 мм) додавали 70 % етанол у співвідношенні (1:10) та проводили екстракцію на водяній бані при температурі 80-90°С протягом 30 хвилин. Отриманий розчин фільтрували використовуючи фільтрувальний папір (червона стрічка – 125 мм). Екстракцію повторювали ще двічі, використовуючи нові порції спирту етилового. Витяжки відстоювали, змішували і доводили до необхідного об'єму [105].

Приготування водних витяжок проводили за наступною методикою: до подрібненої сировини (ступінь подрібнення 2-3 мм) додавали воду очищену у співвідношенні 1:10. Витримували на киплячій водяній бані протягом 15 хвилин з наступним охолодженням до кімнатної температури (не менше 45 хвилин). Отриманий настій фільтрували використовуючи фільтрувальний папір (червона стрічка – 125 мм) та доводили водою очищеною до необхідного об'єму [6].

Приготування ліпофільних екстрактів проводили шляхом вичерпної екстракції сировини в апараті Сокслета. Отримані екстракти концентрували на ротаційному випаровувачі [106].

2.2 Методики аналізу

Визначення вмісту мінеральних речовин.

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту макро- та мікроелементів виконували з використанням рентгенофлуоресцентного аналізатора ElvaX-med (Україна) на матеріальній базі науково-технічного центру «Віріа».

Аналітичні параметри: пристрій збудження, рентгенівська трубка, 25 мкм Be вікно, природнє охолодження. Генератор 4–50 кВ з кроком 0,1 кВ, струм 0–100 мкА з кроком 0,2 мкА, потужність до 5 ВА. Детектор рентгенівського випромінювання, напівпровідниковий Si-pin з термоелектричним охолодженням, як спектрометричний процесор –

аналоговий процесор, час-варіантний формувач, режектор накладень, селектор по формі імпульсу [107].

Визначення а*мінокислотного складу.*

Для ідентифікації та визначення кількісного складу суми вільних та зв'язаних амінокислот використовували методику, запропоновану Штейном і Муром у сучасній модифікації, із застосуванням автоматичного аналізатора амінокислот моделі ААА Т – 339 (Чехія) [108].

Точну наважку сировини 0,1 г, подрібненої до розміру 1-2 мм, вміщували у герметичну гідролізну пробірку та піддавали кислотному гідролізу 6 М розчином кислоти хлоридної в термостаті при температурі +105°С протягом 24 год. Ампулу розкривали, надлишок кислоти хлоридної відганяли при температурі 100°С і подальшу нейтралізацію проб проводили в ексикаторі над натрієм гідроксидом протягом 2 діб. Пробірку охолоджували, досліджуваний розчин фільтрували у колбу зі шліфом та упарювали за допомогою ротаційного випарювача, під вакуумом при температурі водяного нагрівника 40°С. Сухий залишок розчиняли в цитратному буферному розчині (рН 2,2) та піддавали аналізу на автоматичному аналізаторі амінокислот [108].

Розподіл компонентів здійснювали на аналітичній колонці, яку заповнювали катіонітом LG ANB. Для виділення окремих амінокислот використовували три цитрат-натрієві буферні розчини.

Елюат, який виходив з колонки, змішувався з нінгідриновим реагентом у реакторі при температурі 135°С, де проходила реакція між нінгідрином і амінокислотами з утворенням забарвлених сполук. Кількість утворених забарвлених сполук прямо пропорційна кількості амінокислоти в елюаті.

Суміш надходила до фотометра, де вимірювалася інтенсивність поглинання забарвленої сполуки при довжині хвилі 520 нм. Вихідний сигнал фотометра надходив на двоканальний самописець, який реєстрував концентрації амінокислот на хроматографі у вигляді серії піків. Час утримання піка, який визначали за хроматограмою, характеризує кожну індивідуальну амінокислоту. Площа піка відповідає концентрації присутньої амінокислоти.

Електричний сигнал самописця поступав на інтегратор, який автоматично обчислював площу кожного піку [6].

Кількісний вміст розраховували за калібрувальним графіком [109].

Визначення вмісту полісахаридів.

Проводили екстракцію досліджуваної подрібненої (2-3 мм) рослинної сировини 70 % спиртом етиловим. Фільтрували використовуючи фільтрувальний папір (червона стрічка – 125 мм). Отриманий сухий залишок сушили на повітрі.

Для отримання фракції водорозчинних полісахаридів проводили екстракцію водою дистильованою при температурі 80°С.

Для виділення фракції пектинових речовин використовували суміш 0,5 % розчину оксалатної кислоти та 0,5 % розчину амонію оксалату у співвідношенні 1:1 та у співвідношенні 1:20 до сировини за температури 70-80°С. Екстракцію проводили тричі, після цього розчин концентрували та осаджували етиловим спиртом. Фільтрували через фільтрувальний папір та висушували [110].

Після цього для виділення геміцелюлози А та Б проводили екстракцію залишкової суміші 10 % розчином натрію гідроксиду. Осад, що утворився фільтрували, висушували та зважували.

Геміцелюлозу А виділяли додаванням льодяної оцтової кислоти. Отриманий осад фільтрували, висушували та зважували.

Для отримання осаду геміцелюлози Б додавали розчин етилового спирту 96 % у співвідношенні 1:2 (сировина : спирт етиловий). Отриманий осад повторно промивали, висушували та зважували [111].

Визначення вмісту хлорофілів.

Для кількісного аналізу хлорофілів використовували спектрофотометричний метод визначення [112].

0,05 г (точна наважка) ліпофільного екстракту вміщували в мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняли в хлороформі і доводили об’єм хлороформом до мітки. Оптичну густину отриманого розчину вимірювали на спектрофотометрі

в кюветах з товщиною шару 10 мм при довжині хвилі 600 нм, що відповідає максимуму на спектрі реактиву Гетрі. Як розчин порівняння використовували хлороформ.

Одночасно вимірювали оптичну густину стандартного розчину Гетрі в тих самих умовах.

Приготування стандартного розчину Гетрі використовували: 4 % розчин калію біхромату – 50 мл; 1 % розчин сульфату міді – 28,5 мл; 10 % розчин гідроксиду амонію – 10 мл; вода дистильована – до 100 мл; 1 мл отриманого розчину відповідає по забарвленню 0,000085 г хлорофілу.

Визначення вмісту каротиноїдів.

0,05 г (точна наважка) ліпофільного екстракту вміщували в мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняли в хлороформі і доводили об'єм хлороформом до мітки. Оптичну густину отриманого розчину вимірювали на спектрофотометрі в кюветах з товщиною шару 10 мм при довжині хвилі 600 нм, що відповідає максимуму на спектрі реактиву Гетрі. Як розчин порівняння використовували хлороформ.

Одночасно вимірювали оптичну густину стандартного розчину Гетрі в тих самих умовах.

Приготування стандартного розчину Гетрі використовували: 4 % розчин калію біхромату – 50 мл; 1 % розчин сульфату міді – 28,5 мл; 10 % розчин гідроксиду амонію – 10 мл; вода дистильована – до 100 мл; 1 мл отриманого розчину відповідає по забарвленню 0,000085 г хлорофілу.

Визначення вмісту токоферолів.

Кількісний вміст токоферолів визначали спектрофотометричним методом Еммері-Енгеля, з попередньою хроматографічною зразків [9]. Як адсорбент використовували силікагель з додаванням гіпсу, в якості рухомої фази використовували хлороформ. Екстракцію токоферолів з сорбенту проводили хлороформом, в якості комплексоутворювача використовували розчин дипіридилу. Оптичну густину досліджуваних розчинів вимірювали на спектрофотометрі у кюветах з товщиною шару 10 мм при довжині хвилі 520

нм. Як розчин порівняння використовували хлороформ. Вміст ізомерів токоферолу розраховували за градуювальними графіками у перерахунку на токоферол.

Визначення вмісту суми гідроксикоричних кислот.

1,00 мл досліджуваного екстракту вміщують в мірну колбу об'ємом 25,00 мл, додають 2 мл 0,5 М хлористоводневої кислоти, 2 мл розчину натрію нітриту і натрію молібдату та 1 мл розчину натрію гідроксиду розведеного. Доводять до позначки водою і перемішують (випробуваний розчин).

Вимірюють оптичну густину випробуваного розчину за довжини хвилі 505 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи компенсаційний розчин, аналогічний за складом досліджуваному, але без додавання розчину натрію нітриту і натрію молібдату.

Приготування 0,5 М розчину хлористоводневої кислоти. У мірну колбу місткістю 100,00 мл поміщають 80 мл води, повільно вливають 4,25 мл кислоти хлористоводневої концентрованої і доводять водою до позначки.

Приготування розчину натрію нітриту і натрію молібдату. У мірну колбу об'ємом 100,00 мл вміщують 10 г натрію нітриту Р та 10 г натрію молібдату. Розчиняють у невеликій кількості води, доводять тим же самим розчинником до позначки. Фільтрують через паперовий фільтр.

Приготування розчину натрію гідроксиду розведеного. У мірну колбу ємністю 25,00 мл поміщають 2,125 г натрію гідроксиду Р, розчиняють у воді Р, доводять до позначки тим самим розчинником і перемішують.

Визначення вмісту суми флавоноїдів.

1,00 мл досліджуваного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 25,00 мл, додають 5,00 мл 70 % спирту етилового, 5,00 мл 5 % розчину алюмінію хлориду в 70 % спирті етиловому, 2,00 мл 5 % розчину оцтової кислоти в 70 % спирті етиловому, доводять об'єм розчину 70 % спиртом етиловим до позначки і перемішують.

Через 30 хв вимірюють оптичну густину одержаного розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 408 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм,

використовуючи як компенсаційний розчин, що складається з 1 мл досліджуваного розчину, 5,00 мл 70 % спирту етилового і 2,00 мл 5 % розчину оцтової кислоти в 70 % спирті етиловому, які вміщені у мірну колбу місткістю 25,00 мл та доведені 70 % спиртом етиловим до позначки.

Паралельно, через 30 хв, вимірюють оптичну густину розчину, що містить 1,00 мл розчину порівняння рутину, приготованого аналогічно випробуваному розчину, використовуючи як компенсаційний розчин розчин, що складається з 1,00 мл розчину порівняння, 2,00 мл 5 % розчину оцтової кислоти в 70 % спирті етиловому, які поміщені в мірну колбу місткістю 25,00 мл і доведені 70 % спиртом етиловим до позначки.

Приготування розчину порівняння рутину: Близько 25 мг (точна наважка) рутину (Fluka кат № 84082 або аналогічний), висушеного при температурі 135°С до постійної ваги, поміщають у мірну колбу ємністю 100,00 мл, розчиняють у 80 мл 96 % спирту етилового Р при нагріванні на водяній бані, після охолодження доводять об'єм розчину спиртом етиловим 96 % до позначки, перемішують.

Приготування 5 % розчину алюмінію хлориду. 5 г алюмінію хлориду (ДФУ 2001, вид.1, с.172) поміщають в мірну колбу місткістю 100,00 мл, розчиняють в 70 % спирті етиловому, доводять об'єм розчину 70% спиртом етиловим до позначки і перемішують.

Приготування 5 % розчину кислоти оцтової. У мірну колбу місткістю 100 мл з 70 % спиртом етиловим поміщають 5 мл кислоти оцтової льодяної і 70 % спиртом етиловим доводять об'єм до позначки, перемішують.

Визначення вмісту загальних поліфенолів, в перерахунку на пірогалол.

1,00 мл досліджуваного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 25,00 мл, доводять об'єм розчину водою до позначки і перемішують.

2,00 мл одержаного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 25,00 мл, додають 1,00 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву, 10 мл води, перемішують, доводять об'єм розчином натрію карбонату до позначки і перемішують (випробуваний розчин).

Через 30 хв вимірюють оптичну густину випробуваного розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 760 нм, у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи компенсаційний розчин, що складається з 12,0 мл води очищеної, 1,0 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву, які вміщують у мірну колбу місткістю 25 мл, доводять об’єм розчином натрію карбонату до позначки, перемішують і витримують протягом 30 хв.

Паралельно вимірюють оптичну густину розчину, що містить 2,00 мл розчину стандартного зразка пірогалолу, 1,0 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву Р, 10 мл води очищеної, які вміщують у мірну колбу місткістю 25 мл, доводять об'єм розчином натрію карбонату до позначки, перемішують і витримують протягом 30 хв (стандартний розчин).

Приготування розчину стандартного зразка пірогалолу. 0,025 г (точна наважка) пірогалолу поміщають у мірну колбу місткістю 50,00 мл, розчиняють у воді, доводять до позначки водою і перемішують. 5,00 мл одержаного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 100,00 мл, доводять водою до позначки і перемішують.

Приготування фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву: 100 г натрію вольфрамату і 25 г натрію молібдату розчиняють у 700 мл води, додають 100 мл кислоти хлористоводневої і 50 мл кислоти фосфорної. Суміш нагрівають у скляній колбі із зворотним холодильником протягом 10 год, додають 150 г літію сульфату, 50 мл води і кілька краплин брому. Кип'ятять до видалення надлишку брому, охолоджують, доводять об’єм розчину водою до 1000,0 мл і фільтрують.

Приготування розчину натрію карбонату. 10,8 г натрію карбонату безводного вміщують у мірну колбу місткістю 100,00 мл, розчиняють у воді, доводять до позначки тим же розчинником і перемішують.

Визначення вмісту жирних кислот.

Жирнокислотний склад досліджуваної сировини вивчали методом газорідинної хроматографії (ГРХ-1). Для цього суму ліпофільних сполук вилучали з повітряно-сухої сировини вичерпною екстракцією гексаном на

апараті Сокслета, звільняли від неліпідних речовин і метилювали хлористим ацетилом в присутності метилового спирту. Отримані етери жирних кислот екстрагували гексаном і аналізували на хроматографі Shimadzu GC-2014 обладнаному полум`яно-іонозаційним детектором.

Ідентифікацію метилових етерів здійснювали за часом утримання піків в порівнянні зі стандартною сумішшю. Вміст жирних кислот визначався у % від суми.

УФ-видимі спектри досліджуваних розчинів отримували на спектрофотометрах Hewlett Packard 8452A та Shimadzu UV-1800.

2.3 Фармакологічні методи

Дослідження гострої токсичності

Для дослідження гострої токсичності було використано білих нелінійних мишей масою 19-23 г. Для ідентифікації тварин використовували систему індивідуальних кольорових міток на їхньому тілі, за допомогою 1 % спиртового розчину діамантового зеленого.

Перед початком експерименту тварин тримали на карантині впродовж 7 днів перед початком досліду. Протягом експерименту тварин було випадково розподілено на групи по чотири особини у відповідних клітках. Кожна клітка наповнювалася деревною стружкою, яку замінювали щодня. Тваринам надавали вільний доступ до стандартного комерційного раціону і води. Утримання тварин було стабільним, з циклом світла тривалістю 12 годин світла і 12 годин темряви.В ході експерименту спостерігали за станом тварин та терміном загибелі. Результати враховували в альтернативній формі (кількість загиблих тварин) через 14 діб після одноразового введення [113].

Гостра токсичність сухого екстракту самосилу гайового вивчалась при внутрішньошлунковому введенні. У якості розчинника використано етиловий спирт 96 % та воду для ін'єкцій. Об'єм введеного речовини не перевищував 0,5 мл для мишей при пероральному введенні.

Екстракт вводили тваринам в дозі 5000 мг/кг та 4000 мг/кг у вигляді водно-спиртового розчину, у формі водно-етанолової емульсії із застосуванням Twin-80 у якості емульгатора.

За тваринами спостерігали протягом першої години після введення, через 2, 4, 6, 8, 24 ч, а також раз в день до 14 дня експерименту. Контроль маси тіла проводили через 3, 7 і 14 днів після введення.

Після завершення досліджень, тварини були піддані мортифікації з наступним візуальним оглядом стану основних внутрішніх органів. Це включало в себе огляд наступних органів: головний мозок, печінка, нирки, шлунок, кишечник, легені, серце та підшлункова залоза. В ході оцінки також визначалася маса внутрішніх органів з метою виявлення можливих відхилень від норми або незвичайних змін у структурі та масі цих органів [114].

Оцінювання результатів відбувалось згідно з класифікацією токсичності, яка була розроблена К. К. Сидоровим [115].

Дослідження протизапальної активності.

Для дослідження протизапальної активності застосовували модель карагенан-індукованого запалення у мишей.

Екстракт, що був предметом дослідження, вводили перорально за годину перед субплантарним введенням 0,05 мл 1 % р-ну карагеніну. Диклофенак натрію (4 мг/кг) вводили одноразово перорально у вигляді водно-етанолової емульсії у дозах 1/50 $ЛД_{50}$ (100 мг/кг). У контрольній групі тварини отримували розчинник.

Розмір експериментальної групи складав 5 тварин.

Через 3 год після введення досліджуваного екстракту мишей виводили з експерименту [114]. Задні лапи, які мали набряки та які не мали набряків, ампутували на рівні тазостегнового суглобу та вимірювали їх масу для подальшого порівняння.

Рівень пригнічення набряку розраховували за формулою:

Інгібування набряку,

$$\% = \frac{(\text{Mse}-\text{Mhe})}{(\text{Msc}-\text{Mhc})} \times 100\,\% - 100\,\%,$$

де Mse – маса набряклої стопи в експерименті;

Mhe – маса здорової стопи в експерименті;

Msc – маса набряклої стопи в контролі;

Mhc – маса здорової стопи в контролі.

Одержані дані щодо протизапальної активності порівнювали з референс-препаратом – диклофенаком натрію [113].

Дослідження антиоксидантної активності.

Визначення антиоксидантної активності водного та водно-спиртового екстракту трави самосилу гайового проводили спектрофотометричним методом, за класичною методикою. Завдання методики полягає у визначенні реакційної здатності субстрату відносно стабільного радикалу дифенілпікрилгідразилу (ДФПГ) [116, 117].

Величини оптичної густини спиртових розчинів ДФПГ до (D_o516) та після інкубації зі спиртовими розчинами досліджуваних екстрактів (Dt516), а також значення співвідношення (ΔDt516/Do516)×100 % характеризують антирадикальні властивості, тобто здатність екстрактів слугувати „пастками вільних радикалів”.

Визначення проводили на спектрофотометрі Shimadzu UV-1800 з використанням кварцевих кювет на довжині оптичного шляху 1 см, при контрольованій температурі інкубації 25^0 С.

В якості препаратів порівняння використовували: синтетичний інгібітор вільнорадикальних реакцій Дибунол (Іонол, 2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол) [106] і настойку листя горіха грецького (“Київська ФФ”), що було придбано у аптечній мережі, а також стандартні зразки рутину (“Fluka”) і хлорогенової кислоти (“Fluka”).

Статистичну обробку отриманих даних проводили, використовуючи t - критерій Ст`юдента [109].

РОЗДІЛ 3.
ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У СИРОВИНІ ДЕЯКИХ ВИДІВ РОДУ САМОСИЛ

3.1 Ідентифікація основних груп біологічно активчних речовин

Ідентифікація гідроксикоричних кислот. Ідентифікацію проводили методом ТШХ та ВЕРХ. Для проведення ТШХ використовували систему ТШХ – 2, обробку проводили реактивом № 12. Під дією УФ-світла (365 нм) гідроксикоричні кислоти мають блакитне забарвлення різної інтенсивності. Дослідження методом ВЕРХ проводили за методикою ВЕРХ – 1.

На рис. 3.1 представлена хроматограма визначення деяких гідроксикоричних кислот та флавоноїдів у екстрактах самосилу гайового та самосилу гірського.

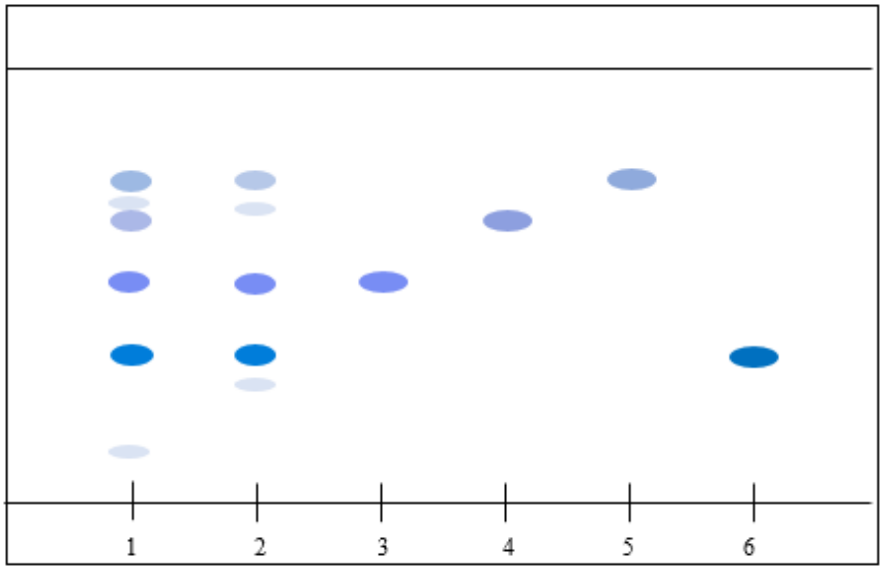


Рис. 3.1 ТШХ-хроматограма визначення деяких гідроксикоричних кислот та флавоноїдів у екстрактах самосилу гайового та самосилу гірського.(1 – екстракт самосилу гайового, 2 – екстракт самосилу гірського, 3 – розчин хлорогенової кислоти, 4 – розчин кофейної кислоти, 5 – розчин цикорієвої кислоти, 6 – розчин рутину).

Ідентифікація вмісту флавоноїдів. Ідентифікацію проводили за допомогою якісних реакцій, методом ТШХ та ВЕРХ. До рівного об’єму рослинного екстракту додали 5 мл суміші 2,0 % NaOH. Утворення оранжево-жовтого, жовтого, червоного або фіолетово-червоного забарвлення вказує на наявність ксантонів, флавонів, флавонолів, халконів та антоціанів відповідно. Присутність флавоноїдів було підтверджено після додавання 2 крапель розведеної сульфатної кислоти шляхом зміни жовтого на безбарвний розчин [121]. Ідентифікацію методом ТШХ проводили у системі ТШХ – 2. У якості нерухомої фази використовували пластинки з тонким шаром силікагелю. Для візуалізації плям на пластині використовували реактив № 12. Дослідження методом ВЕРХ проводили за методикою ВЕРХ – 1.

Ідентифікація вмісту амінокислот. Ідентифікацію проводили за допомогою якісних реакцій, методом ТШХ та за допомогою рідинної хроматографії. Кілька крапель 1 % розчину нінгідрину додали до 1,5 мл екстракту і нагріли на спиртовій лампі. Синьо-фіолетове забарвлення вказує на позитивні результати, наявність амінокислот [120, 123]. Для ідентифікації амінокислот методом ТШХ використовували систему ТШХ – 3. Для візуалізації плям на пластині використовували реактив № 9.

Ідентифікація вмісту полісахаридів. Ідентифікацію проводили за допомогою якісних реакцій. У дві колби з круглим дном додали 5 мл екстракту об'єкта дослідження. До першого зразка додали 0,5 мл концентрованої соляної кислоти, а до другого 0,5 мл води. Розчини нагрівали протягом 20 хвилин. Для першого зразка з кислотністю соляної кислоти середовище доводили до pH 7 за універсальним показником, використовуючи 20 % розчин гідроксиду калію, а в інший додавали еквівалентну кількість води. До обох зразків додали 2 мл реагенту Фелінга, кип'ятили 2 хвилини і залишали на 10 хвилин. Спостерігалося утворення цегляно-червоного осаду оксиду міді (I), що свідчить про наявність вільних цукрів [118].

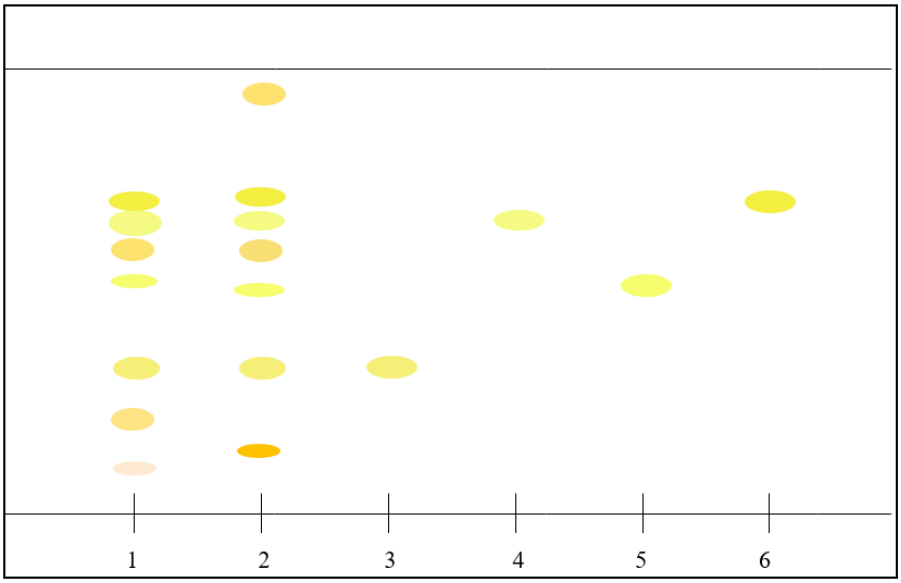


Рис. 3.2 ТШХ-хроматограма визначення деяких амінокислот у екстрактах самосилу гайового та самосилу гірського.(1 – екстракт самосилу гайового, 2 – екстракт самосилу гірського, 3 –аспарагінова кислота, 4 – глутамінова кислота, 5 – валін, 6 – лейцин).

Ідентифікація жирних кислот. Ідентифікацію проводили методом ГРХ за методикою ГРХ – 1.

Ідентифікація моносахаридів. Ідентифікацію проводили за допомогою якісних реакцій та методом ПХ. У пробірку вносили 5 мл екстракту, 1 мл води та 2 краплі свіжоприготовленого 10 %-го спиртового розчину α-нафтолу. Пробірку струшували та обережно по стінці додавали 1 мл концентрованої сульфатної кислоти. На межі поділу двох шарів спостерігали появу темно-фіолетового кільця. Для проведення дослідження методом ПХ гідролізат після видалення аглікону нейтралізували розчином карбонату барію, відфільтровували, випаровували і досліджували вуглеводні залишки методом паперової хроматографії. Дослідження проводили в системі ПХ – 1. Як хромогенний проявник для ідентифікації використовували реагент № 10.

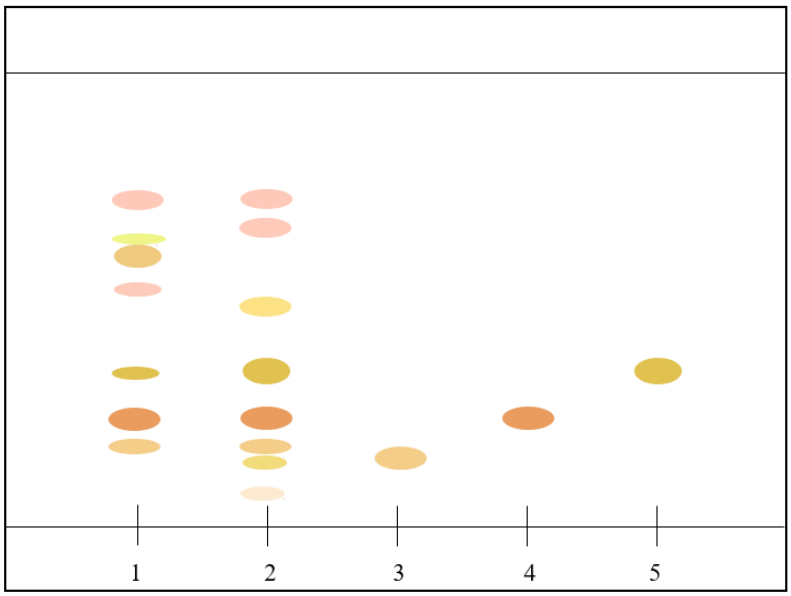


Рис. 3.3 ПХ-хроматограма визначення деяких моносахаридів у екстрактах самосилу гайового та самосилу гірського.(1 – екстракт самосилу гайового, 2 – екстракт самосилу гірського, 3 – фруктоза, 4 – сахароза, 5 – рамноза).

Ідентифікація вмісту терпенових сполук. Ідентифікацію проводили за допомогою якісних реакцій та методом ГХ-МС. До 2 мл екстракту додавали 5 мл хлороформу. 2 мл концентрованої сірчаної кислоти обережно додавали краплями до утворення двофазної фази. Утворення червонувато-коричневого забарвлення в середньому шарі свідчить про позитивні результати терпеноїдів [119]. Для ідентифікації методом ГХМС використовували методику ГХ-МС-1.

Ідентифікація токоферолів. Ідентифікацію проводили методом ТШХ. У якості нерухомої фази використовували пластинки з тонким шаром силікагелю. Дослідження проводили в системі ТШХ – 4. Проявлення плям на пластині проводили за допомогою реактиву № 4.

Ідентифікація стеринів. Ідентифікацію проводили методом ТШХ. У якості нерухомої фази використовували пластинки з тонким шаром силікагелю. Дослідження проводили в системі ТШХ – 6. Для візуалізації плям на пластині використовували реактив № 5. На рис. 3.2 представлена хроматограма визначення β-ситостерину у екстрактах самосилу гайового та самосилу гірського.

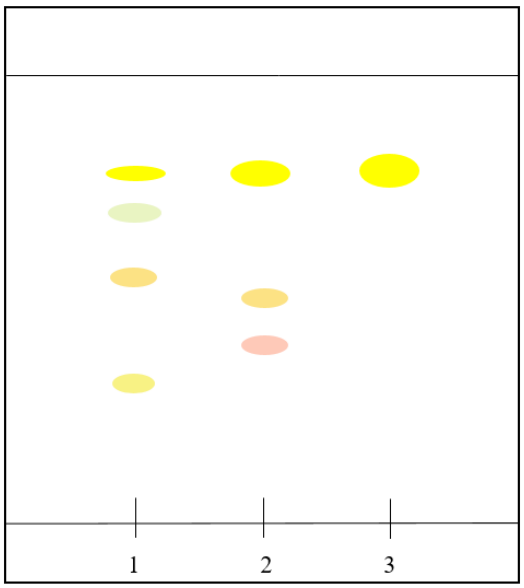


Рис. 3.4 ТШХ-хроматограма визначення α-токоферолу у екстрактах самосилу гайового та самосилу гірського.(1 – екстракт самосилу гайового, 2 – екстракт самосилу гірського, 3 – розчин α-токоферолу).

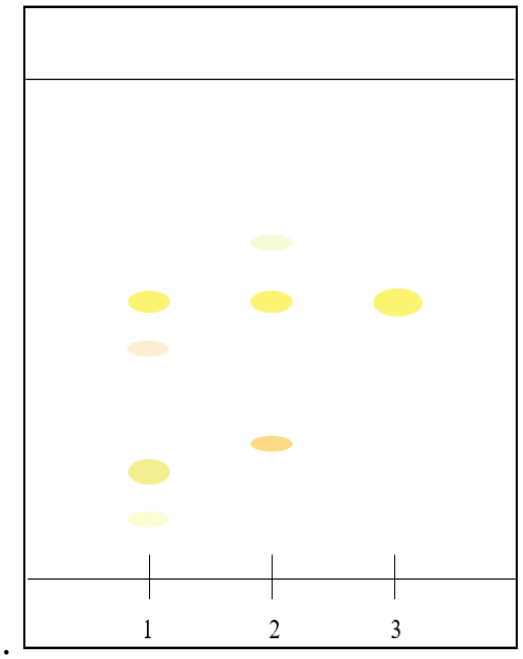


Рис. 3.5 ТШХ-хроматограма визначення β-ситостерину у екстрактах самосилу гайового та самосилу гірського.(1 – екстракт самосилу гайового, 2 – екстракт самосилу гірського, 3 – розчин β-ситостерину).

Ідентифікація хлорофілів. Ідентифікацію проводили методом ТШХ. Наявність хлорофілів підтверджували у системі ТШХ - 4. При дії УФ-світла сполуки мають червону флуоресценцію, що не зникає після висушування хроматограм.

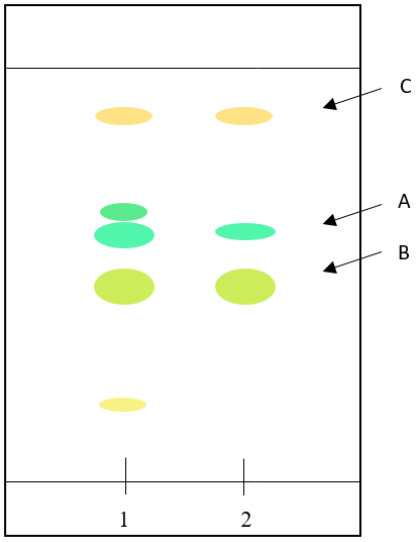


Рис. 3.6 ТШХ-хроматограма визначення хлорофілів та каротиноїдів у екстрактах самосилу гайового та самосилу гірського.(1 – екстракт самосилу гайового, 2 – екстракт самосилу гірського, А – хлорофіл А, В – хлорофіл В, С - каротин).

Ідентифікація вмісту фенолів. Ідентифікацію проводили за допомогою якісних реакцій. В суху пробірку додавали 2 мл екстракту, нагрівали з рівною кількістю фталевого ангідриду (або фталевої кислоти) і повільно додавали 3-5 крапель концентрованої сірчаної кислоти, залишали на 2 хв. Охолоджували і виливали суміш у склянку, що містить розчин розведеного гідроксиду натрію. Утворення рожевого, синього, зеленого, червоного забарвлення свідчить про наявність фенолів з вільним пара-положенням [118, 120].

Ідентифікація фенілпропаноїдів. Ідентифікацію проводили методом ТШХ та ГХ-МС. У якості нерухомої фази використовували пластинки з тонким шаром силікагелю. Дослідження проводили в системі ТШХ – 8. При дії УФ-світла сполуки мали червоно-фіолетову, червоно-коричневу чи жовто-

коричневу флуоресценцію. Для ідентифікації методом ГХМС використовували методику ГХ-МС-1.

Ідентифікація вмісту дубильних речовин (танінів). Ідентифікацію проводили за допомогою якісних реакцій та методом ТШХ. До 2 мл екстракту додають 2 мл дистильованої води. Розчин нагрівали і фільтрували. Додавали кілька крапель хлориду заліза. Наявність дубильних речовин буде підтверджено після утворення розчину зеленого кольору [121]. Ідентифікацію методом ТШХ проводили в системі ТШХ - 1. У якості нерухомої фази використовували пластинки з тонким шаром силікагелю. Візуалізацію плям здійснювали в УФ-світлі з подальшим обробленням реактивами № 7 та № 8.

Дані щодо ідентифікованих речовин представлені у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Основні класи сполук ідентифіковані у сировині самосилу гайового та самосилу гірського

№ п/п	Речовина, її структурна характеристика	Сировина	ТШХ-ідентифікація		ГХ-МС ідентифікація
			Система	R_f	
1	2	3	4	5	6
Гідроксикоричні кислоти					
1	Хлорогенова кислота	1, 2	ТШХ – 2	0,53	-
2	Кофейна кислота	1	ТШХ – 2	0,65	-
3	Цикорієва кислота	1, 2	ТШХ – 2	0,71	-
Флавоноїди					
4	Лютеолін	2	ТШХ – 2	0,48	-
5	Кверцетин	1, 2	ТШХ – 2	0,69	-
6	Рутин	1, 2	ТШХ – 2	0,37	-
Амінокислоти					
7	ГАМК	1, 2	-	-	+
8	Лізин*	1, 2	-	-	+

Продовж. табл. 3.1

1	2	3	4	5	6
9	Гістидин	1, 2	-	-	+
10	Аргінін	1, 2	-	-	+
11	Аспарагінова кислота	1, 2	ТШХ - 3	0,34	+
12	Треонін*	1, 2	-	-	+
13	Серин	1, 2	-	-	+
14	Глутамінова кислота	1, 2	ТШХ - 3	0,70	+
15	Пролін	1, 2	-	-	+
16	Гліцин	1, 2	-	-	+
17	Аланін	1, 2	-	-	+
18	Цистин	1, 2	-	-	+
19	Валін*	1, 2	ТШХ - 3	0,57	+
20	Метіонін*	1, 2	-	-	+
21	Ізолейцин*	1, 2	-	-	+
22	Лейцин*	1, 2	ТШХ - 3	0,73	+
23	Тирозин	1, 2	-	-	+
24	Фенілаланін*	1, 2	-	-	+
Жирні кислоти					
25	Додеканова (лауринова) С12:0	1, 2	-	-	+
26	Пентадеканова С15:0	1, 2	-	-	+
27	Тетрадеканова (міристинова) С14:0	1, 2	-	-	+
28	Н-гексадеканова (пальмітинова) С16:0	1, 2	-	-	+
29	Гептадеканова С17:0	2	-	-	+
30	Октадеканова (стеаринова) С18:0	1, 2	-	-	+
31	Цис-9-октадеценова (олеїнова) С18:1ω9	1, 2	-	-	+

Продовж. табл. 3.1

1	2	3	4	5	6
32	Цис,-цис-9,12-октадекадієнова (лінолева) С18:2ω6	1, 2	-	-	+
33	Ейкозанова (арахінова) С20:0	1, 2	-	-	+
Цукри					
34	Фруктоза	1, 2	ПХ - 1	0,13	-
35	Сахароза	1, 2	ПХ - 1	0,17	-
36	Рамноза	1, 2	ПХ - 1	0,25	-
Монотерпени та їх похідні					
37	Камфора	1	-	-	+
38	α-Пінен	1, 2	-	-	+
39	β-Пінен	1, 2	-	-	+
40	Камфен	1	-	-	+
41	Сабінен	1	-	-	+
42	1,8-Цинеол	1	-	-	+
43	Транс-сабіненгідрат	1	-	-	+
44	α-Туйон	1	-	-	+
45	Цис-сабіненгідрат	1	-	-	+
46	Пінокарвон	1	-	-	+
47	4-Туйон-2-ил ацетат	1	-	-	+
48	Ліналоол	1, 2	-	-	+
49	Лімонен	1	-	-	+
50	Цис-β-терпинеол	1	-	-	+
51	Сабінол	1, 2	-	-	+
52	Терпінен-4-ол	1, 2	-	-	+
53	Лавандулілацетат	1	-	-	+

Продовж. табл. 3.1

1	2	3	4	5	6
54	Сабінілацетат	1	-	-	+
55	Неролідол	1	-	-	+
56	Вербінол	2	-	-	+
57	α-Терпінеол	2	-	-	+
Сесквітерпени					
58	Леден	1	-	-	+
59	Гексагідрофарнезилацетон	1	-	-	+
60	Хамазулен	1	-	-	+
61	α-Фарнезен	1	-	-	+
62	α-Гумулен	1, 2	-	-	+
63	γ-Кадінен	1, 2	-	-	+
64	Гермакрен D	1, 2	-	-	+
65	Гермакрен B	1	-	-	+
66	δ-Кадінен	1	-	-	+
67	α-Мууролен	1	-	-	+
68	c-Мууролен	1	-	-	+
69	α-Каріофілен	1	-	-	+
70	β-Каріофілен	1, 2	-	-	+
71	β-Бурбонен	1	-	-	+
72	β-Селінен	1	-	-	+
73	Вірідіфлорол	1	-	-	+
74	α-Евдесмол	1	-	-	+
75	β-Евдесмол	2	-	-	+
76	α-Копаен	2	-	-	+
77	β-Іонон	2	-	-	+
78	Каріофіленоксид	2	-	-	+

Продовж. табл. 3.1

1	2	3	4	5	6
79	Гумуленоксид	2	-	-	+
80	Фарнезилацетат	2	-	-	+
Тритерпени					
81	Сквален	1, 2	-	-	+
Токофероли					
82	α-Токоферол	1, 2	ТШХ - 4	0,86	-
Стерини					
83	β-Ситостерин	1, 2	ТШХ - 6	0,58	-
84	Стигмастерин	2	ТШХ - 6	0,43	-
85	Кампестерин	1	ТШХ - 6	0,47	-
Хлорофіли					
86	Хлорофіл a	1, 2	ТШХ - 4	0,60	-
87	Хлорофіл b	1, 2	ТШХ - 4	0,54	-
Фенілпропаноїди					
88	Карвакрол	1	ТШХ - 8	0,46	+
89	Тимол	1	ТШХ - 8	0,52	+
90	Евгенол	1, 2	ТШХ - 8	0,47	+
91	Анетол	1, 2	ТШХ - 8	0,85	+
Вуглеводні					
92	Декан	1	-	-	+
93	Пентадекан	1	-	-	+
94	Трикозан	1	-	-	+
95	Пентакозан	1	-	-	+
96	Гептакозан	1, 2	-	-	+
97	Нонакозан	1	-	-	+
98	Тетрадекан	2	-	-	+

Продовж. табл. 3.1

1	2	3	4	5	6
Спирти					
99	Цис-3-гексен-1-ол	2	-	-	+
100	1-октен-3-ол	2	-	-	+
101	Октанол-3	2	-	-	+
102	Бензиловий спирт	2	-	-	+
103	β-фенілетиловий спирт	2	-	-	+
Альдегіди					
104	Нонаналь	1, 2	-	-	+
105	Фенілацетальдегід	1, 2	-	-	+
106	Гексаналь	2	-	-	+
107	Деканаль	2	-	-	+
108	Фурфурол	2	-	-	+
109	Транс-2-гептеналь	2	-	-	+
110	Бензальдегід	2	-	-	+
111	Транс-2,4-гептадієналь	2	-	-	+
112	Цис-2,4-декадієналь	2	-	-	+
113	Тридеканаль	2	-	-	+
Кетони					
114	Транс-жасмон	1	-	-	+
115	Цис-жасмон	1	-	-	+
116	6-метил-5-гептен-2-он	2	-	-	+
117	Транс-3,5-октадієн-2-он	2	-	-	+

Примітки:

1 – самосил гайовий;

2 – самосил гірський;

* - незамінні амінокислоти.

3.2 Вивчення елементного складу видів роду Самосил

Макро- та мікроелементи є абсолютно необхідними та незамінними речовинами для організму людини. Вони беруть активну участь у складних біохімічних та фізіологічних процесах і забезпечують підтримання гомеостазу організму. Забезпечення організму людини всіма необхідними мінеральними сполуками, у достатній кількості, є важливою умовою підтримки здоров'я [107, 122].

Відомо, що ессенціальні мікроелементи відіграють певну роль у біологічній активності ЛРС. Так, наприклад, купрум та цинк впливають на відновлення ланок імунітету та активізують імунні процеси, цинк також стимулює синтез інсуліну, хром сприяє контакту інсуліну з рецептором. Іони марганцю стимулюють процеси остеоутворення, і його недостатність призводить до деформуючого коксоартрозу [123, 124].

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту макро- та мікроелементів виконували з використанням рентген флуоресцентного аналізатора ElvaX-med (Україна) [125].

На рис 3.7-3.16 представлені спектри поглинання для трави, листя, коренів, стебел та суцвіть самосилу гайового та самосилу гірського.

Результати дослідження мікро- та макроелементного складу самосилу гайового та самосилу гірського наведено в таблиці 3.2

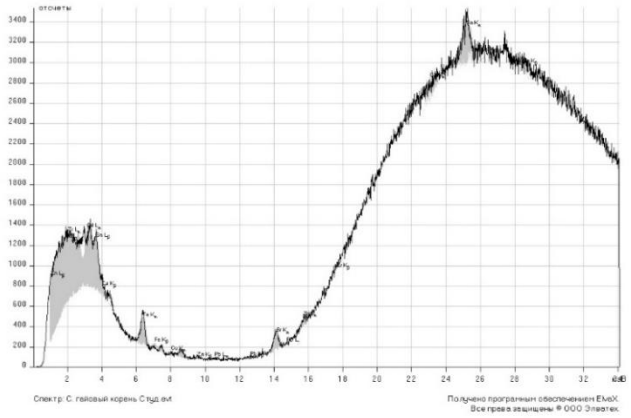


Рис. 3.7 Спектр мікро- та макроелементного аналізу коренів самосилу гайового

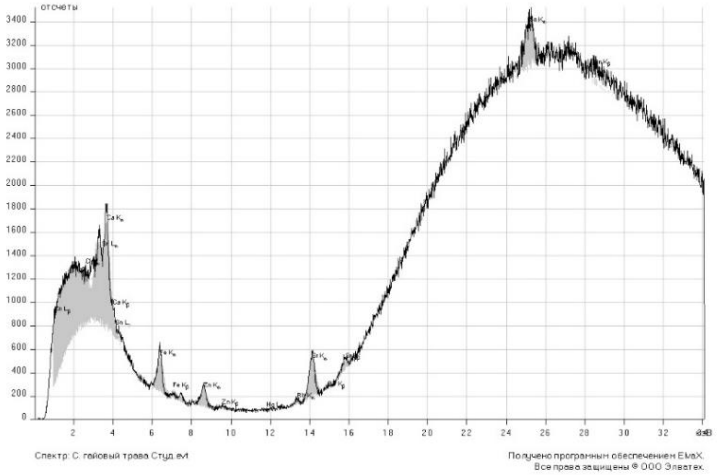


Рис. 3.8 Спектр мікро- та макроелементного аналізу трави самосилу гайового

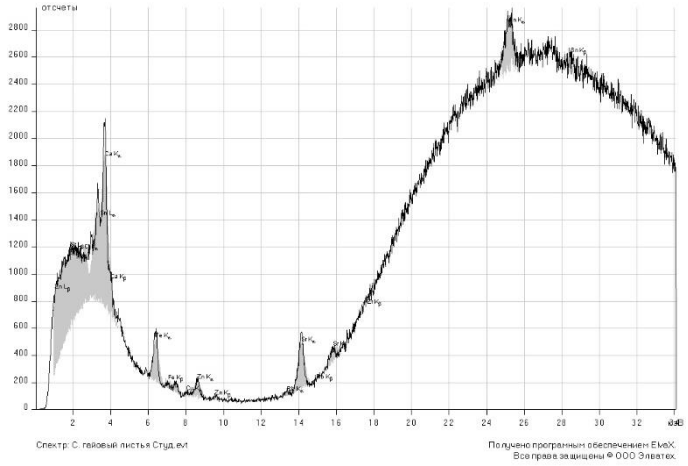


Рис. 3.9 Спектр мікро- та макроелементного аналізу листя самосилу гайового

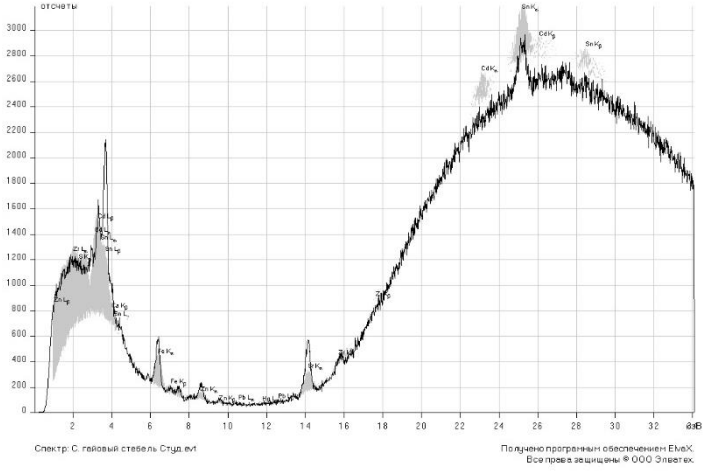


Рис. 3.10 Спектр мікро- та макроелементного аналізу стебла самосилу гайового

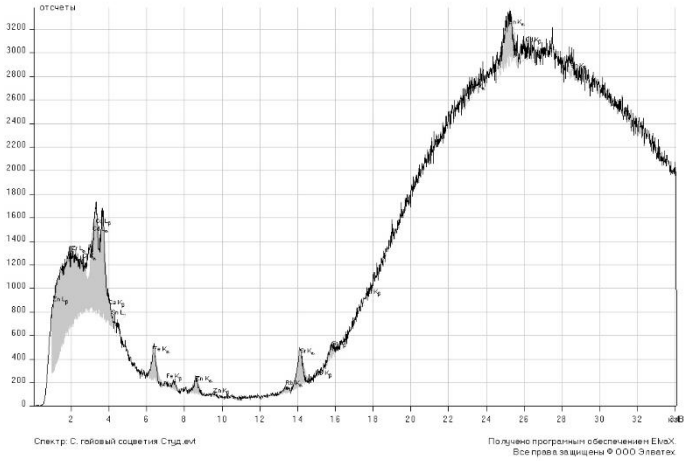


Рис. 3.11 Спектр мікро- та макроелементного аналізу суцвіть самосилу гайового

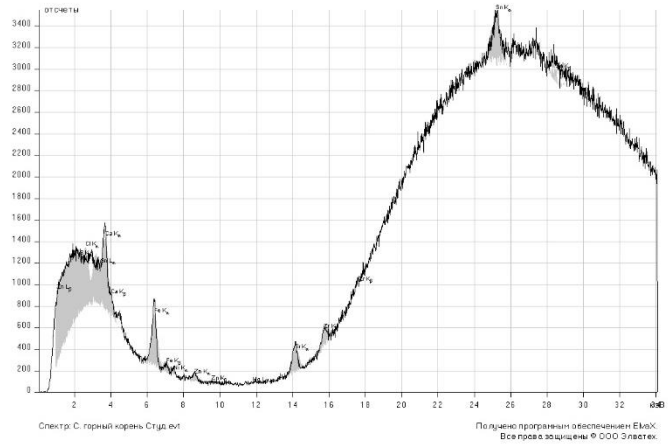


Рис. 3.12 Спектр мікро- та макроелементного аналізу коренів самосилу гірського

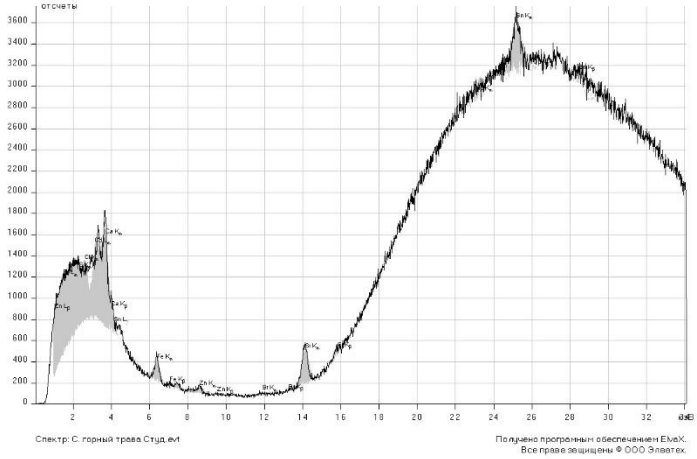


Рис. 3.13 Спектр мікро- та макроелементного аналізу трави самосилу гірського

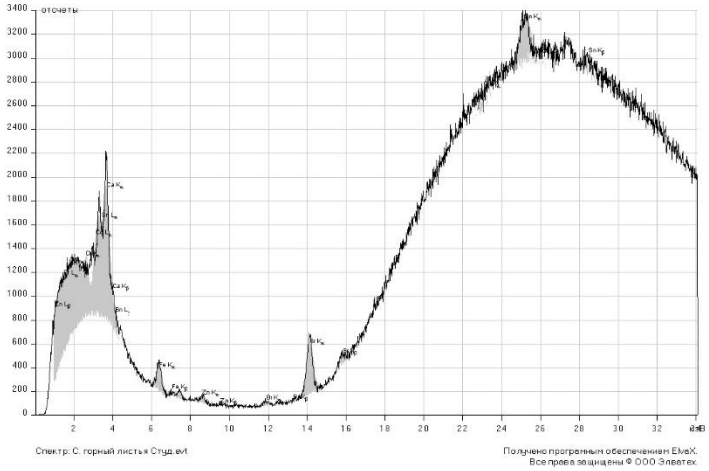


Рис. 3.14 Спектр мікро- та макроелементного аналізу листя самосилу гірського

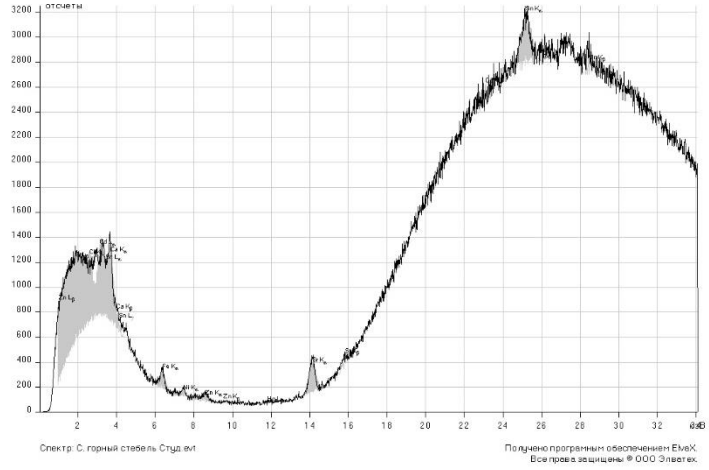


Рис. 3.15 Спектр мікро- та макроелементного аналізу стебла самосилу гірського

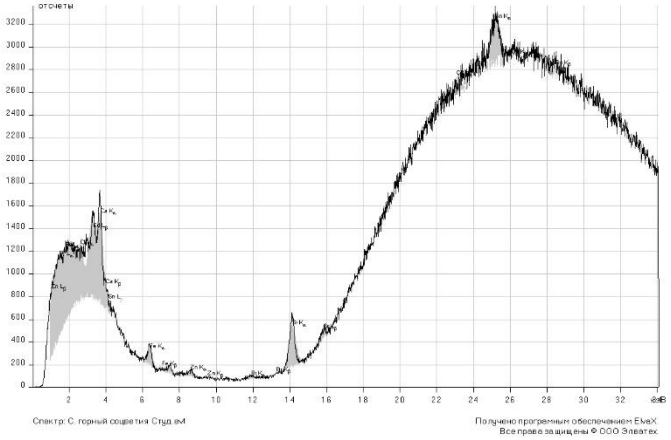


Рис. 3.16 Спектр мікро- та макроелементного аналізу суцвіть самосилу гірського

Таблиця 3.2

Вміст мікро- та макроелементів в сировині самосилу гайового та самосилу гірського

Назва елементу	Вміст елементу в досліджуваному зразку, мг/100 г (на суху сировину)									
	Самосил гайовий					Самосил гірський				
	Корені	Трава	Листя	Стебло	Суцвіття	Корені	Трава	Листя	Стебло	Суцвіття
S	**1076.16± 334.78**	**2304.03± 494.99**	**3661.50± 722.73**	**1117.49± 367.98**	**2224.93± 500.30**	**3246.02± 571.84**	**4312.70± 638.97**	**1479.79± 403.58**	**3461.13± 654.09**	**1122.30± 349.13**
Cl	-	**168.36± 50.01**	-	**14.10± 14.96**	**210.65± 57.68**	**840.20± 108.77**	**54.03± 26.65**	**126.10± 43.97**	**33.61± 23.76**	**341.06± 71.81**
K	**2207.42± 116.72**	**3544.36± 149.32**	**5169.55± 208.53**	**4576.73± 180.52**	**4580.81± 174.73**	**1297.29± 87.93**	**3176.88± 133.31**	**4882.24± 178.51**	**2535.72± 136.02**	**3475.80± 149.28**
Ca	**1120.57± 63.56**	**2775.04± 100.99**	**5274.91± 161.02**	**1554.78± 80.43**	**2337.55± 95.41**	**1857.03± 80.41**	**2228.32± 85.34**	**3850.46± 121.18**	**1762.13± 86.67**	**2468.47± 96.16**
Fe	**60.23±3.50**	**70.61±3.83**	**97.96±5.22**	**68.47±4.01**	**55.26±3.49**	**110.91±4.67**	**37.06 ±2.61**	**44.55±3.10**	**25.89±2.49**	**31.09±2.56**
Co	**4.69±0.85**	**5.20±0.91**	**3.24±0.83**	**1.92±0.58**	**4.11±0.83**	**6.77±1.01**	**3.69±0.72**	**2.14±0.59**	**2.40± 0.66**	-
Cu	**3.39±0.63**	**3.35±0.64**	**3.04±0.70**	**4.54±0.79**	**4.80±0.78**	**4.12±0.69**	**2.27±0.49**	**1.62±0.45**	**3.26±0.68**	**2.60±0.56**
Zn	**5.54±0.77**	**18.94±1.45**	**17.51±1.60**	**6.88±0.92**	**13.58±1.26**	**6.26±0.81**	**4.41±0.65**	**5.32±0.78**	**5.18±0.81**	**5.15±0.76**
Br	**0.74±0.20**	**0.85±0.22**	**0.82±0.24**	**1.17±0.27**	**0.80±0.21**	**1.38±0.26**	**1.40±0.26**	**3.15±0.42**	**1.42±0.30**	**2.47±0.37**
Zr	**3.10±0.33**	**2.39±0.29**	**1.99±0.31**	**2.69±0.33**	**3.14±0.34**	**6.32±0.46**	**1.10±0.18**	**1.90±0.26**	-	-
Mn	**2.44±0.61**	**3.91±0.78**	**8.55±1.34**	**4.83±0.93**	**3.20±0.73**	**5.21±0.88**	-	**3.13±0.71**	**1.84±0.58**	**3.81±0.78**
Ni	-	-	-	-	-	**4.87±0.82**	-	-	-	-
Cr	-	-	**1.67±0.57**	-	-	-	-	**0.67±0.31**	**1.50±0.50**	-

Як свідчать дані, представлені в таблиці 3.2, в об'єктах дослідження ідентифіковано 13 мікро- та макроелементів. В найбільшій кількості містяться чотири елементи – калій, кальцій, сульфур, та хлор. Менший вміст мають ферум, хром, цинк, бром, манган, купрум, нікель та цирконій [126].

Виходячи з вищезазначеного можна зробити висновок, що для сировини самосилу гайового найбільший вміст мікро- та макроелементів характерний для листя, найменший вміст - для коренів рослини.

Для сировини самосилу гірського найбільший вміст мікро- та макроелементів знайдено в траві, найменший – в суцвіттях рослини.

Враховуючи одержані дані, можна розташувати елементи у послідовності по зменшенню їх вмісту в досліджуваних зразках:

– самосил гайовий трава – K > Ca > S >CI > Fe > Zn> Co > Mn > Cu > Zr > Br;

– самосил гайовий листя – Ca >K > S > Fe > Zn> Mn > Co > Cu > Zr > Br;

– самосил гайовий суцвіття – K > Ca > S >CI > Fe > Zn> Cu > Co > Mn > Zr > Br;

– самосил гайовий стебла – K > Ca > S > Fe > CI > Zn> Mn > Cu > Zr > Co > Br;

– самосил гайовий корені – K > Ca > S > Fe > Zn> Co > Cu > Zr > Mn > Br;

– самосил гірський трава – S > K > Ca > CI > Fe > Zn> Co > Cu > Br > Zr;

– самосил гірський листя – K > Ca > S > CI > Fe > Zn> Br > Mn > Co > Zr > Cu;

– самосил гірський суцвіття – K > Ca > S >CI > Fe > Zn> Mn > Cu > Br;

– самосил гірський стебла – S > K > Ca > CI > Fe > Zn> Cu > Co > Mn > Cr > Br;

– самосил гірський корені – S > Ca > K > CI >Fe > Co > Zr > Zn> Mn > Ni > Cu > Br.

Калій має найбільшу концентрацію майже в усій сировині самосилу гайового (листя – 5169,55мг/100 г; суцвіття – 4580,81мг/100 г; стебло – 4576,73 мг/100 г; трава – 3544,36 мг/100 г; корені – 2207,42 мг/100 г) [127].

Як відомо калій є необхідним для підтримки водного балансу, кислотно-лужної рівноваги, а також процесів збудження нервової та м'язової тканин [14].

Для сировини самосилу гірського найбільш поширеним макроелементом є сірка, вона має найбільшу концентрацію в траві (4312,70 мг/100 г), коренях (3246,02 мг/100 г) та стеблах (3461,13 мг/100 г) [128].

Досить у великій кількості також виявлено кальцій. Концентрація в листях самосилу гайового становить 5274,91 мг/100 г, а в листях самосилу гірського – 3850,46 мг/100 г.

Кальцій є одним з найважливіших мінеральних речовин, так як виступає структурним компонентом кісток і важливим елементом забезпечення системи згортання крові. Добова потреба в кальцію – 20 г/кг [3].

Також слід зазначити, що нікель було ідентифіковано лише в сировині листя самосилу гайового, а хром в листі та стеблах самосилу гірського та листі самосилу гайового. Всі ж інші 11 макро- та мікроелементи знайдено в обох видах досліджуваної сировини.

3.3 Аналіз амінокислотного складу видів роду Самосил

Амінокислоти – це сполуки первинного синтезу, які накопичуються в надземних і підземних органах практично всіх рослин. Амінокислоти приймають участь в синтезі білків, коферментів, флавоноїдів, стероїдних сполук, складних вуглеводів, жирів, вітамінів і пігментів [129].

У рослинах білки утворюються в процесі життєдіяльності за допомогою фотосинтезу з неорганічних сполук - це є їх відмінністю від організму людини, в якому не всі амінокислоти синтезуються. Частину амінокислот людський організм поповнює за рахунок виключно рослинної їжі [130, 131, 132].

Лізин необхідний для нормального формування кісток і росту дітей, сприяє засвоєнню кальцію та підтриманню нормального обміну азоту у дорослих.

Лейцин здатний впливати на секрецію інсуліну, збільшуючи його виділення, сприяє збільшенню синтезу білка [6, 133].

Глутамінова кислота є нейромедіатором, стимулює передачу імпульсів в синапсах центральної нервової системи.

Аспарагінова кислота забезпечує нейропротекторну функцію, бере участь в регуляторних процесах ендокринної системи [134, 135, 136].

Широке поширення амінокислот у рослинах та їх висока біологічна активність сприяють ефективній дії на організм як лікарської сировини, так і отриманих з неї препаратів [137, 138].

Якісний та кількісний склад амінокислот визначали за методом Штейна і Мура у сучасній модифікації, із застосуванням автоматичного аналізатора амінокислот моделі ААА Т – 339 (Чехія) [108].

Результати дослідження амінокислотного складу *Teucrium chamaedrys* L. та *Teucrium montanum* L. відображені у таблиці 3.3.

Отриманні дані свідчать про наявність у всіх зразках досліджуваної рослинної сировини 18 амінокислот, з яких 7 є незамінними.

Відповідно до результатів дослідження визначено, що найбільшу кількість амінокислот містить трава *Teucrium chamaedrys* L. – 7,161 мг/100 мг. Вміст амінокислот у коренях самосилу гайового та траві самосилу гірського практично однаковий 3,853 мг/100 мг та 3,703 мг/100мг відповідно. Найменша кількість амінокислот міститься у коренях самосилу гірського – 2,391 мг/100мг [139].

Таблиця 3.3

Вміст амінокислот у траві та коренях

***Teucrium chamaedrys* L. та *Teucrium montanum* L.**

№	Амінокислота	Вміст амінокислот							
		Teucrium chamaedrys L.				*Teucrium montanum* L.			
		Трава		Корені		Трава		Корені	
		Кількість мг/100 мг	% від загальної кількості	Кількість мг/100 мг	% від загальної кількості	Кількість мг/100 мг	% від загальної кількості	Кількість мг/100 мг	% від загальної кількості
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	ГАМК	0,009	0,12	0,056	1,45	0,016	0,43	0,022	0,91
2	Лізин*	0,543	7,58	0,225	5,85	0,287	7,74	0,132	5,50
3	Гістидин	0,326	4,56	0,105	2,73	0,067	1,81	0,065	2,73
4	Аргінін	0,139	1,94	0,181	4,70	0,184	4,97	0,135	5,63
5	Аспарагінова кислота	0,672	9,38	0,849	22,03	0,528	14,26	0,336	14,05
6	Треонін*	0,252	3,51	0,186	4,84	0,195	5,27	0,150	6,26
7	Серин	0,269	3,75	0,235	6,09	0,230	6,20	0,179	7,50
8	Глутамінова кислота	1,723	24,07	0,490	12,73	0,499	13,47	0,304	12,72
9	Пролін	0,115	1,61	0,185	4,81	0,165	4,46	0,153	6,41
10	Гліцин	0,606	8,46	0,209	5,44	0,266	7,19	0,136	5,69
11	Аланін	0,361	5,04	0,253	6,58	0,284	7,68	0,176	7,35
12	Цистин	0,060	0,84	0,032	0,84	0,041	1,11	0,030	1,25
13	Валін*	0,307	4,29	0,124	3,21	0,142	3,82	0,092	3,85
14	Метіонін*	0,119	1,66	0,072	1,87	0,046	1,24	0,060	2,49
15	Ізолейцин*	0,243	3,40	0,106	2,74	0,096	2,59	0,075	3,13
16	Лейцин*	0,653	9,11	0,239	6,21	0,345	9,30	0,158	6,62
17	Тирозин	0,331	4,62	0,187	4,86	0,147	3,96	0,089	3,74
18	Фенілаланін*	0,434	6,06	0,117	3,03	0,167	4,50	0,099	4,16
Загальний вміст		7,161	100,00	3,853	100,00	3,703	100,00	2,391	100,00

* - незамінні амінокислоти

Враховуючи дані таблиці можна розташувати амінокислоти у наступній послідовності за зменшенням їх вмісту:

- трава *Teucrium chamaedrys* L.: глутамінова кислота > аспарагінова кислота > лейцин > гліцин > лізин > фенілаланін > аланін > тирозин > гістидин > валін > серин > треонін > ізолейцин > аргінін > метіонін > пролін > цистин > ГАМК;
- корені *Teucrium chamaedrys* L.: аспарагінова кислота > глутамінова кислота > аланін > лейцин > серин > лізин > гліцин > тирозин > треонін > пролін > аргінін > валін > фенілаланін > ізолейцин > гістидин > метіонін > ГАМК > цистин;
- трава *Teucrium montanum* L.: аспарагінова кислота > глутамінова кислота > лейцин > лізин > аланін > гліцин > серин > треонін > аргінін > фенілаланін > пролін > тирозин > валін > ізолейцин > гістидин > метіонін > цистин > ГАМК;
- корені *Teucrium montanum* L.: аспарагінова кислота > глутамінова кислота > серин > аланін > лейцин > пролін > треонін > гліцин > аргінін > лізин > фенілаланін > валін > тирозин > ізолейцин > гістидин > метіонін > цистин > ГАМК.

В найбільшій кількості у траві і коренях *Teucrium montanum* L. та коренях *Teucrium chamaedrys* L. виявлено аспарагінову кислоту – 0,528 мг/100 мг, 0,336 мг/100 мг та 0,849 мг/100 мг відповідно, тоді як у траві *Teucrium chamaedrys* L. домінуючим компонентом є глутамінова кислота.

Серед переважаючих амінокислот, окрім аспарагінової та глутамінової кислот, варто відзначити лейцин, гліцин, лізин та аланін, концентрація яких в досліджуваних об’єктах в межах 5-10 % від загального вмісту амінокислот.

У траві самосилу гайового серед мажоритарних компонентів виявлено 0,653 мг/100 мг лейцину, 0,606 мг/100 мг гліцину, 0,543 мг/100 мг лізину та 0,361 мг/100 мг аланіну. В коренях самосилу гайового концентрація даних амінокислот становить 0,239 мг/100 мг, 0,209 мг/100 мг, 0,225 мг/100 мг та 0,253 мг/100 мг відповідно [140].

У траві самосилу гірського визначено 0,345 мг/100 мг лейцину, 0,266 мг/100 мг гліцину, 0,287 мг/100 мг лізину та 0,284 мг/100 мг аланіну. Вміст даних амінокислот в коренях самосилу гірського становить 0,158 мг/100 мг, 0,136 мг/100 мг, 0,132 мг/100 мг та 0,176 мг/100 мг відповідно [141].

В найменших кількостях у всіх досліджуваних об’єктах виявлено метіонін, цистин та гамма-аміномасляну кислоту.

Аспарагінова кислота є нейромедіатором ЦНС, необхідна для правильного функціонування нервової та ендокринної систем. Глутамінова стимулює окисні процеси, підвищує стійкість організму до гіпоксії, відіграє важливу роль у діяльності скелетних м'язів [134, 135].

3.4 Визначення вмісту летких сполук методом газової хроматографії з масс-детекцією

Дослідження летких компонентів здійснювали за допомогою методу газової хроматографії з мас-детекцією [142, 143, 144]. Підготовку досліджуваних зразків до хроматографування виконано за методикою [145, 146].

Хроматографічне вивчення досліджуваних екстрактів здійснювали на газовому хроматографі Agilent 6890 (Agilent Technologies, США), обладнаному мас-спектрометричним детектором (модель 5973) за таких умов:

– капілярна колонка DB-5 із внутрішнім діаметром 0,25 мм завдовжки 30 м;

– газ-носій – гелій;

– швидкість газу-носія 1,2 мл/хв;

– температура інжектора – 250 ºС;

– температура печі 50 ºС (час витримки 0 хв), приріст температури 4 ºС/хв до температури 320 ºС (час витримки 0 хв).

Для ідентифікації компонентів використовувалась бібліотека компонентів мас-спектрів NIST05 и WILEY 2007 з загальною кількістю

спектрів більше 470000 в поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS та NIST.

Об’єктом дослідження була трава самосилу гайового, зібрана в період цвітіння у травні-червні 2019 р. на дослідних ділянках Ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України в м. Київ.

Хроматограма досліджуваного екстракту трави самосилу гайового представлена на рис. 3.17. Якісний склад і кількісний вміст ідентифікованих сполук досліджуваного об’єкту наведений у табл. 3.4.

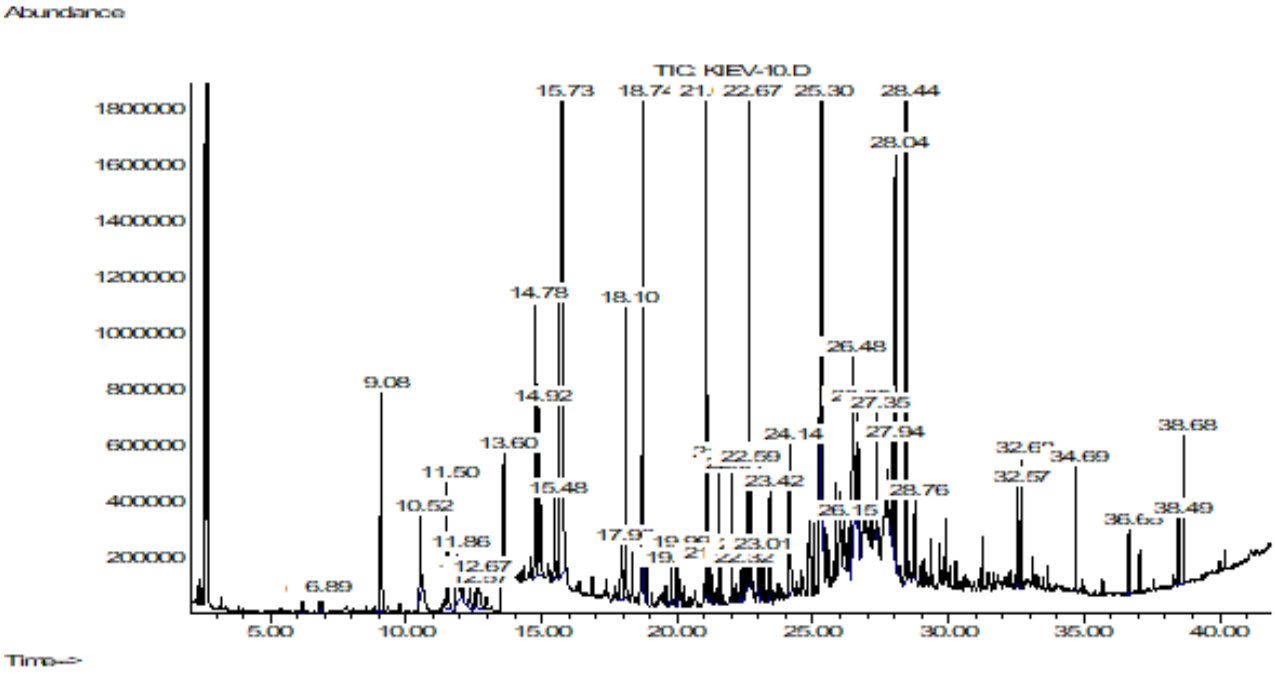


Рис. 3.17 Хроматограма летких сполук трави самосилу гайового

Як слідує із даних, представлених в таблиці 3.4, в результаті проведених досліджень, з використанням бібліотечних спектрів, в екстракті трави самосилу гайового було виявлено та ідентифіковано 42 леткі компоненти.

Найбільшу концентрацію серед летких сполук трави самосилу гайового має сесквітерпен хамазулен, вміст якого складає 53,20 мг/кг сировини, або 17,38 % вмісту всіх ідентифікованих летких сполук об'єкту дослідження. Дещо менший вміст має летка сполука віридифлорол, вміст якого складає 32,80 мг/кг сировини (10,72 % від усіх ідентифікованих летких сполук трави самосилу гайового) [147].

Таблиця 3.4

Хімічний склад летких речовин трави самосилу гайового

№ з/п	Час утри-мування	Компонент	Вміст, мг/кг сировини*	Вміст (%) від загальної суми летких речовин
1	2	3	4	5
1	6.18	Декан	0,60	0,20
2	6.79	Сабінен	0,50	0,16
3	6.89	β-пінен	0,80	0,26
4	9.08	1,8-цинеол	12,00	3,92
5	10.51	транс-сабіненгідрат	4,30	1,40
6	11.49	Ліналоол	7,80	2,55
7	11.85	цис-β-терпінеол	4,30	1,40
8	12.09	Нонаналь	0,80	0,26
9	12.36	Фенілацетальдегід	1,30	0,42
10	12.56	α-туйон	0,80	0,26
11	12.67	цис-сабіненгідрат	2,80	0,91
12	13.6	Сабінол	4,10	1,34
13	14.78	Камфора	13,50	4,41
14	14.92	терпінен-4-ол	10,70	3,50
15	15.47	Пінокарвон	3,90	1,27
17	17.96	4-туйен-2-ил ацетат	3,70	1,21
18	18.1	Лавандулілацетат	11,80	3,85
19	18.73	Сабінілацетат	24,40	7,97
20	19.78	Анетол	1,40	0,46
21	19.98	β-бурбонен	2,00	0,65
22	21.07	β-каріофілен	25,60	8,36
23	21.24	Пентадекан	1,50	0,49

Продовж. табл. 3.4

1	2	3	4	5
24	21.54	евгенол	6,80	2,22
25	22	гумулен	4,50	1,47
26	22.31	β-селінен	0,90	0,29
27	22.45	транс-жасмон	1,60	0,52
28	22.58	цис-жасмон	3,30	1,08
29	22.67	гермакрен D	17,20	5,62
30	23	гермакрен B	1,20	0,39
31	23.41	δ-кадінен	3,90	1,27
32	24.14	неролідол	8,60	2,81
33	25.3	вірідіфлорол	32,80	10,72
34	26.14	епі-α-кадінол	2,80	0,91
35	26.48	α-евдесмол	12,50	4,08
36	27.94	гексагідрофарнезилацетон	3,00	0,98
37	28.44	хамазулен	53,20	17,38
38	32.57	трикозан	2,80	0,91
39	34.69	пентакозан	3,60	1,18
40	36.65	гептакозан	2,10	0,69
41	38.48	нонакозан	2,10	0,69
42	38.68	сквален	4,60	1,50

Примітка. «*» – середнє значення, n = 5.

До мажоритарних речовин леткої фракції трави самосилу гайового відносяться наступні леткі сполуки: β-каріофіллен, сабінілацетат та гермакрен D, вміст яких складає 25,60 мг/кг, 24,40 мг/кг та 17,20 мг/кг сировини відповідно, або 8,36 %, 7,97 % та 5,62 %, від всіх ідентифікованих летких сполук самосилу гайового [147].

Слід також зазначити, що сумарний вміст усіх п'яти мажоритарних летких сполук трави самосилу гайового складає близько 50,05 % від загальної кількості ідентифікованих летких сполук в об'єкті дослідження.

Хроматограма досліджуваного екстракту трави самосилу гірського представлена на рис. 3.18.

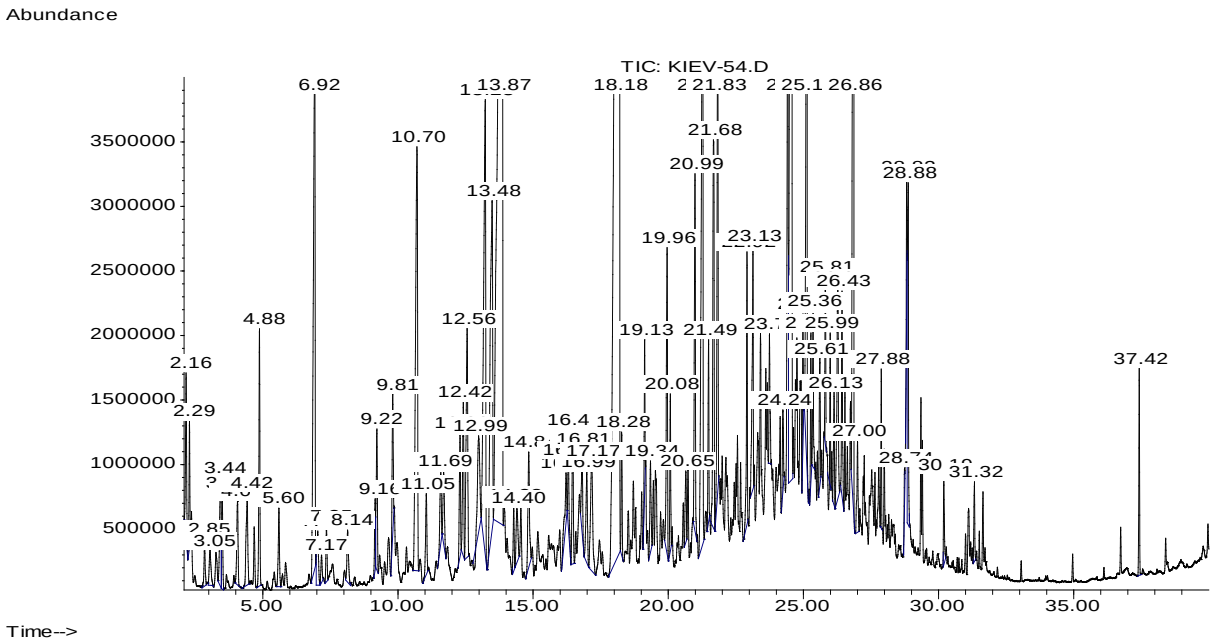


Рис. 3.18 Хроматограма летких сполук трави самосилу гірського

Якісний склад і кількісний вміст ідентифікованих сполук досліджуваного об’єкту наведений у табл. 3.5.

Таблиця 3.5

Хімічний склад летких речовин трави самосилу гірського

№ з/п	Час утри-мування	Компонент	Вміст, мг/кг сировини*	Вміст (%) від загальної суми летких речовин
1	2	3	4	5
1	3,50	Гексаналь	1,98	0,71
2	4,42	цис-3-гексен-1-ол	2,34	0,84
3	4,87	Сабінол	2,66	0,96
4	5,59	Фурфурол	2,00	0,72

Продовж. табл. 3.5

1	2	3	4	5
5	6,92	1-октен-3-ол	18,10	6,52
6	7,03	октанол-3	1,80	0,65
7	7,17	а-пінен	4,70	1,69
8	7,35	транс-2-гептеналь	1,20	0,43
9	8,13	6-метил-5-гептен-2-он	0,78	0,28
10	9,15	β-евдесмол	2,11	0,76
11	9,22	бензальдегід	3,40	1,23
12	9,81	транс-2,4-гептадієналь	3,10	1,12
13	10,70	ліналоол	16,83	6,07
14	11,05	нонаналь	2,10	0,76
15	11,58	терпінен-4-ол	2,33	0,84
17	11,69	бензиловий спирт	2,20	0,79
18	12,29	фенілацетальдегід	2,80	1,01
19	12,56	β-пінен	7,50	2,70
20	12,42	транс-3,5-октадієн-2-он	3,80	1,37
21	13,23	вербенол	18,20	6,56
22	14,28	деканаль	1,40	0,50
23	14,40	β-фенілетиловий спирт	1,90	0,68
24	14,84	α-терпінеол	3,60	1,30
25	16,46	метилсаліцилат	3,40	1,23
26	16,81	тетрадекан	2,10	0,76
27	18,28	цис-2,4-декадієналь	2,20	0,79
28	19,12	γ-кадинен	3,61	1,30
29	19,34	анетол	2,20	0,79
30	19,95	β-каріофілен	8,12	2,93

Продовж. табл. 3.5

1	2	3	4	5
31	20,07	тридеканаль	2,70	0,97
32	20,65	етіллінолеат	1,60	0,58
33	20,99	гумулен	7,70	2,78
34	21,27	евгенол	20,80	7,50
35	21,67	α-копаен	14,16	5,10
36	21,83	сквален	10,20	3,68
37	22,91	β-іонон	5,00	1,80
38	24,56	каріофіленоксид	39,10	14,09
39	25,12	гумуленоксид	17,60	6,34
40	26,85	гермакрен D	22,80	8,22
41	28,74	етилпальмітат	0,50	0,18
42	28,82	фарнезилацетон	1,70	0,61
43	28,87	пальмітинова кислота	3,41	1,23
44	37,42	гептакозан	1,70	0,61

Примітка. «*» – середнє значення, n = 5.

Як слідує із даних, представлених в таблиці 3.5, в результаті проведених досліджень, з використанням бібліотечних спектрів, в екстракті трави самосилу гірського було виявлено та ідентифіковано 44 леткі компоненти.

Найбільшу концентрацію серед летких сполук трави самосилу гірського має каріофіленоксид, вміст якого складає 39,10 мг/кг сировини, або 14,09 % вмісту всіх ідентифікованих летких сполук об'єкту дослідження.

До мажоритарних речовин леткої фракції трави самосилу гірського відносяться наступні леткі сполуки: гермакрен D, евгенол, вербенол та 1-октен-3-ол, вміст яких складає 22,80 мг/кг, 20,80 мг/кг, 18,20 мг/кг та 18,10 мг/кг сировини відповідно, або 8,22 %, 7,50 %, 6,56 % та 6,52 % відповідно від суми ідентифікованих сполук самосилу гірського.

Слід також зазначити, що сумарний вміст усіх п'яти мажоритарних летких сполук трави самосилу гірського складає близько 42,89 % від загальної кількості ідентифікованих летких сполук в об'єкті дослідження.

3.5 Дослідження вмісту гідроксикоричних кислот та флавоноїдів методом ВЕРХ

Фенольні сполуки здебільшого містяться у рослинах та відомі своїми потужними антиоксидантними властивостями [148, 149, 150, 151, 152].

Дослідження сировини методом високоефективної рідинної хроматографії проводили на хроматографі Shimadzu ser. 20, обладнаному діодно-матричним детектором, автосамплером і термостатом (метод ВЕРХ–1).

Досліджувані екстракти отримували згідно до наступної методики: точку наважку сировини поміщали в колбу, обладнану зворотним холодильником, вносили, відповідно, 50 мл розчину спирту етилового 70 % і витримували на водяній бані протягом 45 хвилин. Отриманий екстракт охолоджували, доводячи до кімнатної температури та фільтрували крізь фільтр («червона стрічка» - 125 м). Екстракцію проводили декілька разів до отримання 100 мл витягу [153, 154, 155].

До 5 мл отриманого екстракту додавали воду очищену, щоб концентрація спиртового розчину екстракту стала дорівнювати 25 %. Отриманий зразок пропускали крізь попередньо активований (метанол 5 мл) та промитий 10 мл води патрон для твердо-фазної екстракції «Supercleanlc-18 SPETubes 2 ml» виробництва фірми Supelco (США). Патрон промивали 10 мл 25 % етилового спирту. Пробу із патрону вимивали 10 мл метилового спирту [156, 157].

На рис. 3.19 – 3.24 наведено хроматограми досліджуваної сировини.

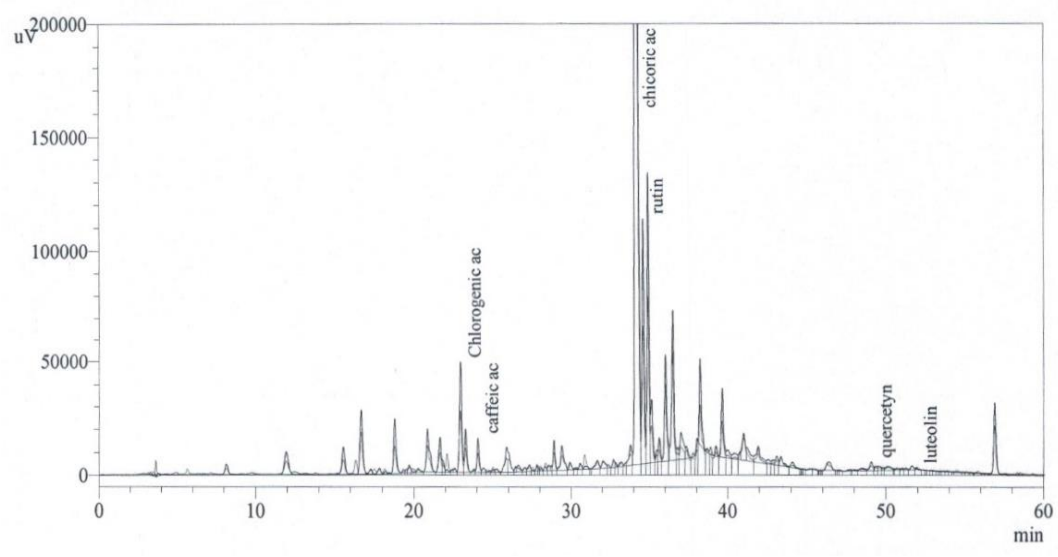


Рис. 3.19 Хроматограма екстракту листя самосилу гайового.

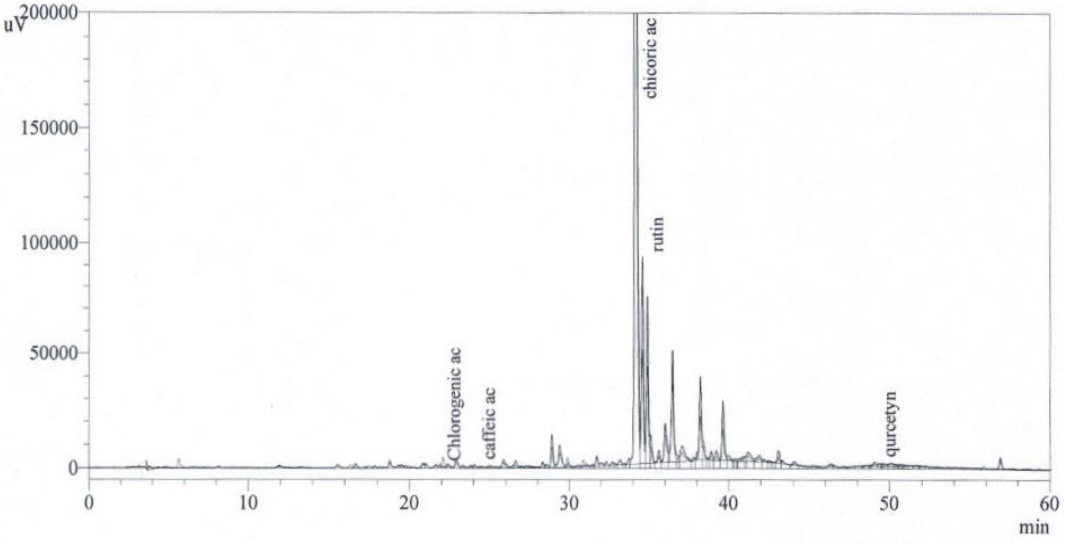


Рис. 3.20 Хроматограма екстракту трави самосилу гайового.

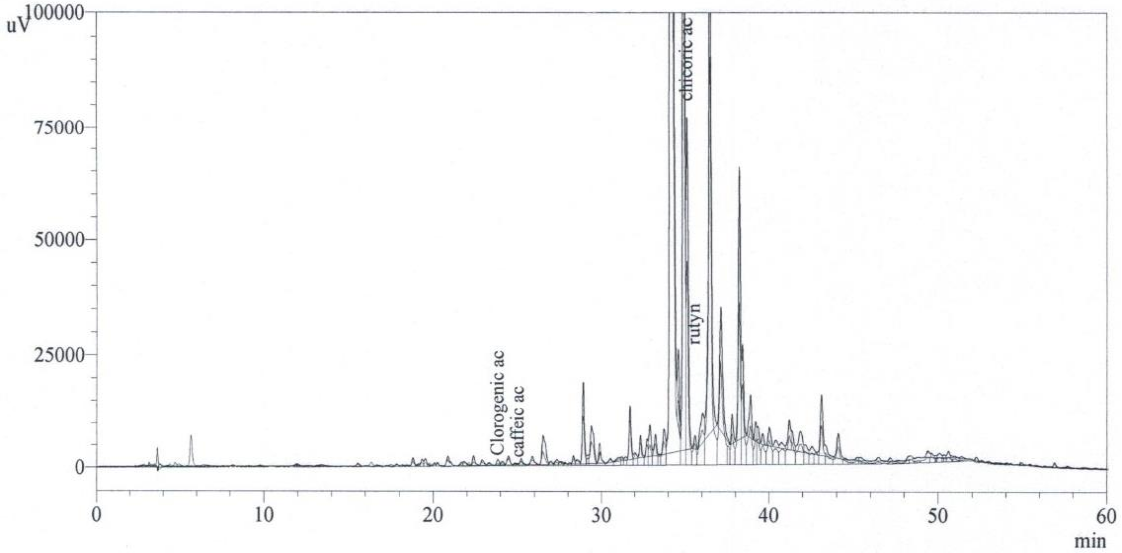


Рис. 3.21 Хроматограма екстракту коренів самосилу гайового.

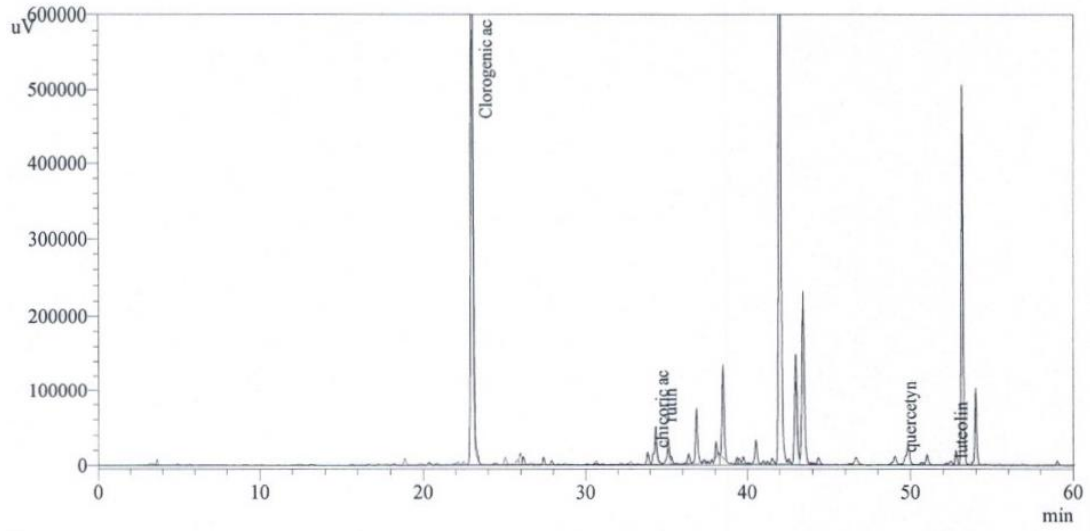


Рис. 3.22 Хроматограма екстракту листя самосилу гірського.

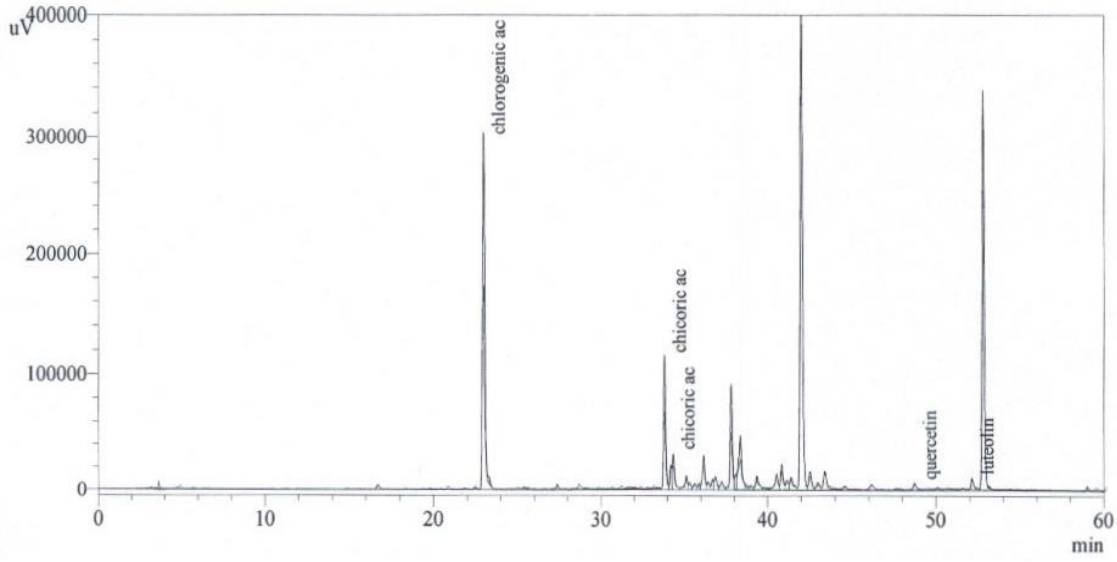


Рис. 3.23 Хроматограма екстракту трави самосилу гірського.

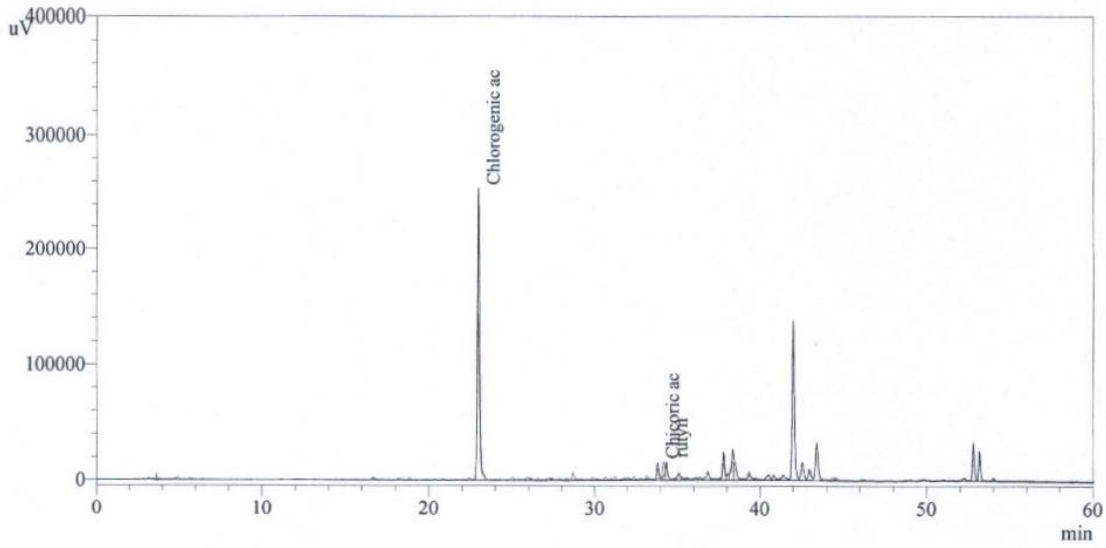


Рис. 3.24 Хроматограма екстракту коренів самосилу гірського.

Кількісний вміст визначених компонентів для самосилу гайового наведено в табл. 3.6., а для самосилу гірського в табл. 3.7.

Таблиця 3.6

Кількісний вміст ідентифікованих речовин *Teucrium chamaedrys* L.

№	Ідентифікована сполука	Кількісний вміст ідентифікованих речовин (%)		
		Teucrium chamaedrys L.		
		Листя	Трава	Корені
1	Хлорогенова кислота	0,1006±0,003	0,0023±0,001	0,0033±0,001
2	Цикорієва кислоти	0,6257±0,050	0,5057±0,048	0,4548±0,167
3	Кофейна кислота	0,0164±0,001	0,0019±0,001	0,0013±0,001
4	Кверцетин	0,0117±0,001	0,0163±0,001	-
5	Рутин	0,4237±0,012	0,4069±0,012	0,0302±0,001

Таблиця 3.7

Кількісний вміст ідентифікованих речовин *Teucrium montanum* L.

№	Ідентифікована сполука	Кількісний вміст ідентифікованих речовин (%)		
		Teucrium montanum L.		
		Листя	Трава	Корені
1	Хлорогенова кислота	1,9429±0,058	0,6026±0,017	0,4782±0,014
2	Цикорієва кислоти	0,0329±0,001	0,1937±0,005	0,0708±0,002
3	Кверцетин	0,0609±0,001	0,0156±0,001	-
4	Рутин	0,2667±0,007	-	0,0766±0,002
5	Лютеолін	0,0057±0,001	0,0204±0,001	-

Згідно отриманих даних, в екстрактах *Teucrium chamaedrys* L. ідентифіковано 5 сполук - хлорогенову кислоту, цикорієву кислоту, кофейну кислоту, кверцетин та рутин.

В екстрактах *Teucrium montanum* L. визначено хлорогенову та цикорієву кислоти, а також кверцетин, рутин та лютеолін.

Відповідно до результатів дослідження, наведених в таблицях 3.6 та 3.7., в найбільшій кількості у всіх типах сировини самосилу гайового переважає цикорієва кислота, її вміст у листі, траві та коренях становить відповідно 0,6257±0,050 %, 0,5057±0,048 % та 0,4548±0,167 % відповідно. Для всіх типів сировини самосилу гірського є характерним високий вміст хлорогенової кислоти (в листях - 1,9429±0,058 %, в траві - 0,6026±0,017 % та 0,4782±0,014 % в коренях).

Серед флавоноїдів в найбільшій кількості у сировині самосилу гайового виявлено рутин, вміст якого у листі, траві та коренях дорівнює 0,4237±0,012 %, 0,4069±0,012 % та 0,0302±0,001 % відповідно. У сировині самосилу гірського вміст рутину також є найбільшим і становить 0,2667±0,007 % у листі та 0,0766±0,002 % у коренях рослини.

Визначення суми гідроксикоричних кислот: 1 мл досліджуваного розчину було поміщено в колбу на 25 мл. До цього розчину додавали 2 мл 0,5 М розчину кислоти хлористоводневої, 2 мл розчину натрію нітриту та натрію молібдату і 1 мл розчину натрію гідроксиду, розведеного у воді. Змішували отриманий розчин і доливали води до відповідної позначки. Для вимірювання оптичної густини (довжина хвилі 505 нм), використовували компенсаційний розчин, який був аналогічний до досліджуваного розчину, але без додавання розчину натрію нітриту та натрію молібдату. Кювета для вимірювання мала стінки 10 мм завтовшки.

Спектри поглинання розчину порівняння хлорогенової кислоти та екстрактів трави, листя та коренів самосилу гайового та самосилу гірського наведені на рис. 3.25-3.31.

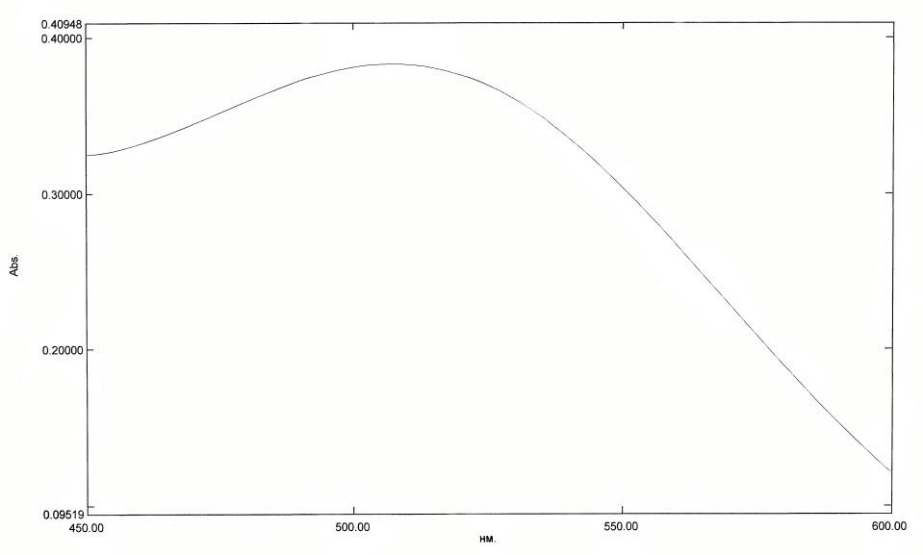


Рис. 3.25 Спектр поглинання розчину хлорогенової кислоти

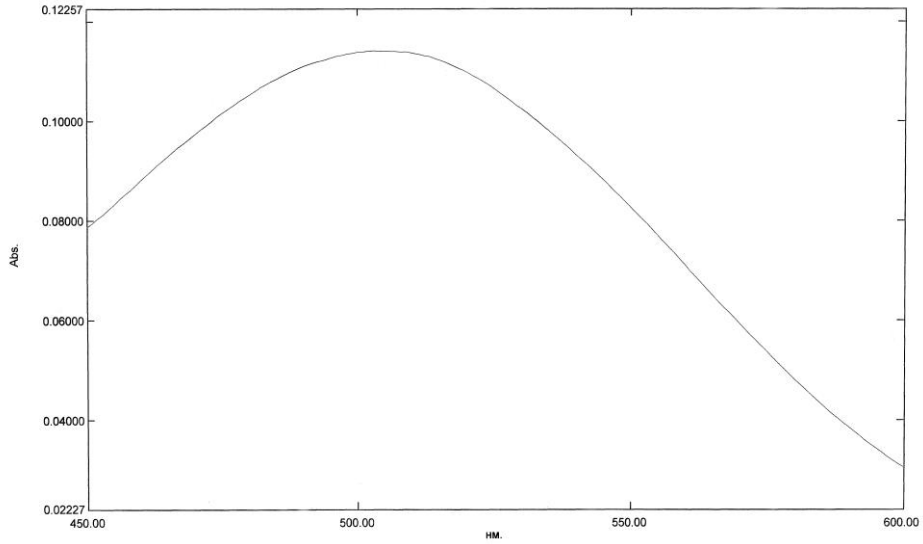


Рис. 3.26 Спектр поглинання екстракту трави самосилу гайового

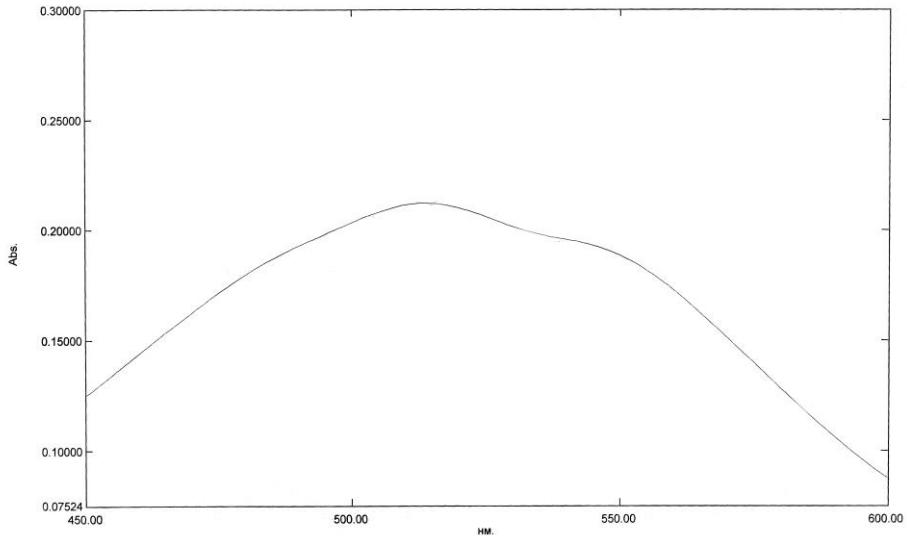


Рис. 3.27 Спектр поглинання екстракту листя самосилу гайового

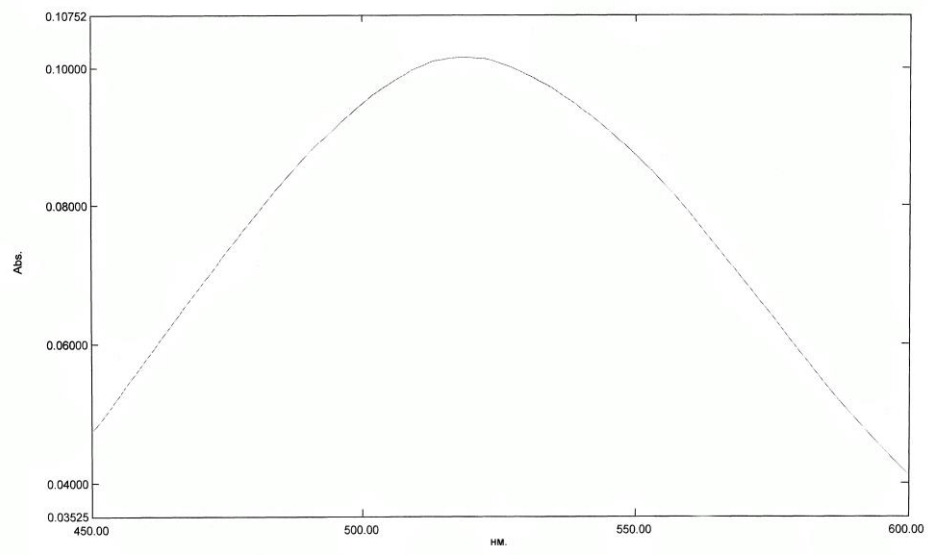


Рис. 3.28 Спектр поглинання екстракту коренів самосилу гайового

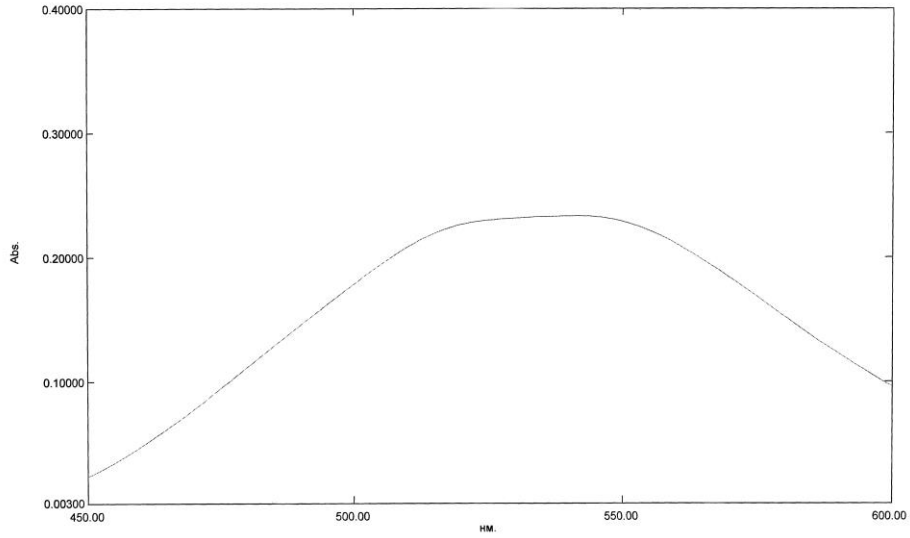


Рис. 3.29 Спектр поглинання екстракту трави самосилу гірського

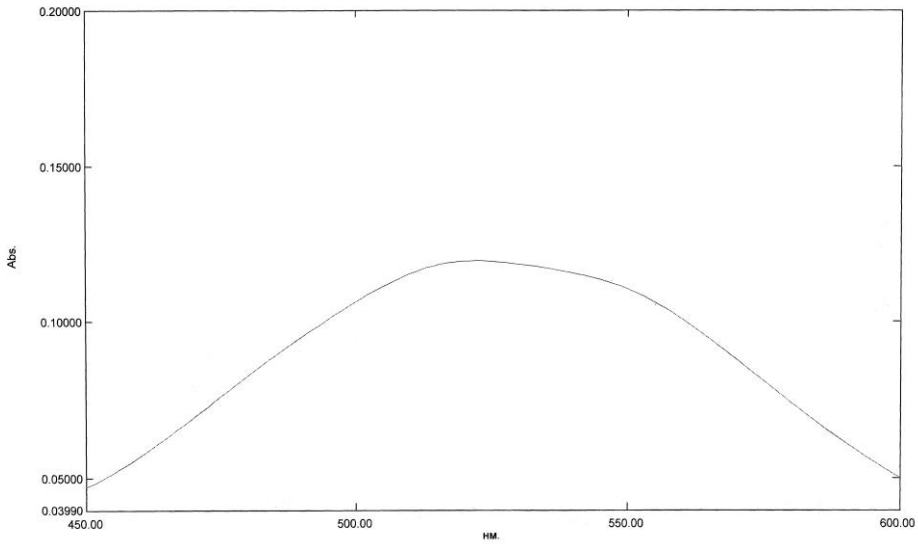


Рис. 3.30 Спектр поглинання екстракту листя самосилу гірського

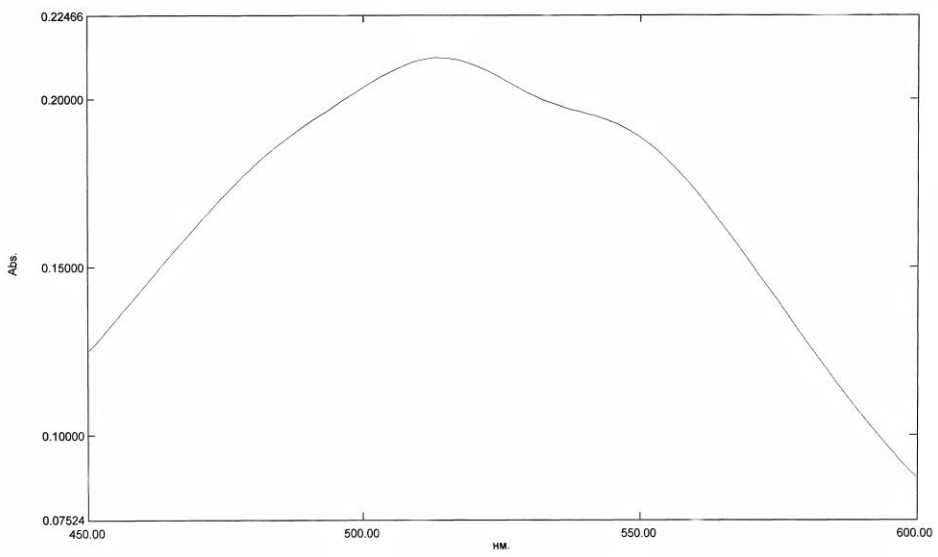


Рис. 3.31 Спектр поглинання екстракту коренів самосилу гірського

Результати кількісного визначення суми гідроксикоричних кислот наведені в табл. 3.8.

Таблиця 3.8

Вміст суми гідроксикоричних кислот
в сировині самосилу гайового та самосилу гірського

Сировина	Вміст БАР, % у перерахунку на абсолютно суху сировину, n = 5
Трава самосилу гайового	2,58 ± 0,10
Листя самосилу гайового	2,43 ± 0,09
Корені самосилу гайового	2,73 ± 0,21
Трава самосилу гірського	1,56 ± 0,08
Листя самосилу гірського	1,62 ± 0,11
Корені самосилу гірського	1,15 ± 0,08

Як видно з даних, наведених в табл. 3.8, найбільший вміст гідроксикоричних кислот характерний для коренів самосилу гайового, дещо менший вміст гідроксикоричних кислот визначено в траві самосилу гайового.

Найменший вміст гідроксикоричних кислот визначено в коренях самосилу гірського.

Визначення суми флавоноїдів: 1 мл досліджуваного розчину був доданий до мірної колби об'ємом 25 мл. До цього розчину додавали 5 мл 70 % етанолу, 5 мл 5 % розчину алюмінію хлориду у 70 % етанолі, та 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти у 70 % етанолі. Після цього розчин доводили до об'єму за допомогою 70 % етанолу і ретельно перемішували. За 30 хвилин визначали оптичну густину отриманого розчину при довжині хвилі 408 нм у кюветі з стінками 10 мм завтовшки. Для компенсації використовували розчин, який складався з 1 мл препарату, 5 мл 70 % етанолу і 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти у 70 % етанолі. Цей компенсаційний розчин також був доведений до позначки за допомогою 70 % етанолу.

Спектри поглинання розчину порівняння рутину та екстрактів трави, листя та коренів самосилу гайового та самосилу гірського наведені на рис. 3.32-3.38.

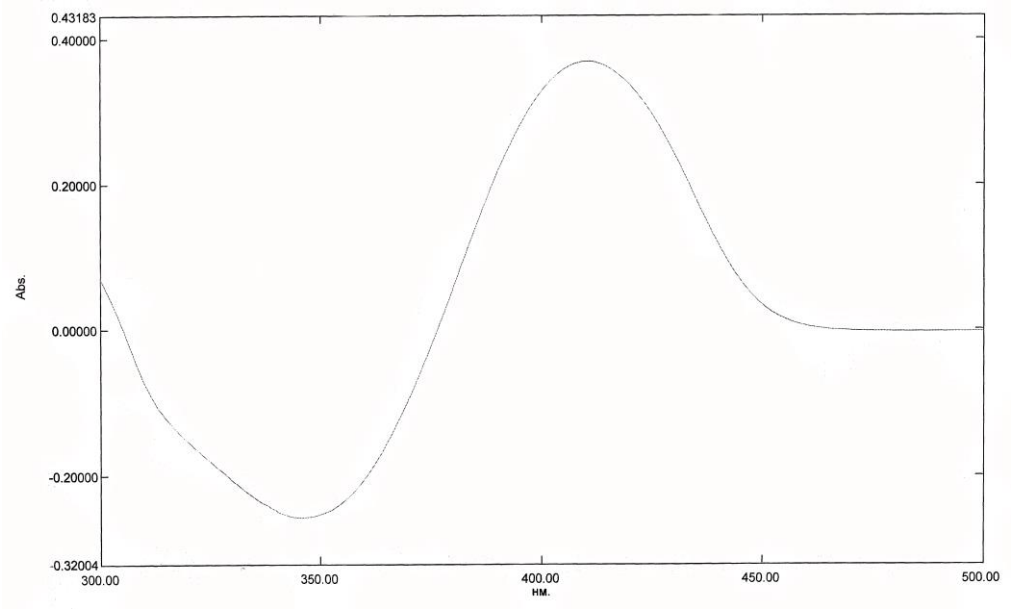


Рис. 3.33 Спектр поглинання розчину рутину

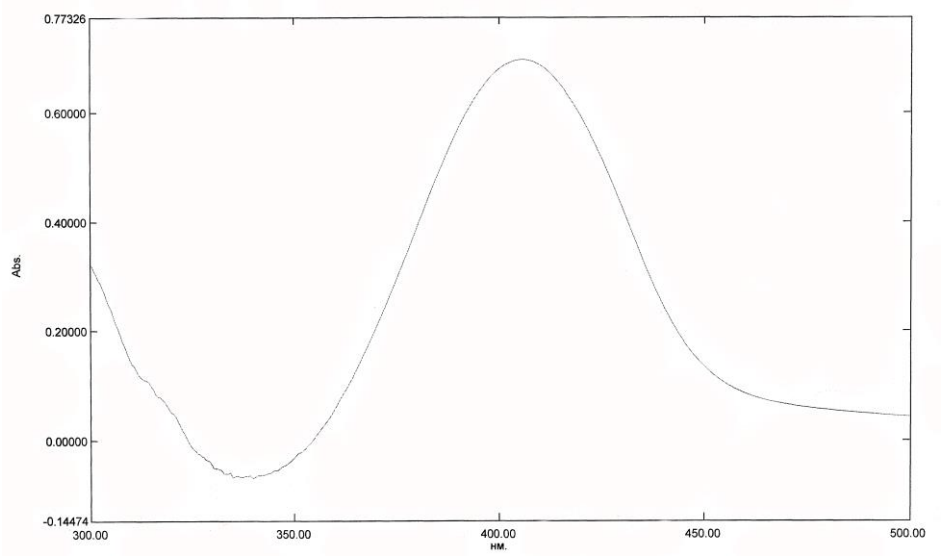


Рис. 3.33 Спектр поглинання екстракту трави самосилу гайового

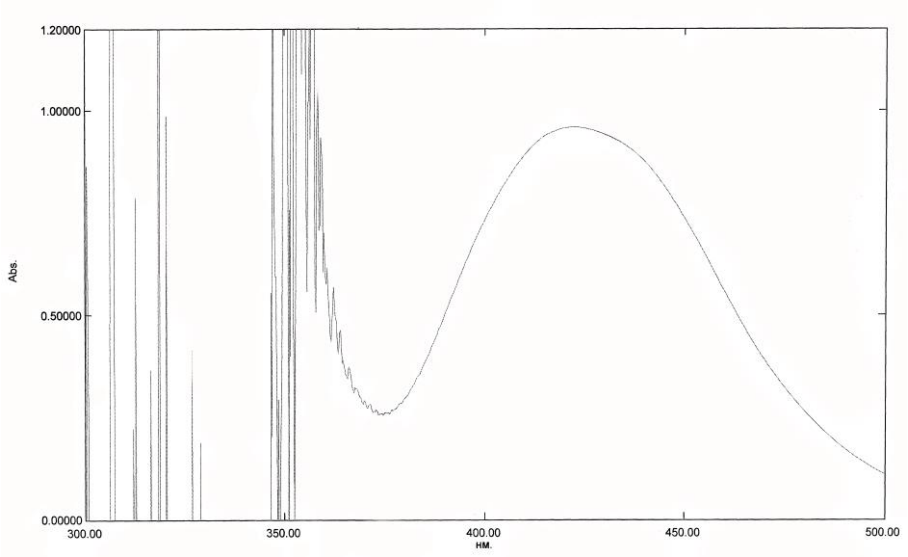


Рис. 3.34 Спектр поглинання екстракту листя самосилу гайового

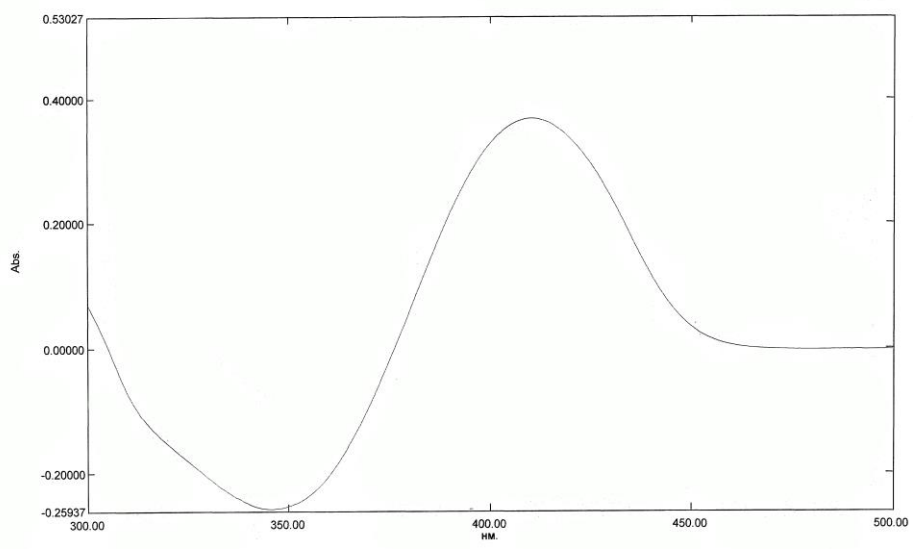


Рис. 3.35 Спектр поглинання екстракту коренів самосилу гайового

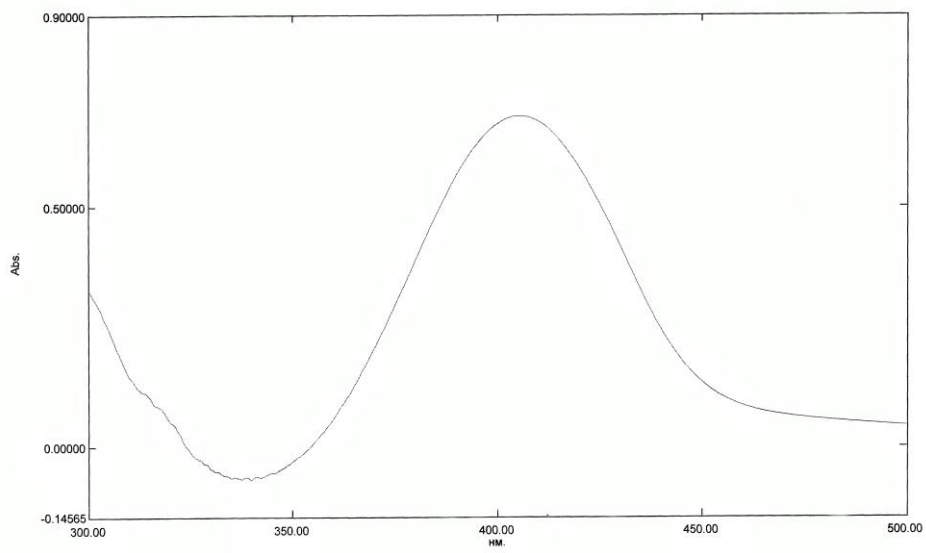


Рис. 3.36 Спектр поглинання екстракту трави самосилу гірського

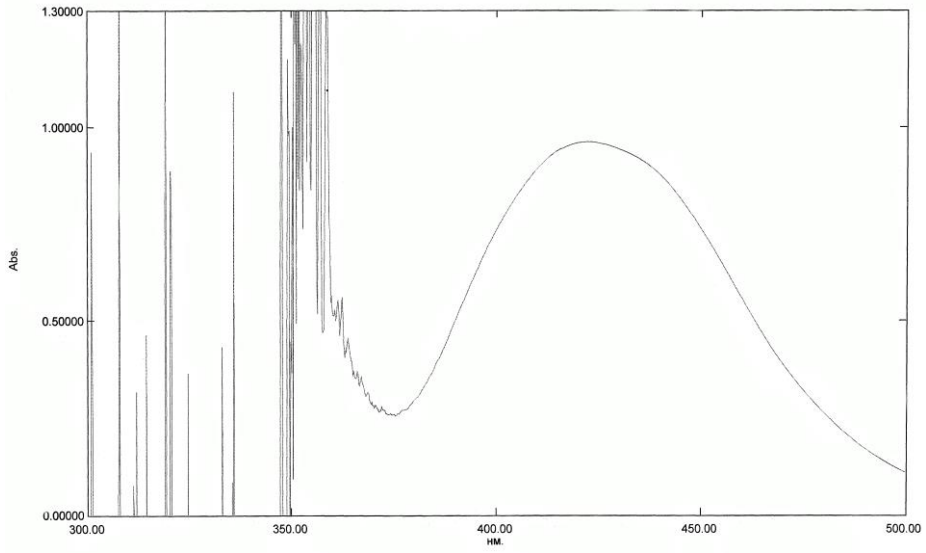


Рис. 3.37 Спектр поглинання екстракту листя самосилу гірського

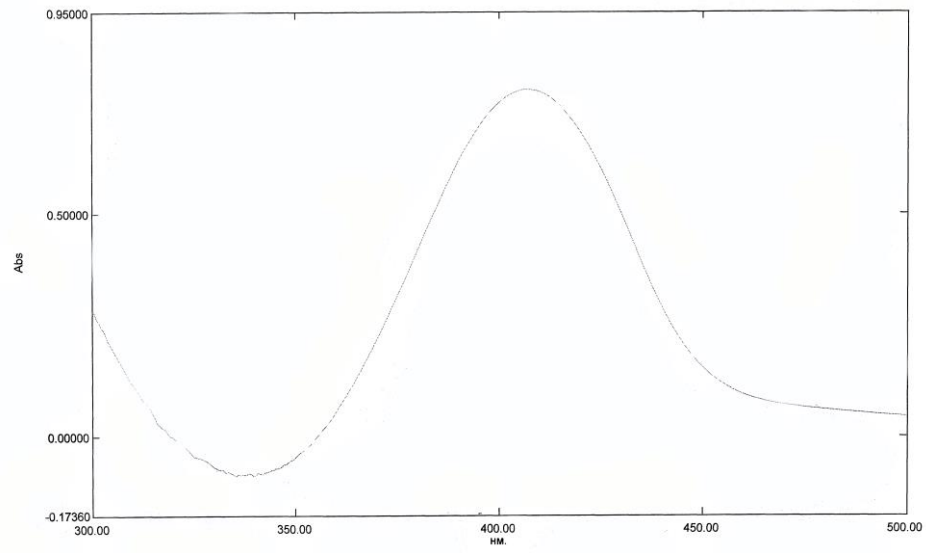


Рис. 3.38 Спектр поглинання екстракту коренів самосилу гірського

Результати кількісного визначення суми флавоноїдів наведені в табл. 3.9.

Таблиця 3.9

Вміст суми флавоноїдів
в сировині самосилу гайового та самосилу гірського

Сировина	Вміст БАР, % у перерахунку на абсолютно суху сировину, n = 5
Трава самосилу гайового	0,38 ± 0,07
Листя самосилу гайового	0,32 ± 0,12
Корені самосилу гайового	0,22 ± 0,11
Трава самосилу гірського	0,22 ± 0,06
Листя самосилу гірського	0,24 ± 0,05
Корені самосилу гірського	0,10 ± 0,05

Як видно з даних, наведених в табл. 3.9, найбільший вміст флавоноїдів характерний для трави самосилу гайового, дещо менший вміст флавоноїдів визначено в листі самосилу гайового.

Найменший вміст флавоноїдів визначено в коренях самосилу гірського.

На основі отриманих результатів вмісту гідроксикоричних кислот та флавоноїдів, що входять до складу трави самосилу гайового та самосилу гірського, можна припустити, що дана сировина володіє широким спектром потенційної біологічної активності. Зокрема, високий вміст хлорогенової кислоти може зумовлювати прояв антиоксидантної, протипухлинної, антибактеріальної та противірусної дії. Цикорієва кислота виявляє протизапальну, протимікробну та жовчогінні дію. Флавоноїд рутин в свою чергу має антиоксидантні, протизапальні, протипухлинниі властивості.

3.6 Встановлення жирнокислотного складу сировини видів роду Самосил

Згідно з даними літератури насичені та ненасичені жирні кислоти виявляють широкий спектр фармакологічної активності. Ненасичені кислоти є структурними елементами фосфоліпідів, клітинних мембран, також сполучної тканини та оболонок волокон нервової системи [3, 111, 158].

Приготування ліпофільних екстрактів проводили шляхом вичерпної екстракції сировини в апараті Сокслета. Отримані екстракти концентрували на ротаційному випаровувачі. Після цього проводили метилування зразків, застосовуючи хлористий ацетил за наявності метанолу. Суміш, що отримали, в подальшому екстрагували гексаном за температури 60-65°С. Отримані зразки використовували для подальшої роботи на хроматографі [159, 160].

Вивчення жирнокислотного складу сировини проводили з використанням методу ГРХ на газовому хроматографі Shimadzu GC-2014 обладнаному полум’яно-іонізаційним детектором в умовах ГРХ - 1 [106].

Умови хроматографування: капілярна хроматографічна колонка FFAP виробництва фірми “Hewlett Packard”, США, заповнена сорбентом поліетилингліколь 20 М; температура інжектора та детектора 220^0С; температура печі 65^0С (час витримки 2 хвилини), приріст температури 5^0С/хвилину до температури 220^0С (час витримки 10 хвилин); газ-носій – азот, швидкість газу-носія 2 мл/хв; розподіл потоку 1:10; об`єм інжектування 1 мкл.

Ідентифікацію метилових етерів здійснювали за часом утримання піків в порівнянні зі стандартною сумішшю. Вміст жирних кислот визначався у % від суми.

На рис. 3.39 – 3.41 наведені хроматограми стандартної суміші жирних кислот та досліджуваних екстрактів.

Результати проведених досліджень відображені в табл. 3.10.

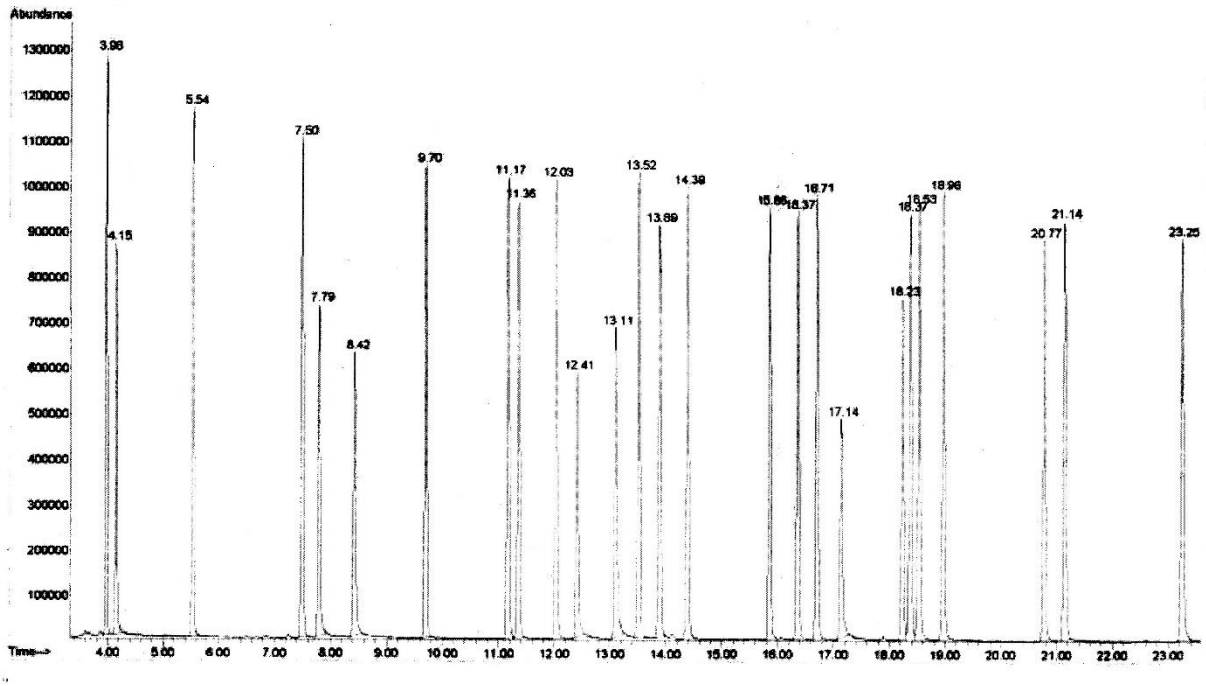


Рис. 3.39 Хроматограма стандартної суміші жирних кислот

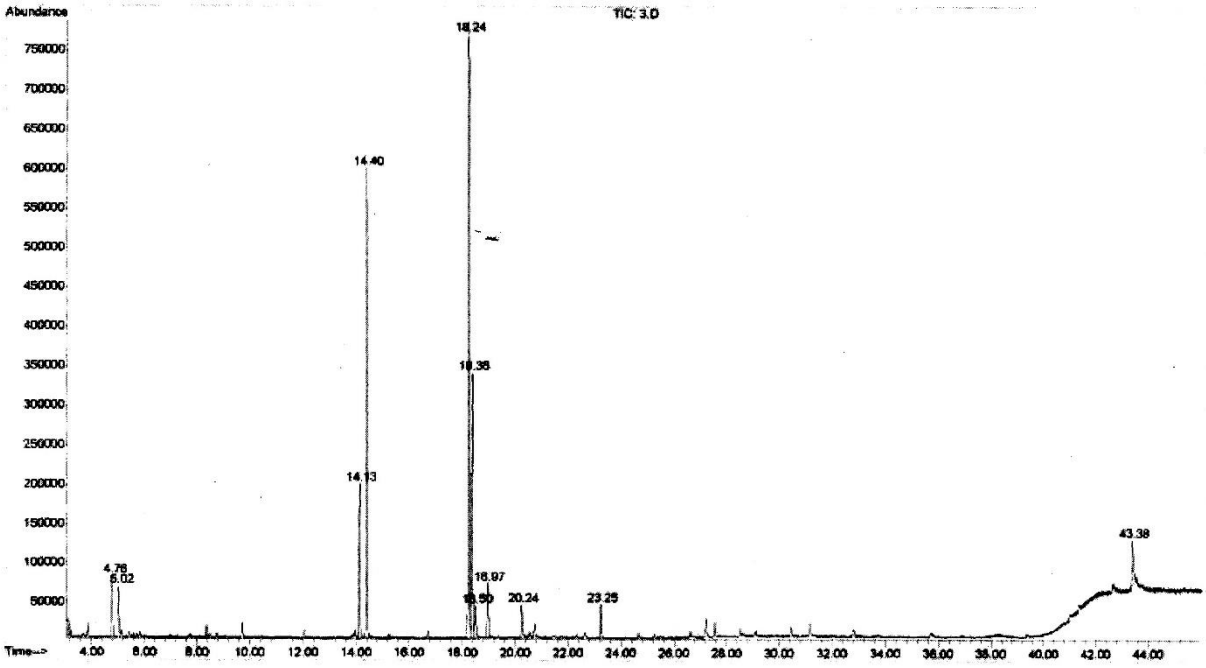


Рис. 3.40 Хроматограма екстракту трави самосилу гайового

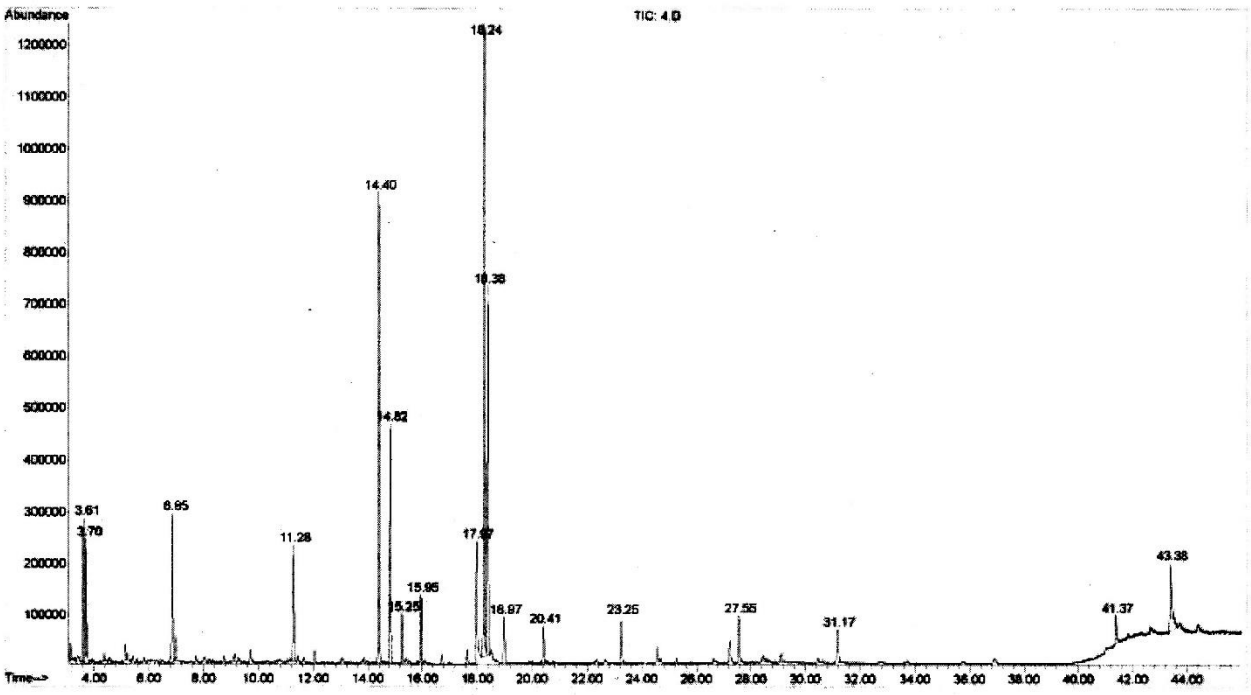


Рис. 3.41 Хроматограма екстракту трави самосилу гірського

Таблиця 3.10.

Вміст жирних кислот у ліпофільній фракції трави видів роду Самосил

№	Жирна кислота	Самосил гайовий	Самосил гірський
		Вміст у %, від загальної кількості жирних кислот, n = 5	Вміст у %, від загальної кількості жирних кислот, n = 5
1	2	3	4
1	Додеканова (лауринова) С12:0	0,77 ± 0,03	0,64 ± 0,05
2	Пентадеканова С15:0	3,16 ±0,14	0,32 ± 0,05
3	Тетрадеканова (міристинова) С14:0	19,05 ± 0,23	25,01 ± 0,27
4	Н-гексадеканова (пальмітинова) С16:0	15,18 ± 0,20	11,03 ± 0,18
5	Гептадеканова С17:0	-	4,08 ± 0,06
6	Октадеканова (стеаринова) С18:0	38,23 ± 0,38	32,15 ± 0,42

Продовж. табл. 3.10

1	2	3	4
7	Цис-9-октадеценова (олеїнова) С18:1ω9	14,10 ± 0,12	18,24 ± 0,15
8	Цис,-цис-9,12- октадекадієнова (лінолева) С18:2ω6	8,24 ± 0,11	4,98 ± 0,17
9	Ейкозанова (арахінова) С20:0	1,27 ± 0,16	3,55 ± 0,11

Відповідно до отриманих даних в ліпофільній фракції трави самосилу гайового ідентифіковано 8 жирних кислот, а в екстракті трави самосилу гірського відповідно 9.

В найбільшій кількості в обох представниках роду Самосил (*Teucrium chamaedrys* L. та *Teucrium montanum* L.) переважає вміст стеаринової кислоти (октадеканової) 38,23 % та 32,15 % відповідно [161].

В найменшій кількості в екстракті самосилу гайового визначено додеканову кислоту (0,77 % від загального вмісту жирних кислот), а в екстракті самосилу гірського – пентадеканову (0,32 %) [162].

Поліненасичені жирні кислоти мають важливу роль у зниженні рівня ліпопротеїдів низької густини та холестерину в крові. Це допомагає знизити ризик виникнення атеросклеротичних бляшок і гальмує розвиток атеросклерозу. Крім того, поліненасичені жирні кислоти мають значну фармакологічну цінність. Відомо, що жирні кислоти є структурними елементами ліпідів і клітинних стінок організму людини, відіграють важливу резервну, енергетичну та теплоізоляційну функції, а також є попередниками простагландинів, тромбоксанів та лейкотрієнів.

3.7 Визначення суми поліфенольних сполук в сировині

Досліджуючи БАР лікарської рослинної сировини, варто звернути увагу на групу поліфенольних сполук. Даний клас володіє здатністю до нейтралізації вільних радикалів, а також продуктів їх впливу на активні форми

оксигену. Варто відзначити можливості до виявлення антимутагенних, протипухлинних, антисклеротичних, противірусних активностей, а особливо протизапальної дії [148, 149].

З джерел літератури відомо, що поліфеноли підтримують стабільність кисневої забезпеченості тканин на необхідному рівні та попереджають негативний вплив факторів зовнішнього середовища.

Суттєве поширення поліфенольних сполук та можливості застосування лікарської рослинної сировини з їх вмістом у медичній практиці обумовлюють актуальність вивчення кількісного вмісту цього класу БАР [14, 156].

Кількісний вміст поліфенольних сполук у досліджуваній сировині було визначено за допомогою спектрофотометричного методу за методикою ДФУ у перерахунку на пірогалол [102].

Для проведення спектрофотометричного дослідження суми поліфенолів за ДФУ готували водний витяг з рослинної сировини за наступною методикою: 50 г висушеної сировини подрібнювали до порошкоподібного стану та вносили до конічної колби з шліфом та додавали 200 мл очищеної води; приєднували зворотні холодильники та гріли на водяні бані протягом 1 години і переносили розчин в колбу доводячи об’єм водою до 250 мл; отриманий розчин фільтрували крізь фільтрувальний папір (червона стрічка).

Для визначення вмісту поліфенольних сполук застосовували спектрофотометричний метод за такою методикою: 1,0 мл екстракту вносили у мірну колбу об'ємом 25 мл, після чого доводили об'єм розчину водою до позначки і добре перемішували. 2,0 мл отриманого розчину переносили у іншу мірну колбу об'ємом 25 мл. Додавали 1,0 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву та 10 мл очищеної води, після чого знову перемішували. Потім доводили об'єм розчину до позначки, додаючи розчин натрію карбонату, і знову перемішували. Отриманий розчин вважали випробуваним.

Після 30-хвилинної витримки вимірювали оптичну густину випробовуваного розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі 760 нм,

використовуючи кювету з товщиною шару 10 мм. Для компенсації фонового впливу використовували компенсаторний розчин, який складався з 12,0 мл очищеної води, 1,0 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву та розчину натрію карбонату, доведеного до позначки.

Паралельно проводили вимір оптичної густини розчину, що містив 2,0 мл розчину стандартного зразка пірогалолу, 1,0 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву, 10 мл очищеної води, і також доводили об'єм розчину до позначки розчином натрію карбонату і витримували протягом 30 хвилин. Цей стандартний розчин використовували для калібрування та визначення концентрації поліфенольних сполук у випробовуваних зразках.

На рис 3.42 представлений УФ-спектр пірогалолу та екстракту трави самосилу гайового.

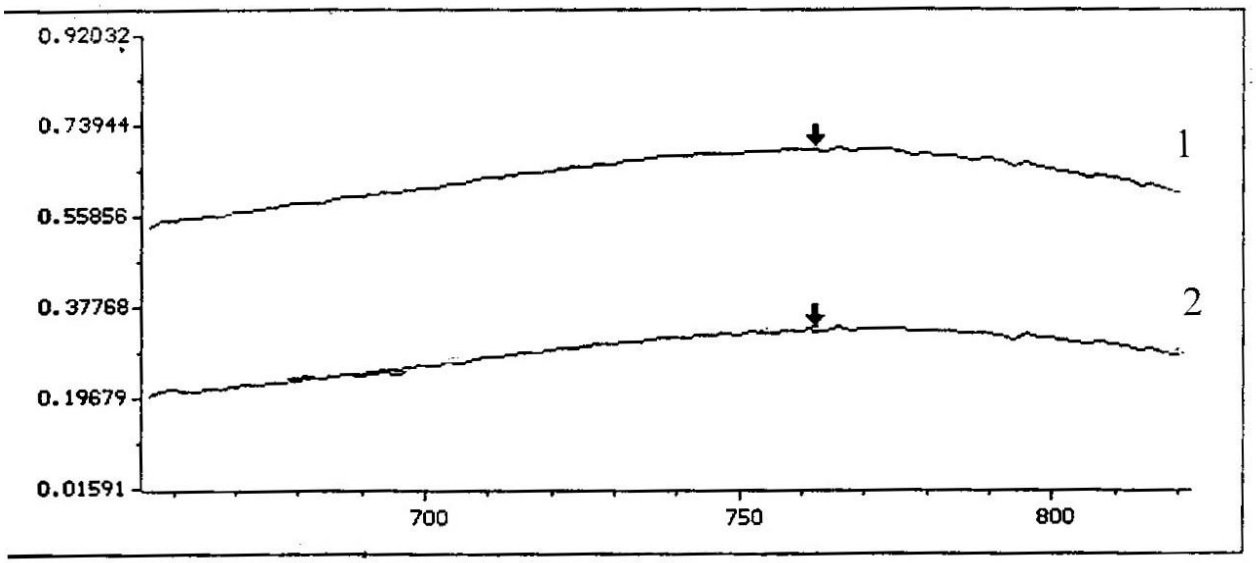


Рис. 3.42. Спектри поглинання розчину стандартного зразка пірогалолу (1) та екстракту трави самосилу гайового (2).

Згідно даних, представлених на рис. 3.13, максимуми поглинання розчину порівняння пірогалолу (1) та екстракту трави самосилу гайового (2) співпадають та мають довжину близько 760 нм.

Результати кількісного визначення поліфенолів наведені в табл. 3.11.

Як видно з даних, наведених в табл. 3.11, найбільший вміст поліфенольних сполук характерний для трави самосилу гайового, дещо менший вміст поліфенольних сполук визначено в коренях самосилу гайового.

Найменший вміст поліфенольних сполук визначено в листі та коренях самосилу гірського.

Таблиця 3.11

Вміст суми поліфенольних сполук
в сировині самосилу гайового та самосилу гірського

Сировина	Вміст БАР, % у перерахунку на абсолютно суху сировину, n = 5
Трава самосилу гайового	3,02 ± 0,11
Листя самосилу гайового	2,45 ± 0,12
Корені самосилу гайового	2,81 ± 0,13
Трава самосилу гірського	2,33 ± 0,11
Листя самосилу гірського	1,98 ± 0,09
Корені самосилу гірського	1,67 ± 0,10

Відомо, що більшість поліфенолів є потужними антиоксидантами. Вони допомагають боротися з пошкодженнями клітин від дії вільних радикалів. Поліфенолам також властива протизапальна дія, а також антисклеротична та спазмолітична активності.

3.8. Визначення вмісту полісахаридів

Вуглеводи відіграють ключову роль при формуванні питомої ваги рослинного організму [6].

Перевагою даної групи БАР є також широкий спектр біологічних функцій (енергетична, структурна, резервна, захисна та регуляторна). В

рослинах вуглеводи в найбільшій кількості визначаються наявністю полісахаридів [14, 110].

Полісахариди рослинного походження виявляють високу біологічну активність, потенціюють фармакологічну активність БАР, пролонгують дію та підвищують ефективність застосування лікарських засобів, мають протизапальну, муколітичну, імуномодулюючу, протипухлинну дію [163, 164, 165, 166, 167].

Виходячи з цього, важливим елементом фармакогностичного дослідження є вивчення кількісного вмісту полісахаридів у рослинній сировині.

Для виділення полісахаридів була використана методика Н.К. Кочеткова [168].

Проводили екстракцію досліджуваної подрібненої (2-3 мм) рослинної сировини 70 % спиртом етиловим. Фільтрували, використовуючи фільтрувальний папір (червона стрічка – 125 мм). Отриманий сухий залишок сушили на повітрі.

Для отримання фракції водорозчинних полісахаридів проводили екстракцію водою дистильованою при температурі 80°С.

Для виділення фракції пектинових речовин використовували суміш 0,5 % розчину оксалатної кислоти та 0,5 % розчину амонію оксалату у співвідношенні 1:1 та у співвідношенні 1:20 до сировини за температури 70-80°С. Екстракцію проводили тричі, після цього розчин концентрували та осаджували етиловим спиртом. Фільтрували через фільтрувальний папір та висушували [138].

Після цього для виділення геміцелюлози А та Б проводили екстракцію залишкової суміші 10 % розчином натрію гідроксиду. Осад, що утворився фільтрували, висушували та зважували.

Геміцелюлозу А виділяли додаванням льодяної оцтової кислоти. Отриманий осад фільтрували, висушували та зважували.

Для отримання осаду геміцелюлози Б додавали розчин етилового спирту 96 % у співвідношенні 1:2 (сировина : спирт етиловий). Отриманий осад повторно промивали, висушували та зважували [10, 164].

Вилучені фракції полісахаридних комплексів являли собою аморфні порошки, добре розчинні у воді, розчинах кислот та лугів та нерозчинні в органічних розчинниках.

При додаванні до розчинів отриманих комплексів реактиву Фелінга та їх подальшому нагріванні утворюються цегельно-червоні осади, що характерно для всіх видів сировини та підтверджує наявність вуглеводів у об'єктах дослідження.

Результат проведеного дослідження визначення вмісту полісахаридних фракцій відображено в табл. 3.12.

Таблиця 3.12

Кількісний вміст полісахаридних фракцій в сировині самосилу гайового та самосилу гірського

Полісахаридна фракція	Вміст полісахаридних фракцій у %, в перерахунку на абсолютно суху сировину, n = 5	
	Трава самосилу гайового	Трава самосилу гірського
ВРПС	3,12 ± 0,06	2,81 ± 0,05
ПР	1,22 ± 0,02	0,97 ± 0,02
ГЦ А	2,63 ± 0,05	2,36 ± 0,05
ГЦ Б	1,08 ± 0,02	0,92 ± 0,02

Згідно з отриманими даними, можна вважати, що вміст полісахаридних фракцій у траві самосилу гайового та самосилу гірського схожий. В найбільшій кількості виявлено ВРПС (3,12 % та 2,81 %), в найменшій кількості міститься ГЦ Б (1,08 % та 0,92 % відповідно) [169].

3.9 Дослідження вмісту хлорофілів, каротиноїдів та токоферолів

Дослідження вмісту ліпофільних речовин має велике значення, оскільки ці речовини відіграють ключову роль у багатьох біохімічних та фізіологічних процесах. Ліпофільні речовини, які розчиняються в жирах та органічних розчинниках з високим вмістом вуглецю, включають жири, олії, вітаміни, розчинні в жирах, стероїди та інші важливі класи сполук.

Екстрагування ліпофільних речовин із сировини самосилу гайового та самосилу гірського було проведено за допомогою апарата Сокслета [106, 160].

Сировину було ретельно подрібнено, щоб забезпечити максимальний контакт з екстрагентом. Підготовлену сировину вичерпно екстрагували хлороформом за допомогою апарата Сокслета.

Отримані хлороформні екстракти були сконцентровані до повного видалення екстрагенту за допомогою ротаційного випаровувача. Цей процес дозволяє видалити хлороформ, залишаючи за собою ліпофільні речовини у вигляді густої однорідної маси темно-зеленого кольору [7].

Отримані ліпофільні екстракти мали вигляд однорідної маси темно-зеленого кольору зі слабким приємним запахом, що свідчить про збереження фітоскладників сировини [160].

Дослідження вмісту хлорофілів. Хлорофіли - це зелені пігменти, які відіграють ключову роль у процесі фотосинтезу, де вони здатні захоплювати сонячне світло для синтезу органічних речовин. Ці пігменти є одними з найрозповсюдженіших.

Визначення вмісту проводили за допомогою метода спектрофотометрії.

Аналіз проводили за наступною методикою: 0,05 г екстракту було поміщено у мірну колбу на 50 мл та додано хлороформ до мітки. Оптичну густину отриманого розчину вимірювали на спектрофотометрі Shimadzu UV-1800, використовуючи кювети зі стінками по 10 мм за довжини хвилі 600 нм, яка відповідає максимуму на спектрі реактиву Гетрі. Для порівняння використовували хлороформ як референтний розчин.

Паралельно вимірювали показник для стандарту за тих же умов.

Обчислення отриманих результатів проводили наступним чином:

$$x = \frac{\mathrm{A}_1 \times \mathrm{B} \times V \times 100}{A_2 \times a}$$

де A_1 – оптична густина досліджуваного екстракту;

A_2 - оптична густина стандартного розчину Гетрі;

B – кількість хлорофілу, г у 1 мл, відносно до забарвлення 1 мл стандартного розчину Гетрі;

V - об`єм розчину, мл;

a – маса наважки екстракту, г;

Стандартний розчин Гетрі має наступний склад: 50 мл розчину калію біхромату 4 %, 28,5 мл розчину сульфату міді 1 %, 10 мл розчину гідроксиду амонію 10 %. Розчин доводили до мітки 100 мл водою дистильованою.

1 мл даного розчину має таке саме забарвлення, як і 0,000085 г розчину хлорофілу.

Дослідження вмісту каротиноїдів. Каротиноїди - це пігменти, які надають рослинам жовтого, червоного та оранжевого кольору. Вони також є антиоксидантами і відіграють роль у фотосинтезі. Деякі каротиноїди, такі як бета-каротин, можуть перетворюватися в організмі людини на вітамін А, що важливо для здоров'я зору та імунної системи. Каротиноїди додають також смак та аромат.

Визначення вмісту проводили за допомогою методу спектрофотометрії у перерахунку на β-каротин [170].

Аналіз проводили за наступною методикою: 0,05 г екстракту було поміщено у мірну колбу на 50 мл та додано хлороформ до мітки. Оптичну густину отриманого розчину вимірювали на спектрофотометрі Shimadzu UV-1800 використовуючи кювети зі стінками по 10 мм за довжини хвилі 450 нм. Для порівняння використовували хлороформ як референтний розчин.

Паралельно вимірювали оптичну густину стандартного зразка калію біхромату. У якості розчину порівняння використовували воду дистильовану.

Обчислення отриманих результатів проводили наступним чином:

$$C = \frac{A_1 \times 0.00208 \times V \times 100}{A_0 \times a}$$

де A_1 – оптична густина розчину ліпофільного екстракту;

V - об`єм розчину, мл;

A_0 – оптична густина розчину стандартного зразка;

а – точна наважка ліпофільної фракції, мг;

0,00208 – концентрація β-каротину (мг/мл) у розчині.

Дослідження вмісту токоферолів. Токофероли, також відомі як вітаміни групи Е, є ліпофільними антиоксидантами, які допомагають захищати клітини від ушкоджень від вільних радикалів. Токофероли важливі для здоров'я шкіри та імунної системи.

Визначення вмісту проводили за допомогою хроматоспектрофотометрії.

Аналіз проводили за наступною методикою: для виділення токоферолів з екстракту використовували метод Еммері-Енгеля, який базується на окисненні токоферолів хлорним залізом і визначенні утворених іонів заліза, які утворюють комплекс забарвлених сполук з дипіридилом. Цей комплекс має пікове поглинання при довжині хвилі 520 нм [171]. Важливо зауважити, що реакція з хлоридом заліза (III) не є специфічною для токоферолів, тому перед проведенням цього аналізу необхідно обов'язково очистити і видалити речовини, які можуть перешкоджати точному визначенню токоферолів. Цими речовинами можуть бути каротиноїди, для вилучення яких використовували тонкошарову хроматографію (в якості адсорбенту - силікагель з додаванням гіпсу, рухома фаза – хлороформ [169]. Токофероли проявляються у вигляді плям рожевого кольору.

Дослідження вмісту токоферолів проводили спектрофотометричним методом. Оптичну густину забарвленого розчину вимірювали за довжини хвилі 520 нм. Вміст ізомерів токоферолу розраховували з використанням градуювальних кривих, конвертуючи результати в облікову одиницю токоферолу.

Кількісний вміст хлорофілів, каротиноїдів та токоферолів у ліпофільних екстрактах з трави самосилу гайового та самосилу гірського наведені у табл. 3.13.

За отриманими результатами видно, що вміст токоферолів у два рази вищий у траві самосилу гайового, ніж у траві самосилу гірського. Вміст хлорофілів у траві обох видів практично однаковий. Проте вміст каротиноїдів у траві самосилу гірського вищий, ніж у траві самосилу гайового.

Таблиця 3.13

Вміст хлорофілів, каротиноїдів та токоферолів в ліпофільних екстрактах

Сировина	Токофероли, мг/г	Хлорофіли, мг/г	Каротиноїди, мг/г
Трава самосилу гайового	0,456± 0,09	30,14± 1,2	1,47± 0,16
Трава самосилу гірського	0.221 ± 0,04	27,51± 0,7	2,15± 0,13

Хлорофіли насамперед відомі своїми протимікробними властивостями, покращують якість шкіри та нормалізують pH-баланс, стимулють синтез колагену. Також зміцнюють м'язову тканину та сухожилля, а також впливають на стан хрящової тканини суглобів.

Каротиноїди мають антиоксидантні властивості, знижують вираженість нейродегенеративних розладів, хвороб Альцгеймера та Паркінсона, є метаболічними попередниками вітаміну А.

Токофероли необхідні організму для зміцнення стінок капілярів, для захисту клітин крові (лімфоцитів, червоних та білих кров'яних тілець), що сприяє покращенню постачання організму киснем та загальної захисної функції, для згортання крові, роботи міокарда, нервової тканини та імунітету

Висновки до розділу 3

1. Проведено вивчення якісного складу сировини самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys* L.) та самосилу гірського (*Teucrium montanum* L.). Встановлено наявність таких компонентів, як полісахариди, органічні та гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, тритерпеноїди, амінокислоти, вуглеводні, дубильні речовини, феноли, токофероли, хлорофіли, каротиноїди.

2. За допомогою рентген флуоресцентного методу аналізу досліджено якісний склад та кількісний вміст макро- та мікроелементів у коренях, квітках, суцвіттях, листках, стеблах і траві самосилу гайового та самосилу гірського. Ідентифіковано та визначено вміст 13 мікро- та макроелементів. В самосилі гайовому найбільший вміст мікро- та макроелементів встановлено в листках, а найменший – в коренях. Щодо самосилу гірського, то найбільший вміст мікро- та макроелементів встановлено в траві рослини, найменший – у суцвіттях. В найбільшій кількості в органах обох видів містились чотири елементи – калій, кальцій, сульфур та хлор. Калій має найбільшу концентрацію майже в усій сировині самосилу гайового (листя – 5169,55мг/100 г; суцвіття – 4580,81мг/100 г; стебло – 4576,73 мг/100 г; трава – 3544,36 мг/100 г; корені – 2207,42 мг/100 г). Для сировини самосилу гірського найбільш поширеним макроелементом є сірка, вміст якої в траві, коренях та стеблах становить 4312,70 мг/100 г, 3246,02 мг/100 г та 3461,13 мг/100 г відповідно. Досить у великій кількості також виявлено кальцій, концентрація в листях самосилу гайового становить 5274,91 мг/100 г, а в листях самосилу гірського – 3850,46 мг/100 г.

3. Для підтвердження якісного та визначення кількісного складу суми вільних і зв’язаних амінокислот використовували методику, запропоновану Штейном і Муром у сучасній модифікації, з застосуванням автоматичного аналізатора амінокислот. Отримані дані свідчать про наявність 18 амінокислот, з яких 7 є незамінними. Найбільшу кількість амінокислот містить трава *Teucrium chamaedrys* L. – 7,161 мг/100 мг. Вміст амінокислот у коренях

самосилу гайового та траві самосилу гірського практично однаковий 3,853 мг/100 мг та 3,703 мг/100мг відповідно. Найменша кількість амінокислот міститься у коренях самосилу гірського – 2,391 мг/100мг. В найбільшій кількості у траві і коренях *Teucrium montanum* L. та коренях *Teucrium chamaedrys* L. виявлено аспарагінову кислоту – 0,528 мг/100 мг, 0,336 мг/100 мг та 0,849 мг/100 мг відповідно, тоді як у траві *Teucrium chamaedrys* L. домінуючим компонентом є глутамінова кислота.

4. Визначення вмісту летких сполук проведено методом газової хроматографії з масс-детекцією.

В екстракті трави самосилу гайового було виявлено та ідентифіковано 42 леткі компоненти. Найбільшу концентрацію серед летких сполук трави самосилу гайового має сесквітерпен хамазулен, вміст якого складає 53,20 мг/кг сировини, або 17,38 % вмісту всіх ідентифікованих летких сполук об'єкту дослідження. Дещо менший вміст має летка сполука віридифлорол, вміст якого складає 32,80 мг/кг сировини (10,72 % від усіх ідентифікованих летких сполук трави самосилу гайового). До мажоритарних речовин леткої фракції трави самосилу гайового відносяться наступні леткі сполуки: β-каріофіллен, сабінілацетат та гермакрен D, вміст яких складає 25,60 мг/кг, 24,40 мг/кг та 17,20 мг/кг сировини відповідно, або 8,36 %, 7,97 % та 5,62 %, від всіх ідентифікованих летких сполук самосилу гайового.

В екстракті трави самосилу гірського було виявлено та ідентифіковано 44 леткі компоненти. Найбільшу концентрацію серед летких сполук трави самосилу гірського має каріофіленоксид, вміст якого складає 39,10 мг/кг сировини, або 14,09 % вмісту всіх ідентифікованих летких сполук об'єкту дослідження. До мажоритарних речовин леткої фракції трави самосилу гірського відносяться наступні леткі сполуки: гермакрен D, евгенол, вербенол та 1-октен-3-ол, вміст яких складає 22,80 мг/кг, 20,80 мг/кг, 18,20 мг/кг та 18,10 мг/кг сировини відповідно, або 8,22 %, 7,50 %, 6,56 % та 6,52 % відповідно від суми ідентифікованих сполук самосилу гірського.

5. Дослідження вмісту гідроксикоричних кислот та флавоноїдів проводили методом високоефективної рідинної хроматографії. Виявлено що, у сировині самосилу гайового переважає цикорієва кислота, її вміст у листі, траві та коренях становить відповідно 2,9257±0,050 %, 1,6057±0,048 % та 5,6548±0,167 %. Для сировини самосилу гірського є характерним високий вміст хлорогенової кислоти (в листі - 1,9429±0,058 %, в траві - 0,6026±0,017 % та 0,4782±0,014 % в коренях). Серед флавоноїдів в найбільшій кількості у сировині самосилу гайового виявлено рутин, вміст якого у листі, траві та коренях дорівнює 0,4237±0,012 %, 0,4069±0,012 % та 0,0302±0,001 % відповідно. У сировині самосилу гірського вміст рутину також є найбільшим і становить 0,2667±0,007 % у листі та 0,0766±0,002 % у коренях рослини.

6. Вивчення жирнокислотного складу сировини проводили з використанням методу газової з масс-детекцією. В ліпофільній фракції самосилу гайового ідентифіковано 8 жирних кислот, а в екстракті самосилу гірського відповідно 9. В найбільшій кількості в обох представниках, а саме самосилі гайовому та самосилі гірському переважає вміст стеаринової кислоти, що складає 38,23 % та 32,15 % відповідно.

7. Дослідження кількісного вмісту полісахаридних фракцій в сировині самосилу гайового та самосилу гірського показало, що вміст полісахаридних фракцій у сировині самосилу гайового та самосилу гірського схожий. В найбільшій кількості виявлено ВРПС (3,12 % для самосилу гайового та 2,81 % для самосилу гірського). Вміст ПР становить 1,2 % і 0,97 % відповідно. Вміст ГЦ А визначено як 2,63 % для самосилу гайового та 2,36 % самосилу гірського. В найменшій кількості міститься ГЦ Б (1,08 % та 0,92 % відповідно).

8. За допомогою спектрофотометричного методу проведено дослідження вмісту ліпофільних речовин, а саме токоферолів, хлорофілів та каротиноїдів. Вміст токоферолів у два рази вищий у траві самосилу гайового, ніж у траві самосилу гірського. Вміст хлорофілів у траві обох видів практично однаковий. Проте вміст каротиноїдів у траві самосилу гірського вищий, ніж у траві самосилу гайового.

9. Хімічними та фізико-хімічними методами у сировині досліджуваних об’єктів визначено 117 компонентів, а саме: 3 гідроксикоричні кислоти, 3 флавоноїди, 18 амінокислот, 9 жирних кислот, 3 цукри, 21 монотерпен та монотерпеноїд, 23 сесквітерпени, 1 тритерпен, 1 токоферол, 3 стерини, 2 хлорофіли, 4 фенілпропаноїди, 7 вуглеводнів, 5 спиртів, 10 альдегідів та 4 кетони.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Амінокислотний склад трави та коренів деяких перспективних рослин роду *Teucrium L.* флори України. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2022. Том 15. Випуск 6. С. 414–419. https://doi.org/10.33250/15.06.414 (*Особистий внесок* – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)
2. Anzina K. M., Gudzenko A. V. Component composition of essential oils of grass *Teucrium chamaedrys L.* using gas chromatography method with mass detection. *Farmatsevtychnyi Zhurnal*. 2022. Вип. 3. P. 77-81. https://doi.org/10.32352/0367-3057.3.22.09 (*Особистий внесок* – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)
3. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Вивчення вмісту полісахаридів у траві самосилу гайового та самосилу гірського. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2022. Том 16. Випуск 2. С. 131-135. https://doi.org/10.33250/16.02.131 (*Особистий внесок* – брала участь у плануванні та проведені експерименту, в обговоренні, обробці результатів дослідження та підготовці статті)
4. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Дослідження мікро- та макроелементного складу двох видів роду Самосил (*Teucrium* L.). *Фармацевтичний часопис*. 2022. Вип. 1. С. 20–24. https://doi.org/10.11603/2312-0967.2022.1.13053 (*Особистий внесок* – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)

5. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Вивчення вмісту амінокислот деяких вегетативних органів Teucrium chamaedrys L. *«Globalization of scientific knowledge: international cooperation and integration of sciences»*: матеріали III міжнародної науково-практичної конференції, 17 червня 2022, Вінниця, Україна - Відень, Австрія. Grail of Science. Випуск 16. С. 580-581. https://doi.org/grail-of-science.17.06.2022.100

6. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Визначення концентрації амінокислот в траві та коренях Teucrium montanum L.. *«Débats scientifiques et orientations prospectives du développement scientifique»:* матеріали III міжнародної науково-практичної конференції, 8 липня 2022, Париж, Франція. Collection of scientific papers «ΛΌГОΣ». С. 360-361. https://doi.org/logos-08.07.2022.106

7. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Дослідження кількісного вмісту мікро- та макроелементів *Teucrium chamaedrys* L. *«Grundlagen der modernen wissenschaftlichen forschung»*: матеріали II міжнародної науково-практичної конференції. 12 серпня 2022, Цюріх, Швейцарія. Collection of scientific papers «ΛΌГОΣ». С. 187-188. https://doi.org/logos-12.08.2022.59

8. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Порівняння кількісного вмісту мікро- та макроелементів у вегетативних органах *Teucrium montanum* L. *«Formation of innovative potential of world science»*: матеріали III міжнародної науково-теоретичної конференції, 19 серпня 2022, Тель-Авів, Ізраїль. Collection of scientific papers «SCIENTIA». 2022. С. 229-230. https://doi.org/10.36074/scientia-19.08.2022

9. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Аналіз жирнокислотного складу самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys* L.). *«Інноваційні тенденції сьогодення в сфері природничих, гуманітарних та точних наук»*: матеріали III міжнародної наукової конференції, 29 вересня 2023, м. Рівне, Україна. Міжнародний центр наукових досліджень. Вінниця: Європейська наукова платформа, 2023.С. 177-179 https://doi.org/10.36074/mcnd-29.09.2023

10. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Визначення жирнокислотного складу самосилу гірського (*Teucrium montanum* L.). *«Ricerche scientifiche e metodi della*

loro realizzazione: esperienza mondiale e realtà domestiche»: матеріали IV міжнародної науково-практичної конференції, 29 вересня 2023, Болонья, Італія. Collection of scientific papers «ΛΌГОΣ». 2023. С. 257-258. https://doi.org/10.36074/logos-29.09.2023

РОЗДІЛ 4.
СТАНДАРТИЗАЦІЯ СИРОВИНИ ВИДІВ РОДУ САМОСИЛ

4.1 Анатомо-морфологічне вивчення видів роду Самосил

Для визначення зовнішніх ознак рослинної сировини використовували візуальний огляд, який здійснювався без використання спеціальних інструментів. Додатково використовували лупу за необхідності.

Вимірювання розмірів проводили за допомогою лінійки. Запах сировини визначали при розтиранні, колір – при денному світлі, смак – у відварі. Отримана сукупність морфологічних ознак дозволила описати основні ознаки сировини.

Для підготовки мікропрепаратів та проведення вивчення морфологічних ознак було використано стандартні методики та термінологія.

Для вивчення структури та опису морфологічних ознак використовувався мікроскоп Stemmi-2000 з можливістю збільшення в межах 6-50 разів. З метою реєстрації та збереження отриманих результатів використовували фотокамеру Canon Power Shot A-640 для зйомки.

Самосил гайовий (Teucrium chamaedrys L.*)* є багаторічною трав'янистою рослиною. Самосил гайовий зазвичай має пагони довжиною 15-40 см, що мають не дуже густе опушення (рис.4.1).

Стебла з дерев'янистою основою, які ростуть горизонтально та зазвичай вкриті шаром м’яких волосків.

Листки супротивні, нижні зазвичай обернено яйцеподібні, верхні більш видовжені, при основі пластинки клиноподібні та звужені у короткий черешок. Краї листкової пластинки нерівномірно надрізано-зубчасті, ледь завернуті на абаксіальний бік. Листки зазвичай темно-зеленого кольору та мають довжину 2-4 см.



Рис. 4.1 Пагін самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys* L.)

Адаксіальна сторона листків зелена, абаксіальна - сизувато-зелена. З обох боків листки помірно опушені криючими та залозистими трихомами (рис.4.2). Криючі трихоми представлені округлими однорядними простими прозорими волосками з потовщеними стінками, що вкриті бугристою кутикулою. В основі криючих волосків розміщена виступаюча над поверхнею 5-7-8 клітинна розетка. Характер розташування волосків нерівномірний.



Рис. 4.2 Опушення адаксіальної поверхні листка самосилу гайового

На адаксіальній поверхні найщільніше волоски розміщені у дистальній частині листкової пластинки; спрямованість волосків переважно акроскопна.

На абаксіальній стороні криючі волоски сконцентровані переважно вздовж центральної та бічних жилок, їх орієнтація частіше базископна або перпендикулярна поверхні жилок (рис. 4.3).

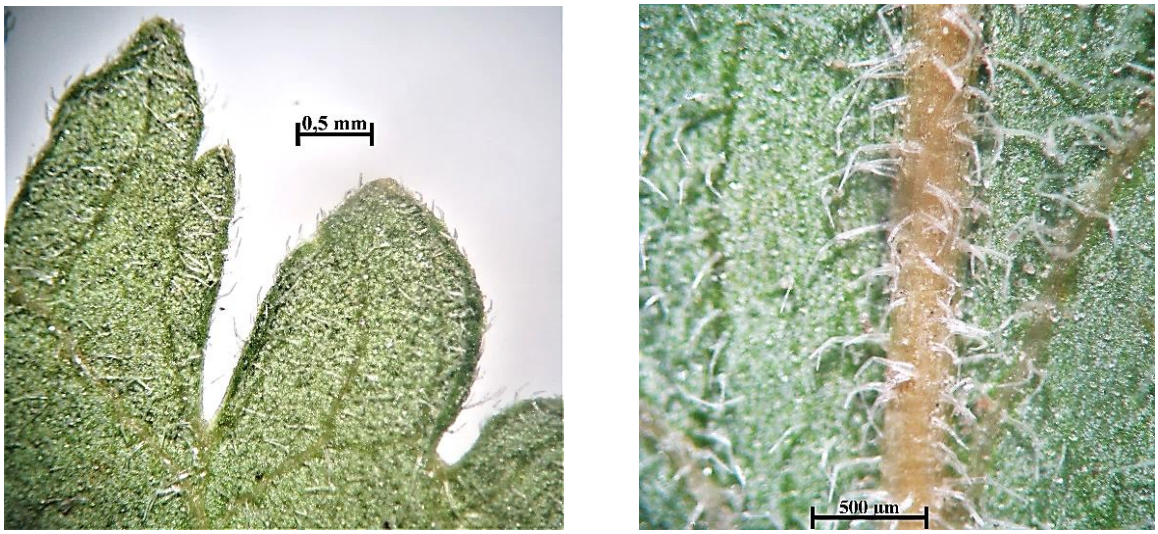


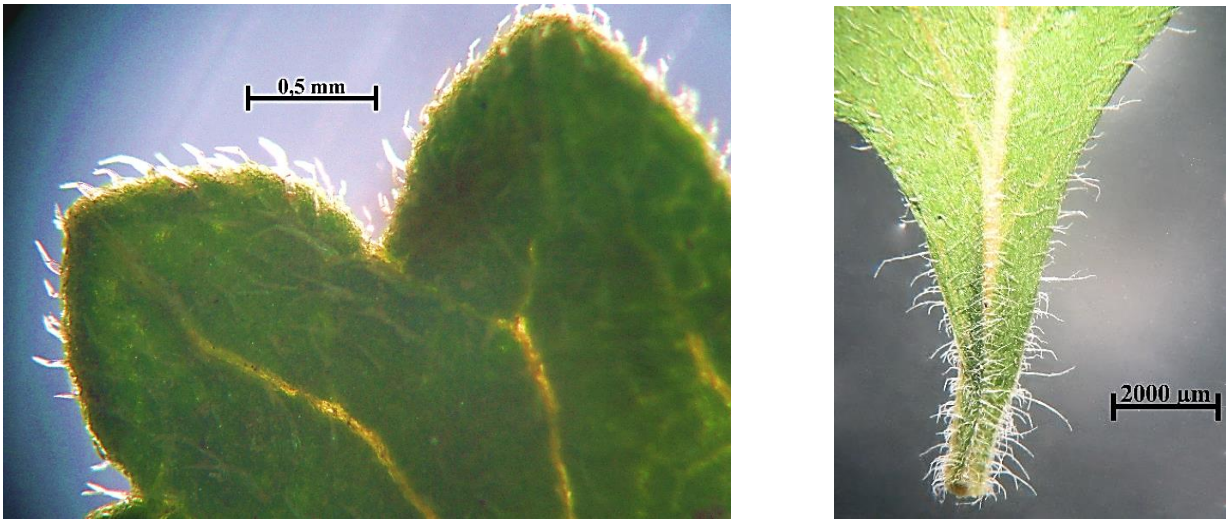
Рис. 4.3 Опушення абаксіальної поверхні листка самосилу гайового

Зустрічаються волоски 3-4 клітинні, завдовжки 300-600 мкм та 7-8 клітинні, завдовжки понад 1000 мкм. Базальні клітини криючих волосків короткі, конічно урізані, 25-45 мкм у діаметрі, інші – прозенхімні. Термінальні клітини шилоподібно загострені, часто схилені набік. Волоски, що розміщені по краю листкової пластинки, дещо коротші, 250-300 мкм, окрім базальної частини, з гачкоподібною термінальною клітиною (рис. 4.4).

Криючі волоски черешка та основи листкової пластинки базископні або перпендикулярні центральній осі, різної довжини (рис. 4.4).

Залозисті трихоми різні за будовою, розміщені нерівномірно по поверхні листкової пластинки: місцями поодиноко, місцями згруповані. Невелика кількість трихом представлена короткими (до 20 мкм завдовжки) залозками з маленькою округлою головкою на 2-3 клітинній ніжці. Значно густіше розташовані округлі білуваті залозки на короткій ніжці з двоклітинною головкою. З обох сторін розташовані також пельтатні ефіроолійні залозки з

округлою 4-клітинною головкою, що оточені розеткою з кількох квадратичних клітин.



I II

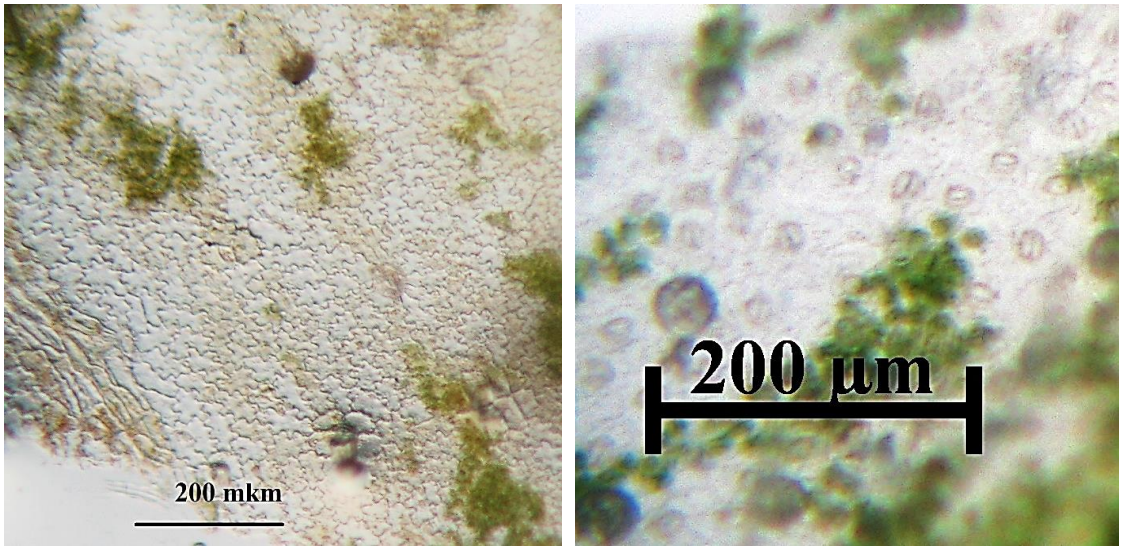
Рис. 4.4 Опушення краю поверхні листка (I) та черешка (II) самосилу гайового

Клітини епідерми листкової пластинки вкриті злегка зморшкуватою кутикулою. Основні епідермальні клітини абаксіальної сторони тонкостінні, неправильної (амебоподібної) форми зі звивистими обрисами, в проекції розпростерті, суміжні кути закруглені (рис. 4.5).

Антиклінальні стінки хвилясті, частота та амплітуда хвиль непостійні. Розміри епідермальних клітин коливаються від 40-50 мкм завдовжки до 20-25 мкм завширшки, щільність розміщення 350-500 шт. на 1 кв.мм.

Клітини епідерми адаксіальної сторони листкової пластинки багатокутні, полігональні, рідше ізодіаметричні з більш-менш хвилястими чи зигзагуватими антиклінальними стінками. За розміром вони дрібніші, ніж епідермальні клітини адаксіальної сторони, 18-25мкм х 10-15 мкм, щільність розміщення 800-1200 шт. на 1 мм кВ. Проекція площини епідермальних клітин розпростерта, багатокутна, кути у суміжних кордонах загострені, рідко тупі, закруглені. Пельтатні ефіроолійні залозки розміщені значно густіше, ніж з адаксіальної сторони, округлі, діаметром 35-40 мкм. Їх оточує розетка з 8,

рідше 9-10 радіально розташованих клітин з майже прямими антиклінальними стінками, які крупніші за основні епідермальні клітини.



I II

Рис.4.5 Клітини епідерми адаксіальної (I) та абаксіальної (II) поверхні листкової пластинки самосилу гайового

Центральна та бічні жилки з адаксіального боку плоскуваті, ледь вдавлені; з абаксіального боку округлі, виступають над поверхнею листкової пластинки. Вздовж жилок клітини епідерми видовжені, 50-80 мкм завдовжки, 10-20 мкм завширшки, прозенхімні, зі злегка хвилястими, дугоподібними чи майже прямими антиклінальними стінками, в проекції багатокутні, з загостреними чи прямими суміжними кутами.

Листки гіпостоматичні, продихи розташовані лише на адаксіальній поверхні. Продихи округлі, ледь занурені у паренхіму листкової пластинки, 14-16 х 12-14 мкм, щільність розміщення від 125 до 150 шт. на 1кВ. мм. Продиховий апарат діацитного та аномоцитного типу.

На поперечному зрізі лист має дорзовентральну будову, помітно виділяється центральна жилка. Під нею розташовується 4-5 шарів клітин пластинчастої коленхіми. Провідний пучок оточений клітинами основної паренхіми та ділянками механічної тканини. Розрізняються шари стовпчастої та губчастої паренхіми у мезофілі.

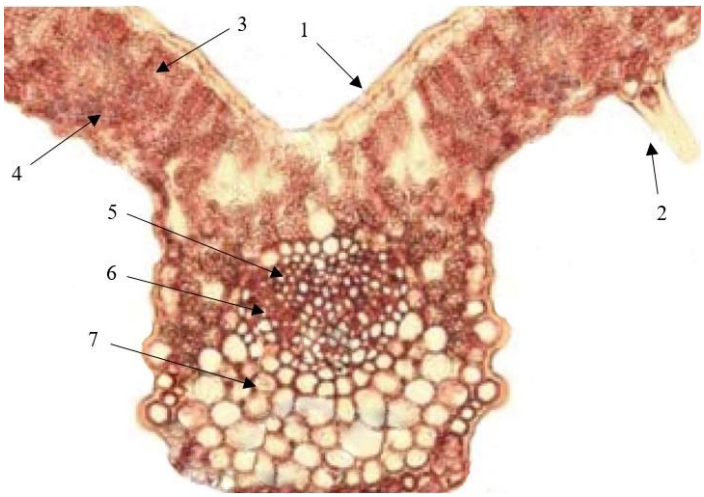


Рис. 4.6 Поперечний зріз листкової пластини самосилу гайового: 1 – епідерма, 2 – трихоми, 3 – стовпчаста паренхіма, 4 – губчаста паренхіма, 5 – ксилема, 6 – флоема, 7 – коленхіма

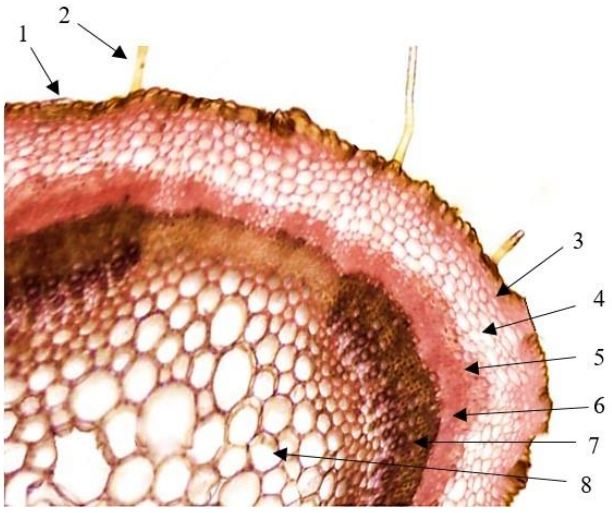
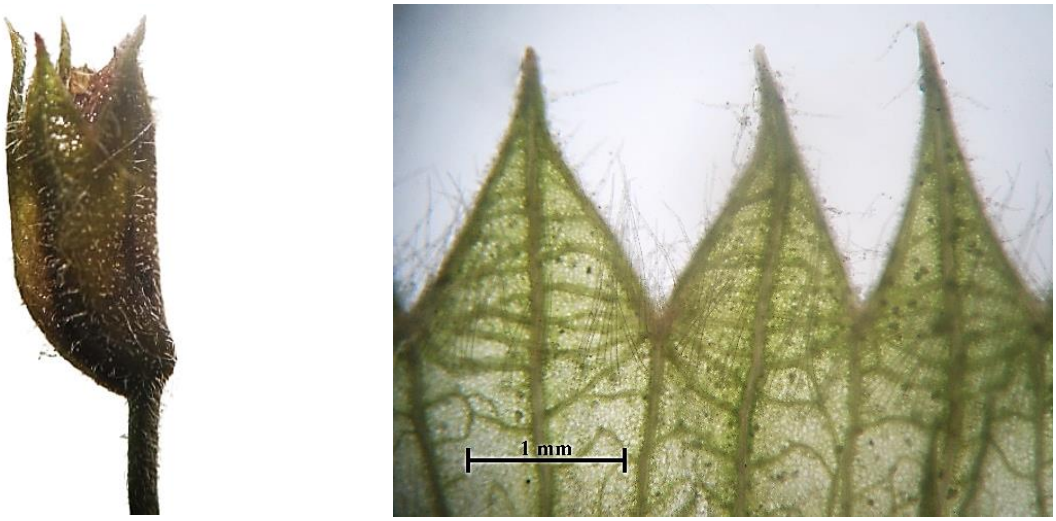


Рис. 4.7 Поперечний зріз стебла самосилу гайового: 1 – епідерма, 2 – трихоми, 3 – коленхіма, 4 – паренхіма, 5 – склеренхіма, 6 – флоема, 7 – ксилема, 8 – серцевинна паренхіма

Епідерміс стебла має гетеродиаметричні клітини. У внутрішній частині паренхіматичної зони є один шар ентодерми, в якому представлені великі сплощені клітини, просочені суберином, а також деякі пучки склеренхімних волокон. Тканина флоеми являє собою тонке зовнішнє кільце, що складається

з ситоподібних трубок. Тканина ксилеми утворює внутрішнє кільце, що складається з судин різного діаметру, має виражений пучковий типом провідної системи. Серцевинна паренхіма добре розвинена.

Чашечка нерівнобока, дистальний бік дугоподібно опуклий у нижній частині, проксимальний – майже прямий (рис. 4.8). Чашечка опушена, завдовжки 5.5-6.5 мм, завширшки 2.0-2.5 мм, з п’ятьма зубцями на верхівці та 10 поздовжніми жилками. Зубці короткі, з опуклими чи прямими латеральними сторонами, завширшки при основі 1.1 – 1.4 мм, заввишки 1.7- 2.0 мм.



I II

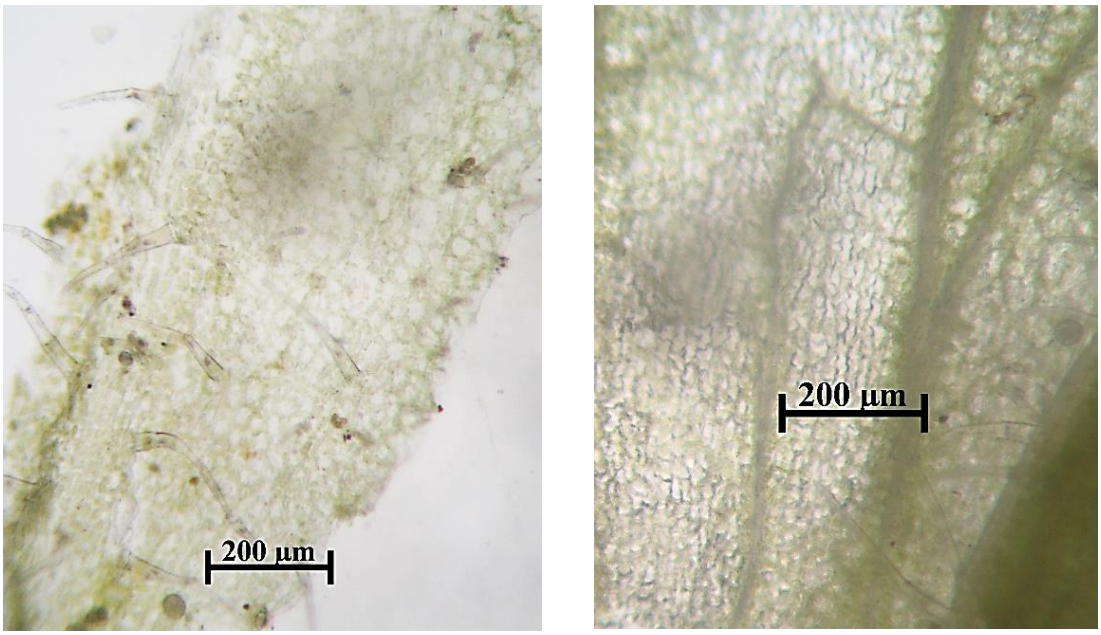
Рис.4.8 Зовнішній вигляд (I) та форма зубців (II) чашечки самосилу гайового

Опушення зовнішньої поверхні чашечки утворене криючими простими однорядними 2-3 клітинними чи багатоклітинними прозорими волосками різної довжини (150-300 мкм), що орієнтовані базископно або перпендикулярно поверхні чашолистиків. По краю зубців та між ними волоски орієнтовані акроскопно. Залозисті трихоми з двоклітинною головкою. Пельтатні залозки найщільніше розташовані у верхній частині чашолистиків. Внутрішня поверхня чашечки опушена довгими акроскопними криючими волосками (до 1300 мкм завдовжки) лише у верхній частині.

Клітини епідерми, яка покриває чашечку зовні, більш-менш ізодіаметричні, 30-50 мкм х 20-25 мкм, багатокутні, в плані розпростерті,

переважно з тупими суміжними кутами.; їх антиклінальні стінки потовщені, майже прямі або вигнуті (рис.4.9). Між ними зрідка трапляються продихи.

З внутрішнього боку чашечки клітини епідерми видовжені, часто прозенхімні, 80-150мкм х 40-50мкм, з потовщеними хвилястими антиклінальними стінками, з прямими, тупими чи гострими суміжними кутами. Продихи та залозисті трихоми з внутрішньої сторони не виявлені.



I II

Рис. 4.9 Епідерма завнішньої (I) та внутрішньої (II) поверхні чашечки самосилу гайового

Самосил гірський (Teucrium montanum L.*),* - це вічнозелена розпростерта напівчагарникова рослина висотою 15-30 см, здерев'яніла біля основи (рис. 4.10). Утворює густі дерновини, що швидко розростаються. Кореневище повзуче. Стебла численні, лежачі до висхідних, сильно гіллясті від основи, сірувато-білі від опушення, з гілками, що піднімаються на кінцях. Молоді пагони тонкі, жилаві, прямостоячі, опушені

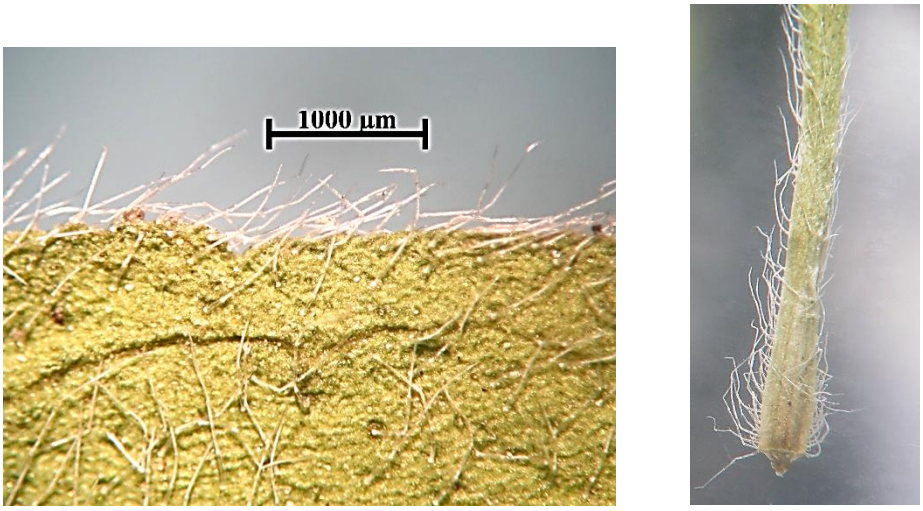
Листки ланцетоподібні, зверху зелені, знизу сизуваті. Листкова пластинка з боків цільнокрая, у верхній частині слабко закруглено-зарубчаста, опушена з обох сторін.



.

Рис. 4.10 Пагін самосилу гірського (*Teucrium montanum* L.)

Опушення утворене криючими та залозистими трихомами (рис. 4.11). Криючі волоски прості, однорядні, прозорі, багатоклітинні, складаються з 4-8, рідко більше, видовжених циліндричних клітин з потовщеною стінкою і гладенькою кутикулою. Базальна клітина криючих волосків коротша, термінальна - звужена та загострена.



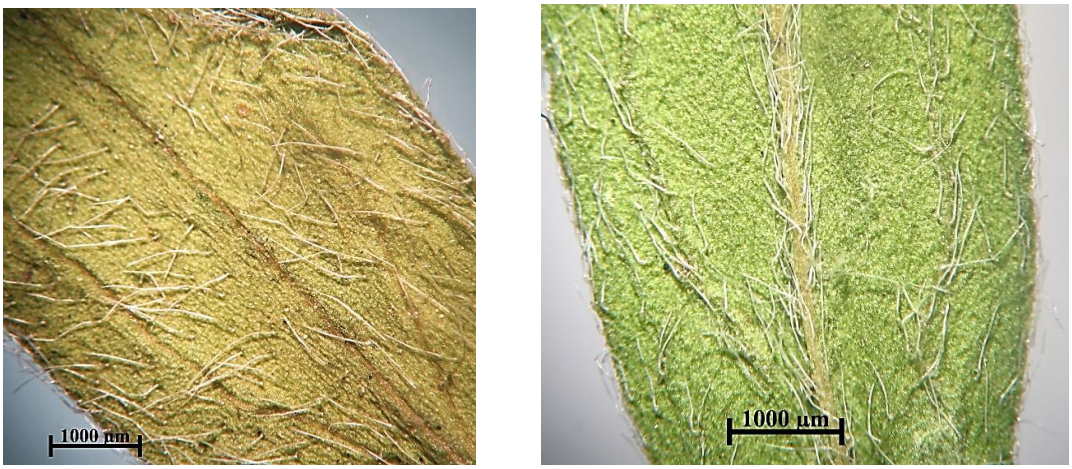
I II

Рис. 4.11 Опушення краю поверхні листка (I) та черешка (II) самосилу гірського

З адаксіального боку (рис.4.10) криючі волоски розміщені більш-менш рівномірно по усій поверхні листкової пластинки, а також по її краю, орієнтовані акроскопно, рідко перпендикулярно осі листка; їх довжина коливається від 600 до 1200 мкм.

З абаксіальної сторони (рис.4.12) криючі волоски також акроскопні, сконцентровані переважно вздовж центральної та бічних жилок, а також по краю листкової пластинки.

Залозисті трихоми розподілені більш-менш рівномірно з обох боків, з короткою ніжкою та двоклітинною головкою. Пельтатні ефіроолійні залозки до 40-50 мкм у діаметрі, їх головка утворена з 4, рідко 5-6 радіально орієнтованих клітин. Розетка при основі пельтатних залозок утворена з 6-9 радіально видовжених призматичних клітин з майже прямими антиклінальними стінками.

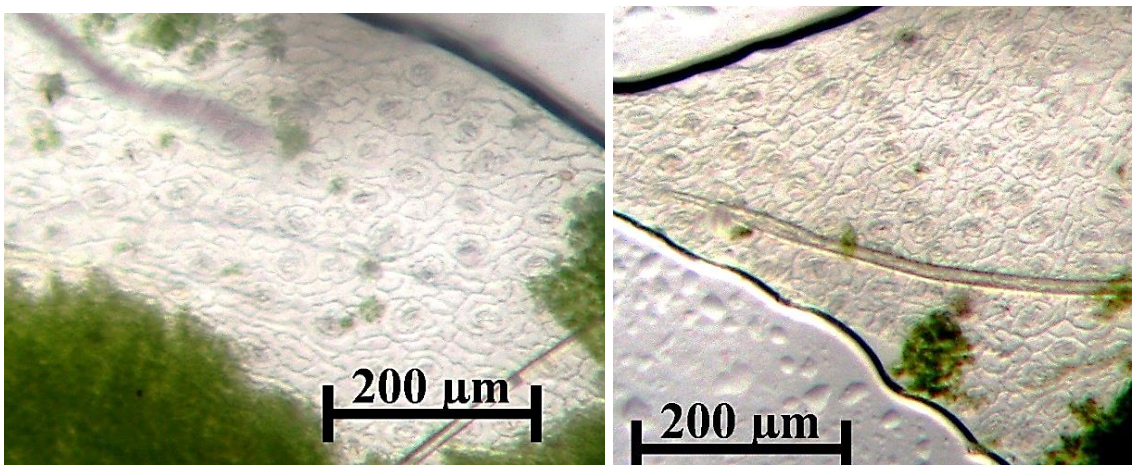


I II

Рис. 4.12 Опушення адаксіальної (I) та абаксіальної (II) поверхонь листкової пластинки

Основні епідермальні клітини (рис. 4.13) абаксіальної сторони видовжені або ізодіаметричні, неправильної форми, 50-70 мкм х 15-25 мкм, до 500 шт. на 1 кв.мм.

Антиклінальні стінки клітин злегка хвилясті, дугоподібно вигнуті, рідше майже прямі. Проекція клітин багатокутна чи розпростерта, кути у суміжних кордонах закруглені, тупі або гострі.



I II

Рис. 4.13 Епідерма адаксіальної (I) та абаксіальної (II) поверхні листкової пластинки самосилу гірського

Основні клітини епідерми адаксіальної поверхні дрібніші,15-35 мкм х 8-20 мкм, їх кількість становить 600-700 шт. на 1 мм кв. Клітини видовжені, неправильної форми, з тонкими дугоподібними, ледь хвилястими чи майже прямими антиклінальними стінками, в проекції багатокутні, з гострими чи тупими закругленими суміжними кутами. Вздовж центральної та бічних жилок, які з абаксіального боку випинаються над поверхнею листка, клітини епідерми значно видовжені, прозенхімні, з прямими антиклінальними стінками.

Листок амфістоматичний, продихи знаходяться на обох поверхнях листкової пластинки. Продихові клітини овальні, 22-24 мкм х 17-20 мкм, їх кількість на 1 кв. мм варіює від 200 до 250 шт. на абаксіальній поверхні та від 300 до 350 шт. на адаксіальній поверхні. Продиховий апарат діацитного та аномоцитного типів.

На поперечному зрізі листка видно, що обидві поверхні листка вкриті шаром кутикули. Під середньою жилкою розташована 4–5-шарова коленхіма, а над середньою жилкою — 2–3-шарова. Нижні коленхіматичні клітини більші за верхні. Клітини стовпчастої паренхіми 2-шарові, клітини губчастої паренхіми розташовані в 2-3 шари, проте стовпчаста паренхіма займає близько 55–60 % мезофілу.

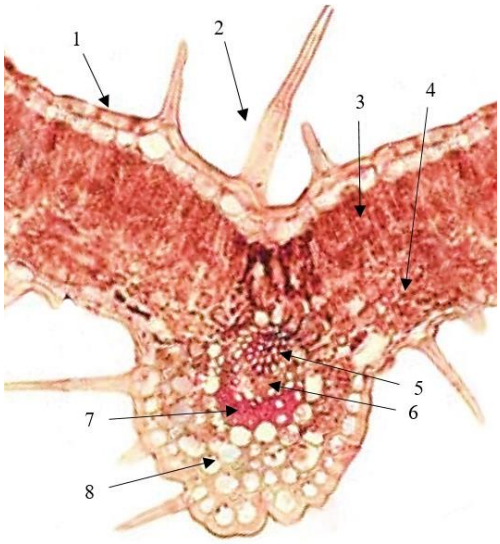


Рис. 4. 14 Поперечний зріз листкової пластини самосилу гірського: 1 – епідерма, 2 – трихоми, 3 – стовпчаста паренхіма, 4 – губчаста паренхіма, 5 – ксилема, 6 – флоема, 7 – склеренхіма, 8 – коленхіма

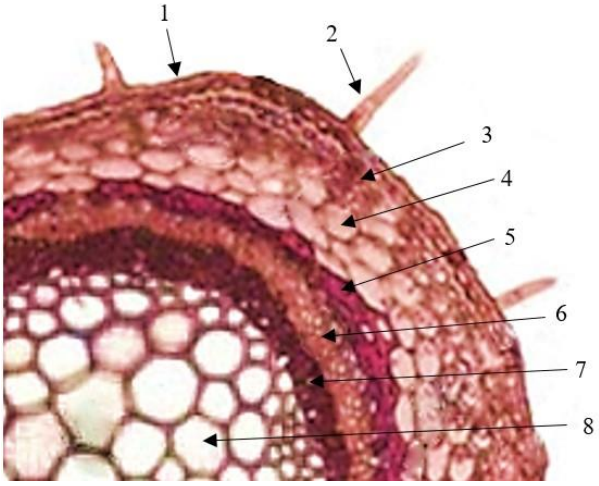


Рис. 4. 15 Поперечний зріз стебла самосилу гірського: 1 – епідерма, 2 – трихоми, 3 – коленхіма, 4 – паренхіма, 5 – склеренхіма, 6 – флоема, 7 – ксилема, 8 – серцевинна паренхіма

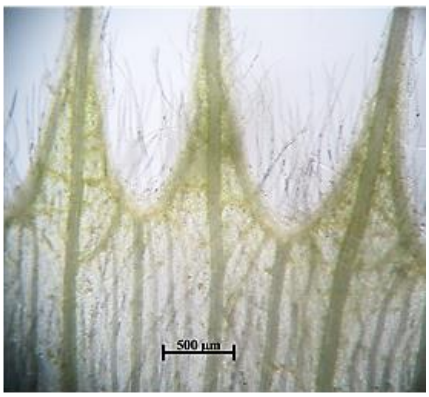
Епідерміс стебла одношаровий і складається з овальних клітин, стінки яких потовщені і покриті товстим шаром кутикули. Коленхіма слабо розвинена. Між коленхімою та ентодермою наявна 4-5-шарова паренхіма. Ксилема та флоема розміщені суцільним кільцем. Камбій між ксилемою і флоемою малопомітний. Серцевинна паренхіма добре розвинена.

Чашечка рівностороння, симетрична**,** завдовжки 7-8 мм, завширшки 2.5-3.0 мм, густо опушена, окрім верхівки зубців (Рис. 4.16). Зубці видовжені, термінально загострені, латеральні сторони увігнуті. Ширина зубців при основі 0.9-1.2 мм, висота 3.0-3.4 мм.



Рис.4.16 Чашечка самосилу гірського

Опушення чашечки (рис. 4.17) утворене криючими та залозистими трихомами. Криючі волоски однорядні, багатоклітинні, прозорі, значно довші, ніж у самосилу гайового, 0.7-1.5 мм завдовжки, акроскопно направлені. Залозисті трихоми та пельтатні ефіроолійні залозки трапляються рідше, ніж у самосилу гайового.



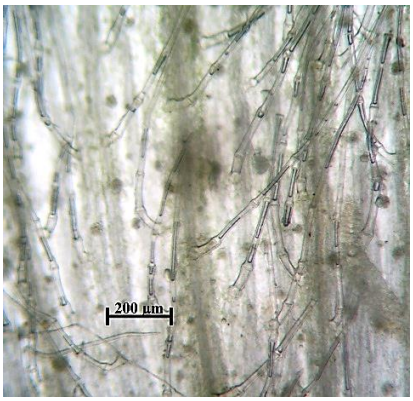
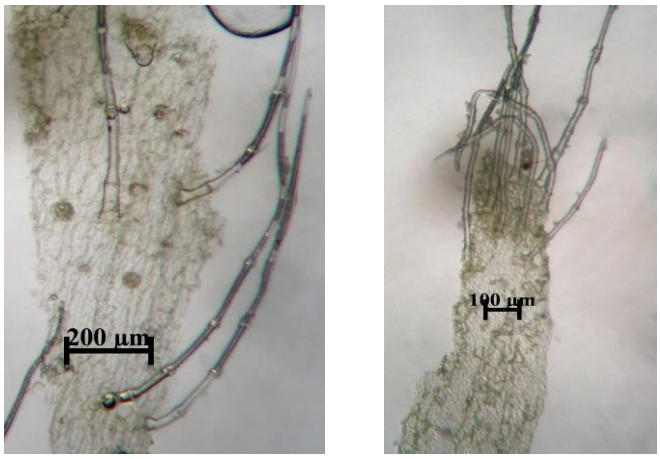


Рис. 4.17 Опушення чашечки самосилу гірського

Епідерма (рис. 4.18), що покриває чашечку зовні, сформована з видовжених клітин полігональної чи неправильної форми, 30-50 мкм х 15-20 мкм, з тонкими хвилястими, дугоподібними, рідше прямими антиклінальними стінками. Пельтатні залозки та залозисті трихоми розміщені більш- менш

рівномірно по всій поверхні чашолистика, трапляються пельтатні залозки з 4- та 3-клітинною головкою.

Епідерма внутрішньої поверхні чашолистиків складається з дрібніших клітин, 20-40 мкм х 9-15 мкм, антиклінальні стінки яких нерівномірно хвилясті. Залозисті трихоми трапляються рідше.



I II

Рис. 4.18 Епідерма зовнішньої (I) та внутрішньої (II) поверхні чашечки самосилу гірського

Проведений комплексний мікроскопічний аналіз листкової пластинки та чашечки самосилу гайового та самосилу гірського виявив наступні мікроморфологічні ознаки, що характерні для кожного з досліджених видів, а саме:

1. Характер опушення адаксіальної та абаксіальної поверхні листкової пластинки;

2. Форма, розміри та щільність розміщення криючих волосків та їх просторова орієнтація;

3. Наявність чи відсутність залозистих трихом та їх будова;

4. Специфіка опушення країв листкової пластинки криючими волосками та їх особливості;

5. Особливості епідермальних клітин адаксіальної та абаксіальної поверхні листка (форма, щільність розташування, розмір);

6. Контури антиклінальних стінок основних епідермальних клітин листкової пластинки та чашолистиків (хвилясті, вигнуті, зигзагуваті чи прямі);

7. Особливості латеральних сторін зубців чешечки (опуклі, прямі чи увігнуті) та їх апікальних кінців (короткі чи видовжені).

Таблиця 4.1

Основні анатомо-морфологічні відмінні діагностичні ознаки самосилу гайового та самосилу гірського

Діагностичні ознаки	Самосил гайовий	Самосил гірський
Форма листкової пластинки	Обернено яйцеподібна, 2,5-4 см завдовжки	Ланцетоподібна, 1,5-2,5 см завдовжки
Форма краю листкової пластинки	Нерівномірно надрізано-зубчасті	Листки цілокраї, загнуті до низу
Криючі трихоми	Розміщені нерівномірно, вкриті бугристою кутикулою, на абаксіальній поверхні спрямовані базископно	Розміщені рівномірно, вкриті гладенькою кутикулою, на абаксіальній поверхні спрямовані акроскопно
Залозисті трихоми	Розташовані нерівномірно	Розташовані рівномірно
Пельтатні ефіроолійні залозки	Мають розетку з квадратичних клітин	Мають розетку з видовжених призматичних клітин
Епідермальні клітини абаксіальної сторони	Амебоподібної форми зі звивистими обрисами, 40-50 мкм завдовжки та 20-25 мкм завширшки	Видовжені, або ізодіаметричні, 50-70 мкм завжовжки та 15-25 мкм завширшки
Епідермальні клітини адаксіальної сторони	Багатокутні 18-25 мкм завдовжки та 10-15 мкм завширшки	Видовжені 15-35 мкм завжовжки та 8-20 мкм завширшки
Продихи	Округлі 14-16 мкм × 12-14 мкм	Овальні 22-24 мкм × 17-20 мкм
Паренхіма листкової пластини	2 ряди стовпчастої паренхіми та 2-3 ряди губчастої	2 ряди стовпчастої та 1-2 ряди губчастої
Колір віночка	Блідо-пурпуровий	Світло жовтий

Зазначені морфолого-анатомічні ознаки є надійними діагностичними критеріями й можуть бути використані при ідентифікації та сертифікації лікарської рослинної сировини та визначенні її якості.

4.2 Розробка способів екстракції біологічно активних речовин із сировини

Розробка оптимальних умов екстракції є важливим етапом фармакогностичного дослідження. Цей процес допомагає знайти можливість вилучити максимальну кількість корисних БАР з природних джерел.

Основні етапи розробки оптимальних умов екстракції БАР включають вибір та підготовку сировини, підбір найбільш ефективного розчинника, ступеня подрібнення сировини, вибір методу та оптимальних умов екстракції, а також забезпечення процесу контролю якості отриманих екстрактів.

Під час визначення оптимальних умов для отримання екстрактів вимірювали кількість гідроксикоричних кислот (за допомогою спектрофотометричного методу, в перерахунку на хлорогенову кислоту), загальну кількість флавоноїдів (методом диференційної спектрофотометрії у перерахунку на рутин при 408 нм) і загальну кількість поліфенольних речовин (спектрофотометричним методом у перерахунку на пірогалол).

Методика визначення суми гідроксикоричних кислот: 1 мл досліджуваного розчину було поміщено в колбу на 25 мл. До цього розчину додавали 2 мл 0,5 М розчину кислоти хлористоводневої, 2 мл розчину натрію нітриту та натрію молібдату і 1 мл розчину натрію гідроксиду, розведеного у воді. Змішували отриманий розчин і долили води до відповідної позначки. Для вимірювання оптичної густини (довжина хвилі 505 нм), використовували компенсаційний розчин, який був аналогічний до досліджуваного розчину, але без додавання розчину натрію нітриту та натрію молібдату. Кювета для вимірювання мала стінки 10 мм завтовшки.

Методика визначення суми флавоноїдів: 1 мл досліджуваного розчину було додано до мірної колби об'ємом 25 мл. До цього розчину додавали 5 мл 70 % етанолу, 5 мл 5 % розчину алюмінію хлориду у 70 % етанолі, та 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти у 70 % етанолі. Після цього розчин доводили до об'єму за допомогою 70 % етанолу і ретельно перемішували. За 30 хвилин

визначали оптичну густину отриманого розчину при довжині хвилі 408 нм у кюветі з стінками 10 мм завтовшки. Для компенсації використовували розчин, який складався з 1 мл препарату, 5 мл 70 % етанолу і 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти у 70 % етанолі. Цей компенсаційний розчин також був доведений до позначки за допомогою 70 % етанолу.

Методика визначення суми поліфенольних речовин: було взято 1 мл досліджуваного розчину і розчинено його у мірній колбі об'ємом 25 мл, додано води до позначки та ретельно перемішано. Далі, взято 2 мл отриманого розчину і додано 1 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву та 10 мл води, після чого об'єм розчину було доведено до позначки за допомогою розчину натрію карбонату і знову перемішано. Цей отриманий розчин називали "випробуваним розчином".

За 30 хвилин було проведено вимірювання оптичної густини випробуваного розчину при довжині хвилі 760 нм у кюветі при товщині стінок 10 мм. Також використовувався компенсаторний розчин, який складався з 12 мл води очищеної, 1 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву, який також доводили до об'єму за допомогою розчину натрію карбонату до позначки, перемішували та настоювали 30 хв. Цей компенсаторний розчин був використаний для коригування отриманих результатів.

Паралельно проводили вимірювання оптичної густини розчину, який містив 2 мл розчину стандартного зразку пірогалолу, 1 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву, 10 мл очищеної води, додавали розчин натрію карбонату до позначки, перемішували і витримували. Цей розчин використовували як стандартний для порівняння.

Для проведення вивчення впливу ступені подрібнення лікарської рослинної сировини на вихід БАР з сировини при екстрагуванні було використано сировину різного стану подрібнення від 0,25 мм до більше 7 мм..

Результати проведеного дослідження представлені у таблиці 4.2.

Таблиця 4.2

Вплив ступеня подрібнення сировини на повноту екстракції БАР

Сировина	Ступінь подрібнення сировини	Вміст БАР і екстрактивних речовин в сировині, %, n = 5											
		Самосил гайовий						Самосил гірський					
		Сума поліфенольних сполук		Сума флавоноїдів		Сума гідрокси коричних кислот		Сума поліфенольних сполук		Сума флавоноїдів		Сума гідрокси коричних кислот	
		%	±	%	±	%	±	%	±	%	±	%	±
Корені	0,25 - 0,5 мм	2,53	0,10	0,191	0,015	2,77	0,09	1,28	0,04	0,042	0,003	1,12	0,04
	0,5 – 1 мм	2,72	0,12	0,187	0,012	2,49	0,07	1,56	0,05	0,064	0,005	0,97	0,03
	1 – 2 мм	2,65	0,14	0,301	0,024	2,91	0,10	1,11	0,02	0,025	0,002	1,18	0,05
	2 – 3 мм	2,83	0,16	0,203	0,016	3,06	0,12	1,63	0,05	0,071	0,005	1,21	0,05
	3 – 5 мм	2,46	0,08	0,178	0,014	3,02	0,13	1,42	0,03	0,053	0,004	1,03	0,03
	5 – 7 мм	2,79	0,18	0,196	0,019	2,58	0,08	1,64	0,05	0,017	0,001	1,23	0,04
	> 7 мм	2,58	0,13	0,169	0,011	2,43	0,07	1,07	0,02	0,038	0,002	1,05	0,03
Листя	0,25 - 0,5 мм	2,15	0,08	0,432	0,026	2,21	0,06	1,72	0,04	0,234	0,013	1,72	0,10
	0,5 – 1 мм	1,87	0,10	0,314	0,019	2,64	0,10	1,05	0,02	0,212	0,012	1,60	0,10
	1 – 2 мм	2,27	0,12	0,518	0,030	2,12	0,06	1,91	0,06	0,197	0,011	1,84	0,11
	2 – 3 мм	2,35	0,16	0,397	0,023	2,68	0,09	2,01	0,05	0,251	0,014	1,94	0,12
	3 – 5 мм	2,04	0,18	0,179	0,014	1,95	0,05	0,98	0,02	0,223	0,012	1,67	0,08
	5 – 7 мм	2,32	0,14	0,495	0,031	2,36	0,09	1,43	0,04	0,240	0,013	1,76	0,09
	> 7 мм	1,76	0,06	0,253	0,016	2,61	0,10	2,07	0,05	0,186	0,010	1,58	0,07
Трава	0,25 - 0,5 мм	2,17	0,10	0,273	0,017	2,23	0,07	2,09	0,04	0,247	0,013	1,42	0,07
	0,5 – 1 мм	2,74	0,18	0,365	0,022	2,57	0,09	2,27	0,04	0,192	0,010	1,63	0,10
	1 – 2 мм	1,82	0,06	0,297	0,018	2,01	0,05	2,14	0,03	0,169	0,009	1,28	0,05
	2 – 3 мм	2,98	0,15	0,415	0,027	2,76	0,11	2,36	0,05	0,222	0,012	1,78	0,11
	3 – 5 мм	2,56	0,14	0,328	0,021	2,86	0,11	2,01	0,05	0,185	0,010	1,71	0,10
	5 – 7 мм	2,31	0,12	0,206	0,016	2,42	0,08	1,98	0,04	0,223	0,012	1,55	0,09
	> 7 мм	1,69	0,07	0,389	0,026	2,15	0,04	2,32	0,02	0,281	0,015	1,39	0,06

За результатами дослідження було встановлено, що найбільшу кількість БАР вдалося екстрагувати з сировини обох видів самосилу зі ступенем подрібнення 2-3 мм.

Наступним етапом дослідження було встановлення впливу екстрагенту на повноту екстракції БАР із сировини самосилу гайового та самосилу гірського. В якості екстрагентів було використано воду очищену та етанол різної концентрації (від 20 % до 95 %).

Результати проведеного дослідження представлені у таблиці 4.3.

За отриманими даними було встановлено, що найбільшу кількість поліфенольних сполук було екстраговано з коренів самосилу гайового (3,09 %) за концентрації етилового спирту 95 %. Для самосилу гірського було визначено, що найбільша кількість поліфенольних сполук екстрагується з трави за концентрації етилового спирту, що дорівнює 70 %.

Найбільшу кількість флавоноїдів для обох видів сировини було екстраговано з трави при використанні 70 % етилового спирту.

Найбільшу кількість гідроксикоричних кислот було екстраговано з коренів самосилу гайового (1,93 %) при використанні 70 % етилового спирту. Для сировини самосилу гірського найбільшу кількість гідроксикоричних кислот екстраговано трави при використанні 40 % етилового спирту.

Зважаючи на розрізненість отриманих даних визначено оптимальний екстрагент, який екстрагував найбільшу можливу кількість усіх груп досліджуваних БАР.

Зважаючи на отримані дані було встановлено, що найоптимальнішим є використання у якості екстрагенту для даного виду сировини етиловий спирт у концентрації 70 %, а також можливе використання 40 % етанолу при трохи менших загальних показниках відсоткового значення кількості екстрагованих речовин.

Наступним етапом було визначення впливу співвідношення сировини та екстрагенту на повноту екстракції БАР.

Результати проведеного дослідження представлені у таблиці 4.4.

Таблиця 4.3

Вплив екстрагенту на повноту екстракції БАР

Сировина	Екстрагент	Вміст БАР і екстрактивних речовин в сировині, %, n = 5											
		Самосил гайовий						Самосил гірський					
		Сума поліфенольних сполук		Сума флавоноїдів		Сума гідрокси коричних кислот		Сума поліфенольних сполук		Сума флавоноїдів		Сума гідрокси коричних кислот	
		%	±	%	±	%	±	%	±	%	±	%	±
Корені	Вода очищена	2,36	0,07	0,226	0,008	1,25	0,08	1,34	0,09	0,091	0,008	1,18	0,08
	20 % етанол	2,78	0,11	0,208	0,007	1,72	0,08	1,11	0,07	0,132	0,006	1,29	0,10
	40 % етанол	2,84	0,12	0,198	0,007	1,81	0,11	1,34	0,08	0,103	0,007	1,31	0,09
	50 % етанол	2,14	0,02	0,187	0,007	1,08	0,05	1,53	0,06	0,065	0,007	1,24	0,06
	70 % етанол	2,94	0,13	0,215	0,008	1,93	0,10	1,42	0,05	0,124	0,008	1,37	0,06
	90 % етанол	2,77	0,11	0,167	0,005	1,56	0,04	1,24	0,09	0,112	0,005	1,36	0,08
	95 % етанол	3,09	0,10	0,254	0,010	1,19	0,06	1,42	0,04	0,055	0,009	1,13	0,04
Листя	Вода очищена	2,43	0,03	0,366	0,014	1,67	0,07	2,14	0,08	0,122	0,013	1,52	0,08
	20 % етанол	2,22	0,07	0,174	0,007	1,41	0,06	2,29	0,06	0,075	0,006	1,67	0,06
	40 % етанол	2,45	0,03	0,297	0,012	1,36	0,06	2,25	0,07	0,146	0,011	1,78	0,07
	50 % етанол	2,18	0,02	0,311	0,013	1,29	0,05	1,72	0,07	0,120	0,012	1,41	0,07
	70 % етанол	2,57	0,06	0,343	0,014	1,42	0,08	2,14	0,09	0,166	0,013	1,75	0,08
	90 % етанол	2,63	0,06	0,193	0,007	1,14	0,11	2,07	0,10	0,085	0,007	1,70	0,11
	95 % етанол	2,03	0,03	0,349	0,014	1,36	0,06	1,86	0,06	0,193	0,013	1,75	0,06
Трава	Вода очищена	2,99	0,16	0,235	0,009	1,38	0,07	2,35	0,04	0,175	0,008	1,28	0,04
	20 % етанол	2,45	0,03	0,362	0,014	1,03	0,03	2,20	0,03	0,100	0,013	1,62	0,03
	40 % етанол	2,54	0,05	0,306	0,012	1,42	0,07	2,38	0,09	0,155	0,011	1,96	0,08
	50 % етанол	2,44	0,03	0,280	0,011	1,61	0,07	1,98	0,08	0,143	0,010	1,47	0,09
	70 % етанол	3,03	0,11	0,384	0,015	1,64	0,09	2,42	0,08	0,211	0,014	1,63	0,08
	90 % етанол	2,31	0,03	0,271	0,010	1,47	0,04	2,02	0,05	0,184	0,009	1,85	0,05
	95 % етанол	3,01	0,14	0,298	0,012	1,31	0,05	1,68	0,05	0,166	0,011	1,82	0,05

Таблиця 4.4

Вплив співвідношення сировини та екстрагенту на повноту екстракції БАР

Сировина	Співвідношення між сировиною та екстрагентом	Вміст БАР і екстрактивних речовин в сировині, %, n = 5											
		Самосил гайовий						Самосил гірський					
		Сума поліфенольних сполук		Сума флавоноїдів		Сума гідрокси коричних кислот		Сума поліфенольних сполук		Сума флавоноїдів		Сума гідрокси коричних кислот	
		%	±	%	±	%	±	%	±	%	±	%	±
Корені	1:10	3,05	0,06	0,181	0,010	1,47	0,11	1,34	0,05	0,089	0,008	1,33	0,07
	1:15	2,23	0,07	0,173	0,006	1,68	0,12	1,01	0,10	0,135	0,007	1,67	0,11
	1:20	3,02	0,18	0,211	0,007	1,78	0,13	1,53	0,07	0,107	0,010	1,26	0,06
	1:25	2,38	0,08	0,256	0,009	1,26	0,09	1,44	0,11	0,120	0,006	1,40	0,05
	1:30	2,88	0,17	0,219	0,011	1,31	0,09	1,29	0,09	0,112	0,009	1,12	0,09
Листя	1:10	2,62	0,05	0,143	0,012	1,19	0,08	1,92	0,06	0,207	0,013	1,44	0,10
	1:15	2,55	0,11	0,329	0,008	1,42	0,10	2,27	0,08	0,191	0,012	1,25	0,08
	1:20	2,54	0,11	0,364	0,013	1,47	0,11	2,32	0,12	0,221	0,006	1,68	0,12
	1:25	2,47	0,10	0,245	0,012	1,14	0,07	1,97	0,05	0,126	0,008	1,70	0,04
	1:30	2,30	0,07	0,183	0,006	1,30	0,08	1,57	0,04	0,178	0,011	1,21	0,11
Трава	1:10	3,01	0,15	0,126	0,007	1,42	0,09	2,43	0,10	0,098	0,012	1,03	0,05
	1:15	2,12	0,06	0,372	0,009	1,61	0,10	2,51	0,08	0,214	0,007	1,56	0,08
	1:20	3,11	0,12	0,394	0,010	1,74	0,11	2,54	0,05	0,186	0,008	1,72	0,07
	1:25	2,63	0,09	0,298	0,006	1,37	0,07	2,15	0,10	0,202	0,007	1,39	0,11
	1:30	2,81	0,13	0,164	0,007	1,78	0,13	1,64	0,07	0,223	0,010	1,64	0,06

Для визначення оптимальних умов екстракції було проведено екстракцію сировини у наступних співвідношеннях: 1:10, 1:15, 1:20, 1:25 та 1:30.

Встановлено, що найбільшу кількість поліфенольних сполук вдалося екстрагувати з трави самосилу гайового при співвідношенні між сировиною та екстрагентом – 1:20. Трохи меншу кількість було екстраговано з коренів сировини за співвідношення 1:10. Для сировини самосилу гірського встановлено, що концентрація екстрагованих поліфенольних речовин практично однакова при використанні трави та екстрагенту у співвідношеннях 1:20 та 1:10 з результатом у 2,54 % та 2,51 % відповідно.

Найбільшу кількість флавоноїдів було екстраговано при співвідношенні сировина:екстрагент як 1:20 з трави самосилу гайового. Для самосилу гірського було екстраговано майже однакову кількість флавоноїдів з трави при співвідношенні 1:30 та з листя при співвідношенні 1:20 (2,23 % та 2,21 % відповідно).

Щодо гідроксикоричних кислот однакову кількість було екстраговано з трави самосилу гайового за співвідношення 1:30 та для коренів при співвідношенні 1:20. Для самосилу гірського практично однакову кількість було екстраговано з листя при співвідношенні 1:25 та з трави при співвідношенні 1:20.

За результатами аналізу встановлено, що оптимального результату екстрагування можна досягти, використовуючи сировину та екстрагент у співідношенні 1:20 для обох видів сировини.

Наступним етапом дослідження було визначення впливу часу екстракції на повноту екстракції БАР.

Результати проведеного дослідження представлені у таблиці 4.5.

За результатами дослідження впливу часу на повноту екстракції було встановлено, що найоптимальнішими умовами є проведення екстрагування сировини обох видів протягом 45 хвилин.

Таблиця 4.5

Вплив часу екстракції на повноту екстракції БАР

Сировина	Час екстракції	Вміст БАР і екстрактивних речовин в сировині, %, n = 5											
		Самосил гайовий						Самосил гірський					
		Сума поліфенольних сполук		Сума флавоноїдів		Сума гідрокси коричних кислот		Сума поліфенольних сполук		Сума флавоноїдів		Сума гідрокси коричних кислот	
		%	±	%	±	%	±	%	±	%	±	%	±
Корені	15	2,38	0,10	0,143	0,015	1,18	0,05	1,36	0,04	0,043	0,009	0,67	0,05
	30	2,54	0,12	0,186	0,012	1,31	0,08	1,43	0,07	0,058	0,012	0,84	0,08
	45	2,85	0,08	0,218	0,018	1,54	0,12	1,47	0,06	0,096	0,007	1,29	0,09
	60	2,89	0,05	0,230	0,025	1,64	0,09	1,54	0,05	0,110	0,014	1,35	0,06
	90	2,93	0,09	0,237	0,021	1,77	0,07	1,62	0,08	0,132	0,011	1,42	0,07
Листя	15	2,35	0,11	0,162	0,016	1,25	0,10	1,79	0,09	0,078	0,006	0,73	0,10
	30	2,42	0,07	0,244	0,027	1,39	0,06	2,02	0,10	0,096	0,008	0,98	0,04
	45	2,61	0,06	0,314	0,029	1,33	0,04	2,48	0,11	0,145	0,010	1,31	0,07
	60	2,64	0,09	0,326	0,032	1,23	0,11	2,51	0,12	0,158	0,013	1,42	0,06
	90	2,73	0,12	0,334	0,030	1,62	0,07	2,73	0,07	0,164	0,007	1,47	0,05
Трава	15	2,67	0,07	0,143	0,013	1,45	0,10	1,98	0,09	0,134	0,012	0,86	0,08
	30	2,89	0,10	0,265	0,020	1,28	0,05	2,41	0,08	0,192	0,009	1,12	0,09
	45	3,07	0,08	0,418	0,026	1,68	0,09	2,51	0,06	0,197	0,006	1,47	0,06
	60	3,12	0,11	0,424	0,028	1,50	0,06	2,54	0,05	0,205	0,010	1,52	0,04
	90	3,28	0,10	0,431	0,022	1,37	0,08	2,63	0,07	0,213	0,011	1,55	0,07

Таблиця 4.6

Вплив кількості екстракції на повноту екстракції БАР

Сировина	Кількість екстракції	Вміст БАР і екстрактивних речовин в сировині, %, n = 5											
		Самосил гайовий						Самосил гірський					
		Сума поліфенольних сполук		Сума флавоноїдів		Сума гідрокси коричних кислот		Сума поліфенольних сполук		Сума флавоноїдів		Сума гідрокси коричних кислот	
		%	±	%	±	%	±	%	±	%	±	%	±
Корені	I	2,85	0,12	0,218	0,032	1,54	0,12	1,47	0,11	0,091	0,009	1,29	0,09
	II	1,15	0,05	0,147	0,124	0,76	0,05	1,11	0,09	0,038	0,004	0,46	0,10
	III	0,32	0,18	0,081	0,059	0,15	0,08	0,42	0,04	0,014	0,002	0,24	0,08
	IV	0,21	0,09	0,034	0,093	0,07	0,04	0,18	0,03	0,011	0,001	0,11	0,04
Листя	I	2,61	0,14	0,311	0,175	1,33	0,11	2,48	0,14	0,148	0,015	1,31	0,11
	II	1,46	0,07	0,246	0,208	1,21	0,09	1,27	0,12	0,121	0,012	0,78	0,09
	III	0,41	0,11	0,065	0,046	0,37	0,06	0,61	0,08	0,044	0,005	0,45	0,06
	IV	0,25	0,11	0,017	0,027	0,12	0,03	0,34	0,06	0,016	0,002	0,19	0,03
Трава	I	3,07	0,08	0,412	0,148	1,68	0,10	2,51	0,08	0,191	0,011	1,47	0,10
	II	1,52	0,15	0,205	0,071	1,19	0,07	1,14	0,10	0,096	0,009	1,02	0,07
	III	0,68	0,06	0,071	0,062	0,15	0,09	0,75	0,07	0,059	0,006	0,67	0,09
	IV	0,44	0,10	0,043	0,038	0,06	0,05	0,27	0,05	0,013	0,001	0,21	0,05

Останнім етапом було встановлення доцільності проведення повторного екстрагування сировини для вилучення максимальної можливої кількості БАР із досліджуваної сировини.

За результатами видно, що при проведенні другої екстракції є можливість вилучити ще досить велику кількість БАР, коли кількість екстрагованих сполук може сягати і до 80 % по відношенню до кількості, що була екстрагована перший раз. Проте за результатами проведення екстракції третій раз стає очевидним, що відсоток екстрагованих речовин тільки в деяких випадках сягав 45 % по відношенню до кількості БАР, вилучених під час другого етапу екстракції. Як висновок можемо вважати проведення третього екстрагування недоцільним.

Висновки щодо результатів визначення оптимальних умов екстракції в узагальненому вигляді сформовано та наведено у таблиці 4.7.

Таблиця 4.7

Оптимальні умови екстракції БАР з сировини

Сировина	Ступінь подрібнення	Екстрагент	Співвідношення між сировиною та екстрагентом	Час екстракції	Кількість екстракцій
Корені	2-3 мм	70 % етанол	1:20	45	2
Листя	2-3 мм	70 % етанол	1:20	45	2
Трава	2-3 мм	70 % етанол	1:20	45	2

За результатами проведених досліджень встановлено, що оптимальними умовами екстракції БАР є: використання сировини зі ступенем подрібнення 2- 3 мм; в якості екстрагенту застосовувати 70 % етиловий спирт; співвідношення між сировиною та екстрагентом – 1:20; час екстракції – 45 хвилин, кратність – 2.

4.3 Визначення показників доброякісності сировини роду Самосил

З метою розробки аналітичної нормативної документації на сировину трави самосилу гайового та трави самосилу гірського нами було досліджено по 5 серій зазначеної сировини. Для сировини визначали макроскопічні та мікроскопічні ознаки, проводили ідентифікацію, визначали вміст суми флавоноїдів, суми гідроксикоричних кислот, проводили визначення вологості, зольності. Дані щодо аналізу 5 серій сировини трави самосилу гайового наведені в табл. 4.8, трави самосилу гірського в табл. 4.9.

4.3.1. Визначення показників доброякісності сировини самосилу гайового

4.3.1.1. *Опис.* Подрібнена сировина складається зі шматочків чотиригранних стебел, світло-зеленого кольору, помірно опушених, фрагментів листків з нерівномірно надрізано-зубчастим краєм, від зеленого до сизувато-зеленого кольору, фрагментів суцвіть – чашечок зеленого кольору та блідо-пурпурових квіток. Запах сировини специфічний. Смак гіркуватий.

4.3.1.2. *Мікроскопія*. Аналітичну пробу для визначення достовірності просіюють крізь сито з діаметром отворів 0,2 мм за ГОСТ 4403-91. Частину просіву використовують для виготовлення мікропрепаратів.

При розгляді під мікроскопом повинні бути видні наступні елементи: з обох боків листки помірно опушені криючими та залозистими трихомами. На адаксіальній поверхні спрямованість волосків переважно акроскопна. На абаксіальній стороні їх орієнтація частіше базископна або перпендикулярна поверхні жилок. Основні епідермальні клітини абаксіальної сторони тонкостінні, неправильної (амебоподібної) форми зі звивистими обрисами, в проекції розпростерті, суміжні кути закруглені. Клітини епідерми адаксіальної сторони листкової пластинки багатокутні, полігональні, рідше ізодіаметричні з більш-менш хвилястими чи зигзагуватими антиклінальними стінками. Опушення чашечки утворене криючими простими однорядними 2-3 клітинними чи багатоклітинними прозорими волосками. Внутрішня поверхня чашечки опушена лише у верхній частині.

Таблиця 4.8

Параметри стандартизації трави самосилу гайового

Серія сировини	Опис	Мікроскопія	Ідентифікація			Важкі метали, %	Втрата в масі при висушуванні, %	Загальна зола, %	Кількісний вміст		Мікробіологічна чистота
			Поліфенольні сполуки	Амінокис-лоти	Хлорогенова кислота, цикорієва кислота, рутин.				Гідроксикорич-ні кислоти, %	Флавоноїди, %	
1	Згідно МКЯ	Згідно МКЯ	З розчином заліза (III) хлориду з'являється зелене забарвлення	З розчином нінгідрину з'являється фіолетове забарвлення	На хроматограмі розчину А повинні бути наявні хроматографічні зони хлорогенової кислоти, цикорієвої кислоти та рутину.	Не більше 0,001	7,52	3,46	2,724	0,3867	Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10^7; бактерій і не більше 10^5 грибів в 1 г. Не більше 10^2 бактерій *Escherichia coli* в 1г.
2	«Те саме»	«Те саме»	«Те саме»	«Те саме»	«Те саме»	«Те саме»	7,37	6,61	2,725	0,4127	«Те саме»
3	« »	« »	« »	« »	«Те саме»	« »	7,56	6,25	2,698	0,4069	« »
4	« »	« »	« »	« »	«Те саме»	« »	7,55	6,19	2,756	0,4383	« »
5	« »	« »	« »	« »	«Те саме»	« »	7,92	6,76	2,715	0,4175	« »

Таблиця 4.9

Параметри стандартизації трави самосилу гірського

Серія сировини	Опис	Мікроскопія	Ідентифікація			Важкі метали, %	Втрата в масі при висушуванні, %	Загальна зола, %	Кількісний вміст		Мікробіологічна чистота
			Поліфенольні сполуки	Амінокис-лоти	Хлорогенова кислота, цикорієва кислота, рутин.				Гідроксикори-чні кислоти, %	Флавоноїди, %	
1	Згідно МКЯ	Згідно МКЯ	З розчином заліза (III) хлориду з'являється зелене забарвлення	З розчином нінгідрину з'являється фіолетове забарвлення	На хроматограмі розчину А повинні бути наявні хроматографічні зони хлорогенової кислоти, цикорієвої кислоти та рутину.	Не більше 0,001	3,52	3,46	1,924	0,2263	Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10^7; бактерій і не більше 10^5 грибів в 1 г. Не більше 10^2 бактерій *Escherichia coli* в 1г.
2	«Те саме»	«Те саме»	«Те саме»	«Те саме»	«Те саме»	«Те саме»	3,37	3,61	1,725	0,2327	«Те саме»
3	« »	« »	« »	« »	«Те саме»	« »	3,56	4,25	2,010	0,2123	« »
4	« »	« »	« »	« »	«Те саме»	« »	3,59	4,19	1,956	0,2389	« »
5	« »	« »	« »	« »	«Те саме»	« »	3,92	3,76	2,098	0,2275	« »

Опушення зовнішньої поверхні чашечки утворене криючими простими однорядними 2-3 клітинними чи багатоклітинними прозорими волосками. Внутрішня поверхня чашечки опушена довгими акроскопними криючими волосками лише у верхній частині.

4.3.1.3. *Ідентифікація*.

Приготування розчину А. 5,00 г (точна наважка) досліджуваної сировини вносять в конічну колбу, обладнану зворотним холодильником, додають 50 мл 70 % етилового спирту та витримують на киплячому водяному огрівнику протягом 45 хв. Після цього екстракт охолоджують до кімнатної температури та фільтрують через фільтр «червона стрічка» в мірну колбу об'ємом 100,00 мл. Екстракцію проводять ще раз та доводять об'єм витягів до 100,00 мл 70 % етиловим спиртом.

4.3.1.3.1. До 3 мл розчину А додають 0,5 мл 50 % розчину заліза (III) хлориду Р. Має спостерігатися темно-коричневе забарвлення з зеленим відтінком, яке зникає при додаванні 0,5 мл кислоти сірчаної розведеної Р (поліфенольні сполуки).

4.3.1.3.2. До 2 мл розчину А додають 2 мл 1 % розчину нінгідрину Р спиртового і нагрівають на водяній бані протягом 2 хв при постійному перемішуванні. Утворюється фіолетове забарвлення (амінокислоти).

4.3.1.3.3. *Хлорогенова кислота, цикорієва кислота, рутин*.

На лінію старту хроматографічної пластинки «Kieselgel 60 F_{254}» розміром 4×10 см або аналогічної наносять 5 мкл розчину А. Пластинку сушать на повітрі протягом 5 хв, вміщають у камеру з системою розчинників етилацетат-льодяна оцтова кислота-мурашина кислота-вода (100:11:11:26) і хроматографують висхідним способом. Коли фронт розчинників пройде біля 8 см від лінії старту, пластинку виймають з камери, висушують на повітрі протягом 10 хв та послідовно обприскують 1 % розчином дифенілборилоксиетиламіну в метанолі та 5 % розчином поліетиленгліколю-4000 в етанолі.

Після обприскування пластинку висушують та переглядають за довжини хвилі 365 нм. На хроматограмі розчину А мають виявлятися наступні хроматографічні зони: зона помаранчового кольору з R_f біля 0,4 (рутин), зона блакитного кольору з R_f біля 0,5 (хлорогенова кислота) та зона блакитного кольору з R_f біля 0,8 (цикорієва кислота).

Примітки:	1. Приготування 1 % розчину дифеніл-борилоксиетиламіну. 1 г дифенілборилоксиетиламіну (Sigma-Aldrich кат № 8.41636 або аналогічний) вміщують в мірну колбу об'ємом 100 мл, розчиняють в 30 мл метанолу, доводять метанолом до мітки та перемішують. Термін придатності розчину 1 місяць при зберіганні у холодильнику. 2. Приготування 5 % розчину поліетиленгліколю-4000. 5 г поліетиленгліколю-4000 (Sigma-Aldrich кат №P3265 або аналогічний) вміщують в мірну колбу об'ємом 100 мл, розчиняють в 30 мл етанолу, доводять етанолом до мітки та перемішують. Термін придатності розчину 1 місяць при зберіганні у холодильнику.

4.3.1.4. *Важкі метали*. Не більше 0,001 % в препараті (ДФУ, п. 2.4.27).

4.3.1.5. *Втрата в масі при висушуванні*. Не більше 10 % (ДФУ, п. 2.2.32).

4.3.1.6. *Вміст загальної золи*. Не більше 10 % (ДФУ п. 2.4.16).

4.3.1.7. *Частинок, що проходять крізь сито з диаметром отворів 0,2 мм.* Частинок, що проходять крізь сито з диаметром отворів 0,2 мм повинно бути не більше 10 % (ДФУ п. 2.1.4).

4.3.1.8. *Органічних домішо*к. Не більше 2 % (ДФУ п. 2.8.2).

4.3.1.9. *Мінеральних домішок*. Не більше 1 % (ДФУ п. 2.8.2).

4.3.1.10. *Маса вмісту упаковки*. Маса вмісту однієї упаковки повинна знаходиться в межах від 47,5 г до 52,5 г.

4.3.1.11. *Кількісне визначення*

4.3.1.11.1. *Похідні гідроксикоричної кислоти*

1,00 мл розчину А вміщують в мірну колбу об'ємом 25,00 мл, додають 2 мл 0,5 М хлористоводневої кислоти, 2 мл розчину натрію нітриту і натрію молібдату та 1 мл розчину натрію гідроксиду розведеного. Доводять до позначки водою і перемішують (випробуваний розчин).

Вимірюють оптичну густину випробуваного розчину та випробованого розчину хлорогенової кислоти за довжини хвилі 505 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи в якості компенсаційного розчин, аналогічний за складом досліджуваному, але без додавання розчину натрію нітриту і натрію молібдату.

Обчислюють відсотковий вміст похідних гідроксикоричної кислоти (X_1),у відсотках, у перерахунку на хлорогенову кислоту, за наступною формулою:

$$X_1 = \frac{A1 \times m0 \times 100 \times 25 \times 1 \times 100}{A0 \times m1 \times 1 \times 100 \times 25 \times (100 - W)},$$

де A_1 – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина випробуваного розчину хлорогенової кислоти;

m_1 – маса наважки досліджуваної сировини;

m_0 – маса наважки хлорогенової кислоти в розчині порівняння хлорогенової кислоти;

W – втрата в масі при висушуванні в досліджуваному препараті, %.

Приготування розчину порівняння хлорогенової кислоти. Близько 0,10 г (точна наважка) хлорогенової кислоти (Sigma-Aldrich кат № C3878 або аналогічний) вміщають у мірну колбу ємністю 100,00 мл, розчиняють у 80 мл

96 % спирту етилового Р, доводять об'єм розчину спиртом етиловим 96 % до позначки, перемішують. Термін придатності розчину 1 міс при зберіганні в добре закупореній тарі в прохолодному, захищеному від світла місці.

1,00 мл отриманого розчину вміщують в мірну колбу об'ємом 25,00 мл, додають 2 мл 0,5 М хлористоводневої кислоти, 2 мл розчину натрію нітриту і натрію молібдату та 1 мл розчину натрію гідроксиду розведеного. Доводять до позначки водою і перемішують (випробуваний розчин хлорогенової кислоти).

Приготування 0,5 М розчину хлористоводневої кислоти. У мірну колбу місткістю 100,0 мл поміщають 80 мл води Р, повільно вливають 4,25 мл кислоти хлористоводневої концентрованої і доводять водою Р до мітки. Термін придатності розчину 30 діб.

Приготування розчину натрію нітриту і натрію молібдату. У мірну колбу об'ємом 100,0 мл вміщують 10,0 г натрію нітриту Р та 10,0 г натрію молібдату. Розчиняють у невеликій кількості води, доводять тим же самим розчинником до позначки. Фільтрують через паперовий фільтр. Термін придатності розчину 5 діб.

Приготування розчину натрію гідроксиду розведеного. У мірну колбу ємністю 25,0 мл поміщають 2,125 г натрію гідроксиду Р, розчиняють у воді Р, доводять до позначки тим самим розчинником і перемішують. Термін придатності розчину 5 діб.

Вміст похідних гідроксикоричної кислоти в сировині повинен бути не меншим, ніж 2 %.

Результати визначення суми похідних гідроксикоричної кислоти в сировині трави самосилу гайового наведено в табл. 4.10.

Відносна похибка методу розрахована методом математичної статистики для 5 паралельних визначень суми похідних гідроксикоричної кислоти в сировині трави самосилу гайового з надійністю Р=0,95 становить 2,34 %.

Таблиця 4.10

Метрологічні характеристики кількісного визначення суми похідних гідроксикоричної кислоти в сировині трави самосилу гайового

Знайдено в %	$x_{ср}$	S	P	t (P, f)	$\Delta X_{ср}$	ε %
2,750 2,790 2,651 2,723 2,712	2,725	0,05123	0,95	2,78	0,063	2,34

4.3.1.11.2. *Флавоноїди*

1,00 мл розчину А поміщають у мірну колбу місткістю 25,00 мл, додають 5 мл 70 % спирту етилового, 5 мл 5 % розчину алюмінію хлориду в 70 % спирті етиловому, 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти в 70 % спирті етиловому, доводять об'єм розчину 70 % спиртом етиловим до позначки і перемішують.

Через 30 хв вимірюють оптичну густину одержаного розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 408 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як компенсаційний розчин, що складається з 1,00 мл препарату, 5 мл 70 % спирту етилового і 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти в 70 % спирті етиловому, які вміщені у мірну колбу місткістю 25,00 мл та доведені 70 % спиртом етиловим до позначки.

Паралельно, через 30 хв, вимірюють оптичну густину розчину, що містить 1,00 мл розчину порівняння рутину, приготованого аналогічно випробуваному розчину, використовуючи як компенсаційний розчин, що складається з 1,00 мл розчину порівняння порівняння, 2 мл 5 % розчину

оцтової кислоти в 70 % спирті етиловому, які поміщені в мірну колбу місткістю 25,00 мл і доведені 70 % спиртом етиловим до позначки.

Вміст суми флавоноїдів (X_3) в препараті в перерахунку на рутин в відсотках обчислюють за формулою:

$$X_3 = \frac{A \times m_0 \times P \times 1 \times 25 \times 50 \times 100 \times 100}{A_0 \times m \times 100 \times 100 \times 25 \times 1 \times (100 - W)} = \frac{A \times m_0 \times 50 \times P}{A_0 \times m \times (100 - W)},$$

де A – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину порівняння рутину;

m_0 – маса наважки рутину в розчині порівняння рутину, в г;

P – вміст рутину, зазначений в сертифікаті якості, %;

m – маса наважки досліджуваного препарату;

W – втрата в масі при висушуванні в досліджуваному препараті, %.

Приготування розчину порівняння рутину. Близько 0,025 г (точна наважка) рутину (Fluka кат № 84082 або аналогічний), висушеного при температурі 135°С до постійної ваги, поміщають у мірну колбу ємністю 100,00 мл, розчиняють у 80 мл 96 % спирту етилового Р при нагріванні на водяній бані, після охолодження доводять об'єм розчину спиртом етиловим 96 % до позначки, перемішують. Термін придатності розчину 1 місяць при зберіганні в добре закупореній тарі в прохолодному, захищеному від світла місці.

Приготування 5 % розчину алюмінію хлориду. 5,0 г алюмінію хлориду Р поміщають в мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняють в 70 % спирті етиловому, доводять об'єм розчину 70 % спиртом етиловим до позначки і перемішують. Термін придатності 5 діб.

Приготування 5 % розчину кислоти оцтової. У мірну колбу місткістю 100,0 мл з 70 % спиртом етиловим поміщають 5,0 мл кислоти оцтової льодяної Р і 70 % спиртом етиловим доводять об'єм до позначки, перемішують. Термін придатності розчину 5 діб.

Вміст суми флавоноїдів у перерахуванні на рутин у сировині повинен бути не меншим ніж 0,25 %.

Результати визначення суми флавоноїдів у перерахунку на рутин в сировині трави самосилу гайового наведено в табл. 4.11.

Відносна похибка методу розрахована методом математичної статистики для 5 паралельних визначень суми флавоноїдів у перерахунку на рутин в сировині трави самосилу гайового з надійністю P = 0,95 становить 1,91 %.

Таблиця 4.11

Метрологічні характеристики кількісного визначення суми флавоноїдів у перерахунку на рутин в сировині трави самосилу гайового

Знайдено в %	$x_{ср}$	S	P	t (P, f)	$\Delta X_{ср}$	ε %
0,3897 0,3954 0,3835 0,3850 0,3801	0,3867	0,00594	0,95	2,78	0,0074	1,91

4.3.1.12. *Мікробіологічна чистота*.

Випробування проводять у відповідності з вимогами ДФУ п. 5.1.4, (кат.4), п. 2.6.12, п. 2.6.13.

В сировині допускається загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10^7 бактерій і не більше 10^5 грибів в 1 г.

Не більше 10^2 бактерій *Esherichia coli* в 1 г.

4.3.2. Визначення показників доброякісності сировини трави самосилу гірського

4.3.2.1. *Опис.* Подрібнена сировина складається зі шматочків чотиригранних стебел, сірувато-білих від опушення, фрагментів цілокраїх листків, загнутих донизу, від зеленого до сизувато-зеленого кольору, фрагментів суцвіть – чашечок зеленого кольору та блідо-жовтих квіток. Запах сировини специфічний. Смак гіркуватий.

4.3.2.2. *Мікроскопія*. Аналітичну пробу для визначення достовірності просіюють крізь сито з діаметром отворів 0,2 мм за ГОСТ 4403-91. Частину просіву використовують для виготовлення мікропрепаратів.

При розгляді під мікроскопом повинні бути видні наступні елементи: З адаксіального боку листків криючі волоски розміщені більш-менш рівномірно по усій поверхні листкової пластинки, а також по її краю, орієнтовані акроскопно. З абаксіальної сторони криючі волоски також акроскопні, сконцентровані переважно вздовж центральної та бічних жилок, а також по краю листкової пластинки. Основні клітини епідерми адаксіальної поверхні дрібні, видовжені, неправильної форми, з тонкими дугоподібними, ледь хвилястими чи майже прямими антиклінальними стінками, в проекції багатокутні, з гострими чи тупими закругленими суміжними кутами. Чашечка густо опушена, окрім верхівки зубців. Зубці видовжені, термінально загострені, латеральні сторони увігнуті.

4.3.2.3. *Ідентифікація*.

Приготування розчину А. 5,00 г (точна наважка) досліджуваної сировини вносять в конічну колбу, обладнану зворотним холодильником, додають 50 мл 70 % етилового спирту та витримують на киплячому водяному огрівнику протягом 45 хв. Після цього екстракт охолоджують до кімнатної температури та фільтрують через фільтр «червона стрічка» в мірну колбу об'ємом 100,00 мл. Екстракцію проводять ще раз та доводять об'єм витягів до 100,00 мл 70 % етиловим спиртом.

4.3.2.3.1. До 3 мл розчину А додають 0,5 мл 50 % розчину заліза (III) хлориду Р. Має спостерігатися темно-коричневе забарвлення з зеленим відтінком, яке зникає при додаванні 0,5 мл кислоти сірчаної розведеної Р (поліфенольні сполуки).

4.3.2.3.2. До 2 мл розчину А додають 2 мл 1 % розчину нінгідрину Р спиртового і нагрівають на водяній бані протягом 2 хв при постійному перемішуванні. Утворюється фіолетове забарвлення (амінокислоти).

4.3.2.3.3. *Хлорогенова кислота, цикорієва кислота, рутин*.

На лінію старту хроматографічної пластинки «Kieselgel 60 F_{254}» розміром 4×10 см або аналогічної наносять 5 мкл розчину А. Пластинку сушать на повітрі протягом 5 хв, вміщають у камеру з системою розчинників етилацетат-льодяна оцтова кислота-мурашина кислота-вода (100:11:11:26) і хроматографують висхідним способом. Коли фронт розчинників пройде біля 8 см від лінії старту, пластинку виймають з камери, висушують на повітрі протягом 10 хв та послідовно обприскують 1 % розчином дифенілборилоксиетиламіну в метанолі та 5 % розчином поліетиленгліколю-4000 в етанолі.

Після обприскування пластинку висушують та переглядають за довжини хвилі 365 нм. На хроматограмі розчину А мають виявлятися наступні хроматографічні зони: зона помаранчевого кольору з R_f біля 0,4 (рутин), зона блакитного кольору з R_f біля 0,5 (хлорогенова кислота) та зона блакитного кольору з R_f біля 0,8 (цикорієва кислота).

Примітки:	1. Приготування 1 % розчину дифеніл-борилоксиетиламіну. 1 г дифенілборилоксиетиламіну (Sigma-Aldrich кат № 8.41636 або аналогічний) вміщують в мірну колбу об'ємом 100 мл, розчиняють в 30 мл метанолу, доводять метанолом до мітки та перемішують. Термін придатності розчину 1 місяць при зберіганні у холодильнику.

	2. Приготування 5 % розчину поліетиленгліколю-4000. 5 г поліетиленгліколю-4000 (Sigma-Aldrich кат №P3265 або аналогічний) вміщують в мірну колбу об'ємом 100 мл, розчиняють в 30 мл етанолу, доводять етанолом до мітки та перемішують. Термін придатності розчину 1 місяць при зберіганні у холодильнику.

4.3.2.4. *Важкі метали*. Не більше 0,001 % в препараті (ДФУ, п. 2.4.27).

4.3.2.5. *Втрата в масі при висушуванні*. Не більше 10 % (ДФУ, п. 2.2.32).

4.3.2.6. *Вміст загальної золи*. Не більше 10 % (ДФУ п. 2.4.16).

4.3.2.7. *Частинок, що проходять крізь сито з діаметром отворів 0,2 мм.* Частинок, що проходять крізь сито з діаметром отворів 0,2 мм повинно бути не більше 10 % (ДФУ п. 2.1.4).

4.3.2.8. *Органічних домішо*к. Не більше 2 % (ДФУ п. 2.8.2).

4.3.2.9. *Мінеральних домішок*. Не більше 1 % (ДФУ п. 2.8.2).

4.3.2.10. *Маса вмісту упаковки*. Маса вмісту однієї упаковки повинна знаходиться в межах від 47,5 г до 52,5 г.

4.3.2.11. *Кількісне визначення*

4.3.2.11.1. *Похідні гідроксикоричної кислоти*

1,00 мл розчину А вміщують в мірну колбу об'ємом 25,00 мл, додають 2 мл 0,5 М хлористоводневої кислоти, 2 мл розчину натрію нітриту і натрію молібдату та 1 мл розчину натрію гідроксиду розведеного. Доводять до позначки водою і перемішують (випробуваний розчин).

Вимірюють оптичну густину випробуваного розчину та випробуваного розчину хлорогенової кислоти за довжини хвилі 505 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи в якості компенсаційного розчин, аналогічний за складом досліджуваному, але без додавання розчину натрію нітриту і натрію молібдату.

Обчислюють відсотковий вміст похідних гідроксикоричної кислоти (X_1),у відсотках, у перерахунку на хлорогенову кислоту, за наступною формулою:

$$X_1 = \frac{A1 \times m0 \times 100 \times 25 \times 1 \times 100}{A0 \times m1 \times 1 \times 100 \times 25 \times (100 - W)},$$

де A_1 – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина випробуваного розчину хлорогенової кислоти;

m_1 – маса наважки досліджуваної сировини;

m_0 – маса наважки хлорогенової кислоти в розчині порівняння хлорогенової кислоти;

W – втрата в масі при висушуванні в досліджуваному препараті, %.

Приготування розчину порівняння хлорогенової кислоти. Близько 0,10 г (точна наважка) хлорогенової кислоти (Sigma-Aldrich кат № C3878 або аналогічний) вміщають у мірну колбу ємністю 100,00 мл, розчиняють у 80 мл 96 % спирту етилового Р, доводять об'єм розчину спиртом етиловим 96 % до позначки, перемішують. Термін придатності розчину 1 міс при зберіганні в добре закупореній тарі в прохолодному, захищеному від світла місці.

1,00 мл отриманого розчину вміщують в мірну колбу об'ємом 25,00 мл, додають 2 мл 0,5 М хлористоводневої кислоти, 2 мл розчину натрію нітриту і натрію молібдату та 1 мл розчину натрію гідроксиду розведеного. Доводять до позначки водою і перемішують (випробуваний розчин хлорогенової кислоти).

Приготування 0,5 М розчину хлористоводневої кислоти. У мірну колбу місткістю 100,0 мл поміщають 80 мл води Р, повільно вливають 4,25 мл кислоти хлористоводневої концентрованої і доводять водою Р до мітки. Термін придатності розчину 30 діб.

Приготування розчину натрію нітриту і натрію молібдату. У мірну колбу об'ємом 100,0 мл вміщують 10,0 г натрію нітриту Р та 10,0 г натрію молібдату. Розчиняють у невеликій кількості води, доводять тим же самим розчинником до позначки. Фільтрують через паперовий фільтр. Термін придатності розчину 5 діб.

Приготування розчину натрію гідроксиду розведеного. У мірну колбу ємністю 25,0 мл поміщають 2,125 г натрію гідроксиду Р, розчиняють у воді Р, доводять до позначки тим самим розчинником і перемішують. Термін придатності розчину 5 діб.

Вміст похідних гідроксикоричної кислоти в препараті повинен бути не меншим, ніж 1,5 %.

Результати визначення суми похідних гідроксикоричної кислоти в сировині трави самосилу гірського наведено в табл. 4.12.

Відносна похибка методу розрахована методом математичної статистики для 5 паралельних визначень суми похідних гідроксикоричної кислоти в сировині трави самосилу гірського з надійністю Р=0,95 становить 1,06 %.

Таблиця 4.12

Метрологічні характеристики кількісного визначення суми похідних гідроксикоричної кислоти в сировині трави самосилу гірського

Знайдено в %	$x_{ср}$	S	P	t (P, f)	$\Delta X_{ср}$	ε %
1,920 1,945 1,933 1,920 1,901	1,924	0,01645	0,95	2,78	0,0205	1,06

4.3.2.11.2. *Флавоноїди*

1,00 мл розчину А поміщають у мірну колбу місткістю 25,00 мл, додають 5 мл 70 % спирту етилового, 5 мл 5 % розчину алюмінію хлориду в 70 % спирті етиловому, 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти в 70 % спирті етиловому, доводять об'єм розчину 70 % спиртом етиловим до позначки і перемішують.

Через 30 хв вимірюють оптичну густину одержаного розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 408 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як компенсаційний розчин, що складається з 1,00 мл препарату, 5 мл 70 % спирту етилового і 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти в 70 % спирті етиловому, які вміщені у мірну колбу місткістю 25,00 мл та доведені 70 % спиртом етиловим до позначки.

Паралельно, через 30 хв, вимірюють оптичну густину розчину, що містить 1,00 мл розчину порівняння рутину, приготованого аналогічно випробуваному розчину, використовуючи як компенсаційний розчин, що складається з 1,00 мл розчину порівняння, 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти в 70 % спирті етиловому, які поміщені в мірну колбу місткістю 25,00 мл і доведені 70 % спиртом етиловим до позначки.

Вміст суми флавоноїдів (X_3) в препараті в перерахунку на рутин в відсотках обчислюють за формулою:

$$X_3 = \frac{A \times m_0 \times P \times 1 \times 25 \times 50 \times 100 \times 100}{A_0 \times m \times 100 \times 100 \times 25 \times 1 \times (100 - W)} = \frac{A \times m_0 \times 50 \times P}{A_0 \times m \times (100 - W)},$$

де A – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину порівняння рутину;

m_0 – маса наважки рутину в розчині порівняння рутину, в г;

P – вміст рутину, зазначений в сертифікаті якості, %;

m – маса наважки досліджуваного препарату;

W – втрата в масі при висушуванні в досліджуваному препараті, %.

Приготування розчину порівняння рутину. Близько 0,025 г (точна наважка) рутину (Fluka кат № 84082 або аналогічний), висушеного при температурі 135°С до постійної ваги, поміщають у мірну колбу ємністю 100,00 мл, розчиняють у 80 мл 96 % спирту етилового Р при нагріванні на водяній бані, після охолодження доводять об'єм розчину спиртом етиловим 96 % до позначки, перемішують. Термін придатності розчину 1 місяць при зберіганні в добре закупореній тарі в прохолодному, захищеному від світла місці.

Приготування 5 % розчину алюмінію хлориду. 5,0 г алюмінію хлориду Р поміщають в мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняють в 70 % спирті етиловому, доводять об'єм розчину 70 % спиртом етиловим до позначки і перемішують. Термін придатності 5 діб.

Приготування 5 % розчину кислоти оцтової. У мірну колбу місткістю 100,0 мл з 70 % спиртом етиловим поміщають 5,0 мл кислоти оцтової льодяної Р і 70 % спиртом етиловим доводять об'єм до позначки, перемішують. Термін придатності розчину 5 діб.

Вміст суми флавоноїдів у перерахуванні на рутин у препараті повинен бути не меншим ніж 0,20 %.

Результати визначення суми флавоноїдів у перерахунку на рутин в сировині трави самосилу гірського наведено в табл. 4.13.

Відносна похибка методу розрахована методом математичної статистики для 5 паралельних визначень суми флавоноїдів у перерахунку на рутин в сировині трави самосилу гірського з надійністю Р = 0 ,95 становить 2,44 %.

Таблиця 4.13

Метрологічні характеристики кількісного визначення суми флавоноїдів у перерахунку на рутин в сировині трави самосилу гірського

Знайдено в %	$x_{ср}$	S	P	t (P, f)	$\Delta X_{ср}$	ε %
0,2301 0,2280 0,2201 0,2301 0,2233	0,2263	0,00445	0,95	2,78	0,0055	2,44

4.3.2.12. *Мікробіологічна чистота*.

Випробування проводять у відповідності з вимогами ДФУ п. 5.1.4, (кат.4), п. 2.6.12, п. 2.6.13.

В сировині допускається загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10^7 бактерій і не більше 10^5 грибів в 1 г.

Не більше 10^2 бактерій *Esherichia coli* в 1 г.

4.4 Стандартизація самосилу гайового у рослинних сумішах

Для визначення підходів для стандартизації трави самосилу гайового в рослинних сумішах нами було виготовлено наступні рослинні суміші:

Суміш з вмістом самосилу гайового: трави самосилу гайового - 1 г, трави деревію звичайного – 1 г, листя кропиви дводомної – 1 г, листя м′яти перцевої – 1 г, кореневищ лепехи звичайної - 1г, плодів шипшини – 1 г, коренів з кореневищами елеутерококу колючого – 1 г;

Суміш без вмісту самосилу гайового: трави деревію звичайного – 1 г, листя кропиви дводомної – 1 г, листя м′яти перцевої – 1 г, кореневищ лепехи звичайної - 1г, плодів шипшини – 1 г, коренів з кореневищами елеутерококу колючого – 1 г.

Екстракти зазначених сумішей було проаналізовано на хроматографі Shimadzu ser. 20, обладнаному діодно-матричним детектором, автосамплером і термостатом з застосуванням наступних хроматографічних параметрів: колонка Phenomenex Luna C18 (2), розміром 250 мм х 4,6 мм, розмір частинок 5 мкм; температура колонки – 350С; довжина хвилі детектування – 330 нм; швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв; об'єм проби, що вводився – 5 мкл.

Рухома фаза:

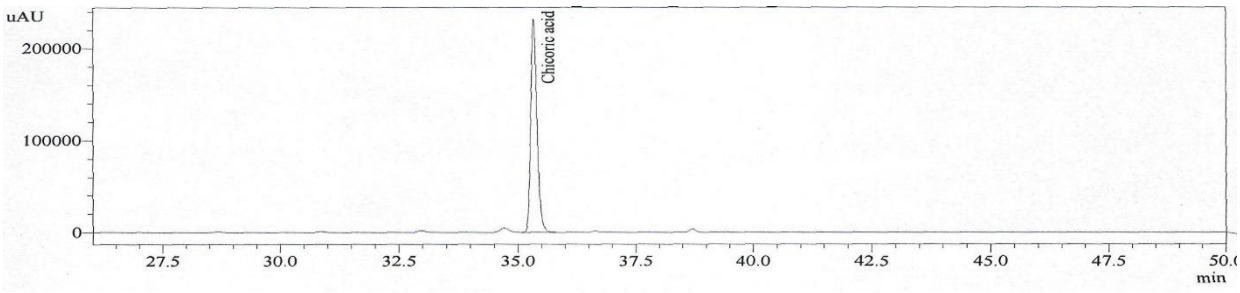
Час, хв	0-5	5-35	35-40	40-60	60-65	65-70	70-85
Елюент А,%	95	95→75	75	75→50	50→20	20	95
Елюент Б,%	5	5→25	25	25→50	50→80	80	5

Елюент А: 0.1 % розчин трифтороцтової кислоти в воді;

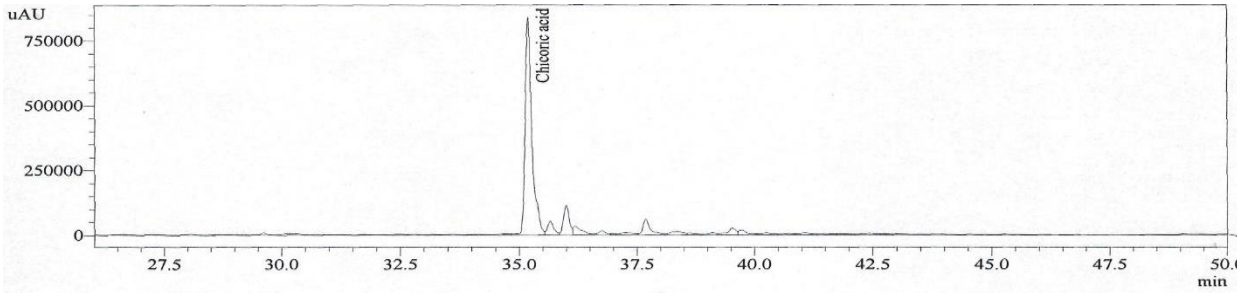
Елюент Б: 0.1 % розчин трифтороцтової кислоти в ацетонітрилі.

Паралельно, в цих же умовах було проаналізовано екстракт трави самосилу гайового та розчин порівняння цикорієвої кислоти.

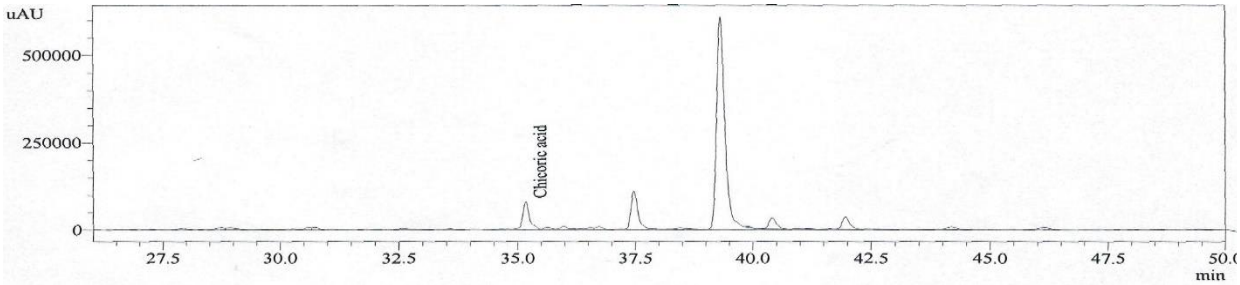
Хроматограми розчину порівняння цикорієвої кислоти (А), екстракту трави самосилу гайового (Б), суміші з вмістом трави самосилу гайового (В), та суміші без вмісту самосилу гайового представлені на рис. 4.19.



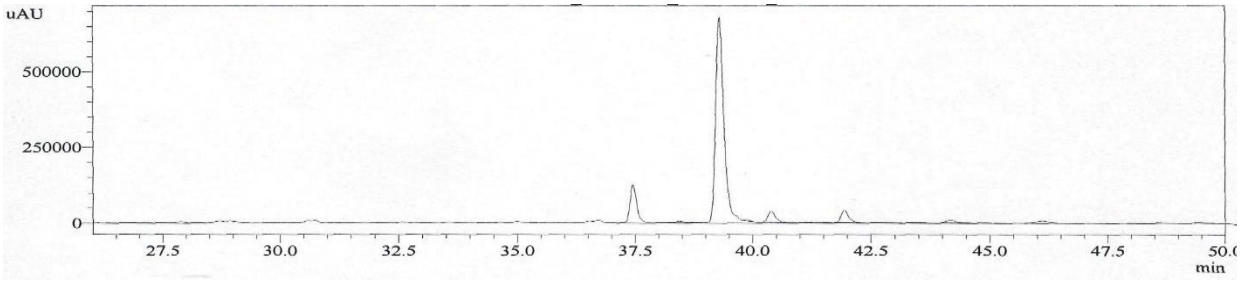
А.



Б.



В.



Г

Рис. 4.19. Хроматограми досліджуваних розчинів:

А – розчин порівняння цикорієвої кислоти,

Б – екстракту самосилу гайового,

В – екстракт суміші з вмістом самосилу гайового,

Г – екстракт суміші без вмісту самосилу гайового

Як можна бачити з рис. 4.19 на хроматограмах розчину порівняння цикорієвої кислоти (А), екстракту трави самосилу гайового (Б), екстракту суміші з вмістом трави самосилу гайового (В) присутній пік цикорієвої кислоти, на хроматограмі екстракту суміші без вмісту самосилу гайового даний пік відсутній (Г).

На підставі отриманих даних нами зроблено висновок, що у рослинних сумішах, до складу яких входять трава самосилу гайового, трава деревію звичайного, листя кропиви дводомної, листя м′яти перцевої, кореневища лепехи звичайної, плоди шипшини, корені з кореневищами елеутерококу колючого, присутність та вміст самосилу гайового можна визначати за наявністю та кількісним вмістом цикорієвої кислоти.

Висновки до розділу 4

1. Проведено визначення морфолого-анатомічних ознак сировини самосилу гайового та самосилу гірського. Виявлено анатомо-морфологічні ознаки, що характерні для кожного з досліджених видів сировини та дозволяють ідентифікувати досліджувані об’єкти.

2. Обґрунтовано вибір оптимальних умов екстракції біологічно активних речовин із обох видів сировини. Встановлено, що найбільша кількість БАР може бути екстраговано з трави самосилу гайового. Оптимальними умовами екстракції є: використання сировини зі ступенем подрібнення 2-3 мм; в якості екстрагенту застосовувати 70 % етиловий спирт; співвідношення між сировиною та екстрагентом – 1:20; час екстракції – 45 хвилин.

3. З метою стандартизації сировини визначено показники доброякісності для трави самосилу гайового та трави самосилу гірського. Описано способи ідентифікації та визначення кількісного вмісту основних груп біологічно активних речовин, які використано для розробки проектів МКЯ.

5. Проведено визначення підходів для стандартизації сировину самосилу гайового у рослинних сумішах. Визначено, що ідентифікацію досліджуваного

виду сировини можна проводити за наявністю та кількісним вмістом цикорієвої кислоти.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Anzina K. M., Gudzenko A. V., Kalko K. O. Preliminary phytochemical screening and antioxidant activities of the extract of *Teucrium chamaedrys* L. *PharmacologyOnLine*. 2021. V. 2, P. 972-977. (Scopus). (*Особистий внесок* – брала участь у плануванні та проведені експерименту, в обговоренні, обробці результатів дослідження та підготовці статті)

РОЗДІЛ 5.
ВИЗНАЧЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ОДЕРЖАННЯ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ СУХОГО ЕКСТРАКТУ САМОСИЛУ ГАЙОВОГО

5.1 Технологічні параметри одержання сухого екстракту самосилу гайового

За попередніми дослідженнями встановлено, що найбільшу кількість БАР може бути екстраговано з трави самосилу гайового. Оптимальними умовами екстракції є: використання сировини зі ступенем подрібнення 2-3 мм; в якості екстрагенту застосовувати 70 % етиловий спирт; співвідношення між сировиною та екстрагентом – 1:20; час екстракції – 45 хвилин, кратність екстракції - 2.

Для отримання сухого екстракту досліджувану сировину трави самосилу гайового екстрагували екстрагентом за температури 950С-1000С з подальшим випаровуванням екстрагента.

Відповідно до результатів сформовано оптимальні технологічні параметри одержання сухого екстракту з трави самосилу гайового, що наведені у таблці 5.1.

Накажку подрібненої сировини з розміром часток, що проходять крізь сито з діаметром отворів 2 мм, поміщали в екстрактор, додавали відповідний екстрагент (70 % етиловий спирт) у співвідношенні сировина-екстрагент 1:20 та екстрагували за температури 95^0С-100^0С протягом 45 хвилин двічі.

Отримані екстракти охолоджували, потім зливали, після чого сировину віджимали та промивали екстрагентом. Отримані екстракти обєднували, відстоювали та фільтрували.

Наступним етапом проводили концентрування за допомогою вакуумного випаровувача та отримували густий екстракт. Після цього

отриманий екстракт висушували у вакуумній сушильній шафі при температурі 30–40ºС і тиску 80- 87кПа.

Таблиця 5.1

Оптимальні умови виготовлення сухого екстракту

Показник	Значення
Екстрагент	70 % етиловий спирт
Ступінь подрібнення сировини	2-3 мм
Співвідношення сировина-екстрагент	1:20
Температура екстракції	95–100ºС
Час екстракції	45 хв
Кратність екстракції	2
Випаровування вихідного екстракту	30–40ºС (80–87кПа)
Висушування екстракту	30–40ºС (80–87кПа)

В результаті було отримано сухий екстракт, що являв собою порошок темно-коричневого кольору з зеленуватим відтінком, що має специфічний запах.

Отже технологія отримання сухого екстракту складається з наступних етапів (рис. 5.1):

I етап – підготовка рослинної сировини;

II етап – приготування екстрагенту;

III етап – отримання витяжки;

IV етап – пресування шроту;

V етап – відстоювання витяжки;

VI етап – фільтрування витяжки;

VII етап – упарювання екстракту;

VIII етап – висушування концентрату;

IX етап – фасування та упаковка готового сухого екстракту.

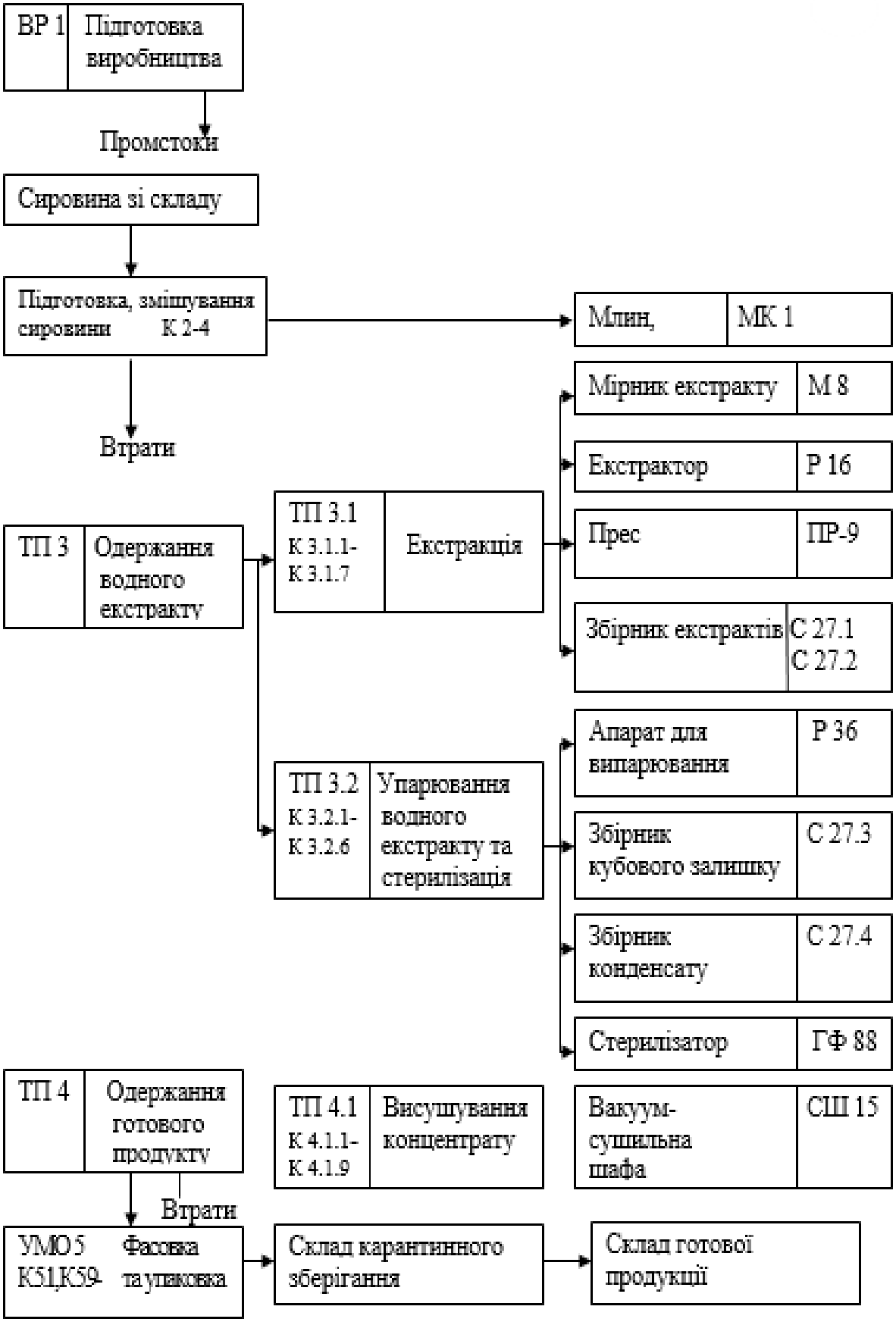


Рис. 5.1 Схема технологічного процесу

5.2 Визначення показників доброякісності сухого екстракту трави самосилу гайового

5.2.1. *Опис*. Порошок темно-коричневого кольору з зеленуватим відтінком, що має специфічний запах.

5.2.2. *Ідентифікація*.

Приготування розчину А. 0,50 г (точна наважка) досліджуваного сухого екстракту вміщують в мірну колбу об'ємом 50 мл, розчиняють в 70 мл 70 % етилового спирту, доводять тим же розчинником до мітки та перемішують.

5.2.2.1. До 3 мл розчину А додають 0,5 мл 50 % розчину заліза (III) хлориду Р. Має спостерігатися темно-коричневе забарвлення з зеленим відтінком, яке зникає при додаванні 0,5 мл кислоти сірчаної розведеної Р (поліфенольні сполуки).

5.2.2.2. До 2 мл розчину А додають 2 мл 1 % розчину нінгідрину Р спиртового і нагрівають на водяній бані протягом 2 хв при постійному перемішуванні. Утворюється фіолетове забарвлення (амінокислоти).

5.2.2.3. Хлорогенова кислота, цикорієва кислота, рутин.

На лінію старту хроматографічної пластинки «Kieselgel 60 F_{254}» розміром 4×10 см або аналогічної наносять 5 мкл розчину А. Пластинку сушать на повітрі протягом 5 хв, вміщають у камеру з системою розчинників етилацетат-льодяна оцтова кислота-мурашина кислота-вода (100:11:11:26) і хроматографують висхідним способом. Коли фронт розчинників пройде біля 8 см від лінії старту, пластинку виймають з камери, висушують на повітрі протягом 10 хв та послідовно обприскують 1 % розчином дифенілборилоксиетиламіну в метанолі та 5 % розчином поліетиленгліколю-4000 в етанолі.

Після обприскування пластинку висушують та переглядають за довжини хвилі 365 нм. На хроматограмі розчину А мають виявлятися наступні хроматографічні зони: зона помаранчевого кольору з R_f біля 0,4 (рутин), зона

блакитного кольору з R_f біля 0,5 (хлорогенова кислота) та зона блакитного кольору з R_f біля 0,8 (цикорієва кислота).

Примітки:	1. Приготування 1 % розчину дифеніл-борилоксиетиламіну. 1 г дифенілборилоксиетиламіну (Sigma-Aldrich кат № 8.41636 або аналогічний) вміщують в мірну колбу об'ємом 100 мл, розчиняють в 30 мл метанолу, доводять метанолом до мітки та перемішують. Термін придатності розчину 1 місяць при зберіганні у холодильнику. 2. Приготування 5 % розчину поліетиленгліколю-4000. 5 г поліетиленгліколю-4000 (Sigma-Aldrich кат №P3265 або аналогічний) вміщують в мірну колбу об'ємом 100 мл, розчиняють в 30 мл етанолу, доводять етанолом до мітки та перемішують. Термін придатності розчину 1 місяць при зберіганні у холодильнику.

.

На рис. 5.2 представлено ТШХ хроматограму розчуину А сухого естракту самосилу гайового.

Згідно даних, представлених на рис. 5.2, на хроматограмі розчину А сухого екстракту самосила гайового представлені наступні хроматографічн зони: зона помаранчевого кольору з R_f біля 0,4 (рутин), зона блакитного кольору з R_f біля 0,5 (хлорогенова кислота) та зона блакитного кольору з R_f біля 0,8 (цикорієва кислота).

Ідентифікацію зазначених на рис. 5.1 компонентів підтверджувалась методом ВЕРХ. Зокрема, на рис. 5.3 наведено ВЕРХ-хроматограму розчину А сухого екстракту трави самосилу гайового.

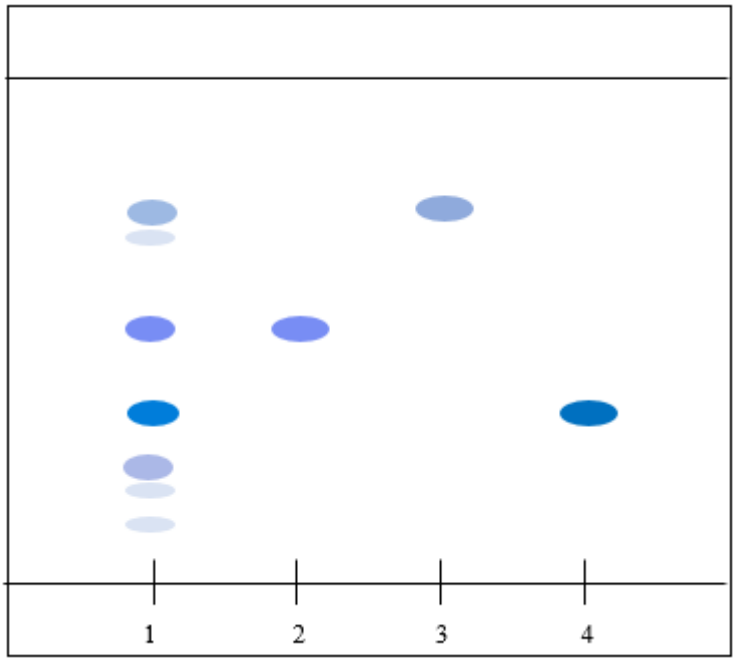


Рис. 5.2 ТШХ-хроматограма визначення деяких гідроксикоричних кислот та флавоноїдів у сухому екстракты самосилу гайового (1 – розчин А сухого екстракту самосилу гайового, 2 – розчин хлорогенової кислоти, 3 – розчин цикорієвої кислоти, 4 – розчин рутину).

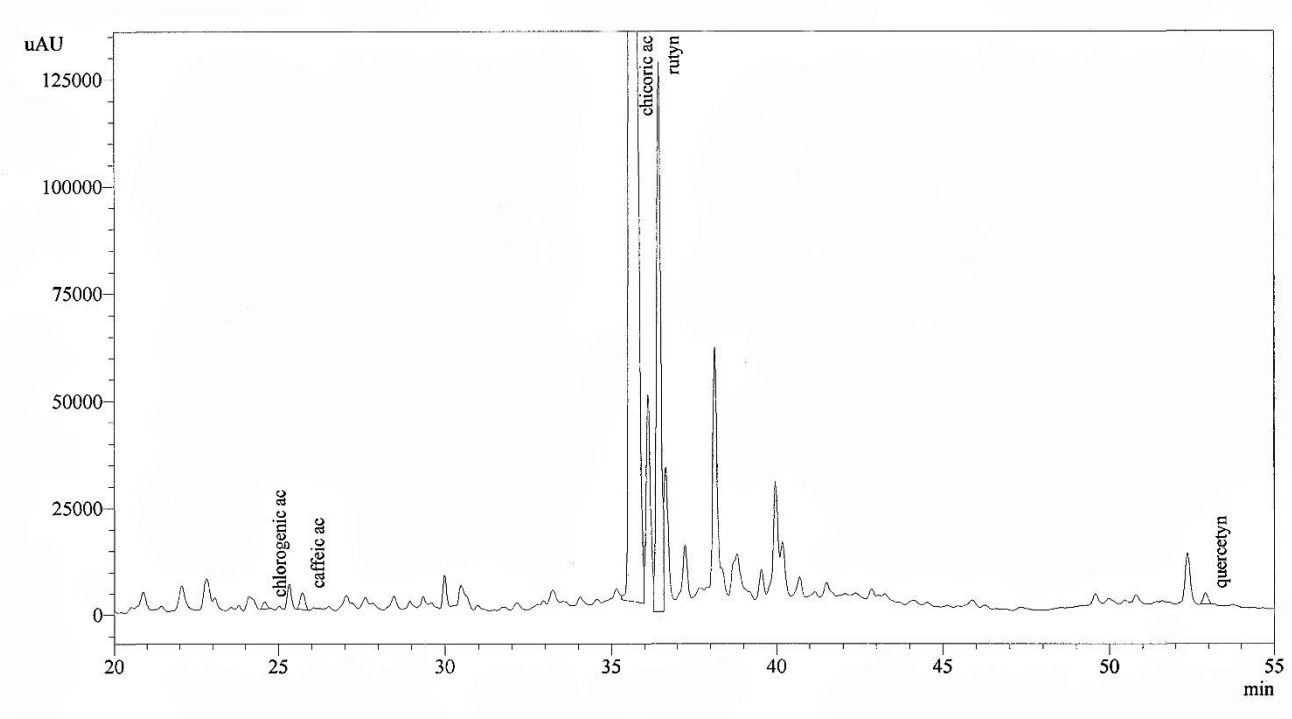


Рис. 5.3 Хроматограма розчину сухого екстракту трави самосилу гайового.

Згідно з даними, представлених на даних хроматограмах, час виходу піків хлорогенової кислоти, цикорієвої кислоти та рутину складав відповідно 24,57 хв, 35,62 хв та 36,43 хв, відповідно.

5.2.3. *Важкі метали*. Не більше 0,001 % в препараті (ДФУ, 2.4.27).

5.2.4. *Втрата в масі при висушуванні.* Не більше 8 % (ДФУ, п. 2.2.32).

5.2.5. *Вміст загальної золи*. Не більше 8 % (ДФУ п. 2.4.16).

5.2.6. *Кількісне визначення*

5.2.6.1. *Похідні гідроксикоричної кислоти*

1,00 мл розчину А вміщують в мірну колбу об'ємом 25,00 мл, додають 2 мл 0,5 М хлористоводневої кислоти, 2 мл розчину натрію нітриту і натрію молібдату та 1 мл розчину натрію гідроксиду розведеного. Доводять до позначки водою і перемішують (випробуваний розчин).

Вимірюють оптичну густину випробуваного розчину хлорогенової кислоти за довжини хвилі 505 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи в якості компенсаційного розчину, аналогічний за складом досліджуваному, але без додавання розчину натрію нітриту і натрію молібдату.

Обчислюють відсотковий вміст похідних гідроксикоричної кислоти (X_1),у відсотках, у перерахунку на хлорогенову кислоту, за наступною формулою:

$$X_1 = \frac{A1 \times m0 \times 50 \times 25 \times 1 \times 100}{A0 \times m1 \times 1 \times 100 \times 25 \times (100 - W)},$$

де A_1 – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина випробуваного розчину хлорогенової кислоти;

m_1 – маса наважки досліджуваного препарату;

m_0 – маса наважки хлорогенової кислоти в розчині порівняння хлорогенової кислоти;

W – втрата в масі при висушуванні в досліджуваному препараті, %.

Приготування розчину порівняння хлорогенової кислоти. Близько 0,030 г (точна наважка) хлорогенової кислоти (Sigma-Aldrich кат № С3878 або аналогічний) вміщають у мірну колбу ємністю 100,00 мл, розчиняють у 80 мл 96 % спирту етилового Р, доводять об'єм розчину спиртом етиловим 96 % до позначки, перемішують. Термін придатності розчину 1 міс при зберіганні в добре закупореній тарі в прохолодному, захищеному від світла місці.

1,00 мл отриманого розчину вміщують в мірну колбу об'ємом 25,00 мл, додають 2 мл 0,5 М хлористоводневої кислоти, 2 мл розчину натрію нітриту і натрію молібдату та 1 мл розчину натрію гідроксиду розведеного. Доводять до позначки водою і перемішують (випробуваний розчин хлорогенової кислоти).

Приготування 0,5 М розчину хлористоводневої кислоти. У мірну колбу місткістю 100,0 мл поміщають 80 мл води Р, повільно вливають 4,25 мл кислоти хлористоводневої концентрованої і доводять водою Р до мітки. Термін придатності розчину 30 діб.

Приготування розчину натрію нітриту і натрію молібдату. У мірну колбу об'ємом 100,0 мл вміщують 10,0 г натрію нітриту Р та 10,0 г натрію молібдату. Розчиняють у невеликій кількості води, доводять тим же самим розчинником до позначки. Фільтрують через паперовий фільтр. Термін придатності розчину 5 діб.

Приготування розчину натрію гідроксиду розведеного. У мірну колбу ємністю 25,0 мл поміщають 2,125 г натрію гідроксиду Р, розчиняють у воді Р, доводять до позначки тим самим розчинником і перемішують. Термін придатності розчину 5 діб.

Вміст похідних гідроксикоричної кислоти в препараті повинен бути не меншим, ніж 8,0 %.

Результати визначення суми похідних гідроксикоричної кислоти в сухому екстракті трави самосилу гайового в табл. 5.2.

Відносна похибка методу розрахована методом математичної статистики для 5 паралельних визначень суми похідних гідроксикоричної

кислоти в сухому екстракті самосилу гайового з надійністю P = 0,95 становить 3,01 %.

Таблиця 5.2

Метрологічні характеристики кількісного визначення суми похідних гідроксикоричної кислоти в сухому екстракті самосилу гайового

Знайдено в %	$x_{ср}$	S	P	t (P, f)	$\Delta X_{ср}$	ε %
10,21 10,02 10,34 10,63 10,56	10,352	0,2505	0,95	2,78	0,311	3,01

На рис. 5.5-5.5 представлені УФ-спектри розчину порівняння хлорогенової кислоти та досліджуваного розчину сухого екстракту самосилу гайового.

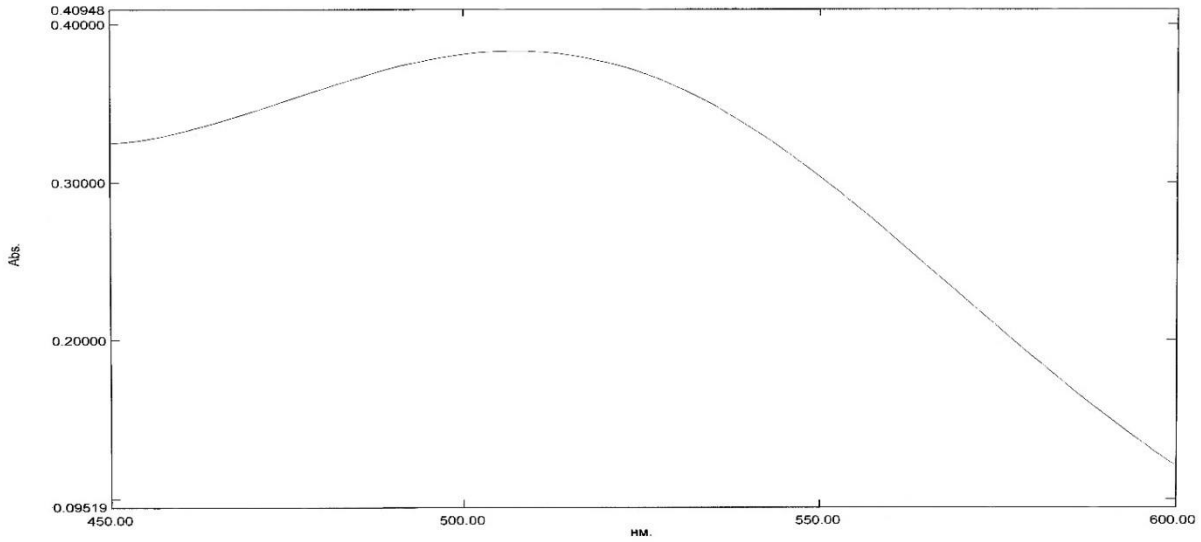


Рис. 5.4 УФ-спектр розчину порівняння хлорогенової кислоти

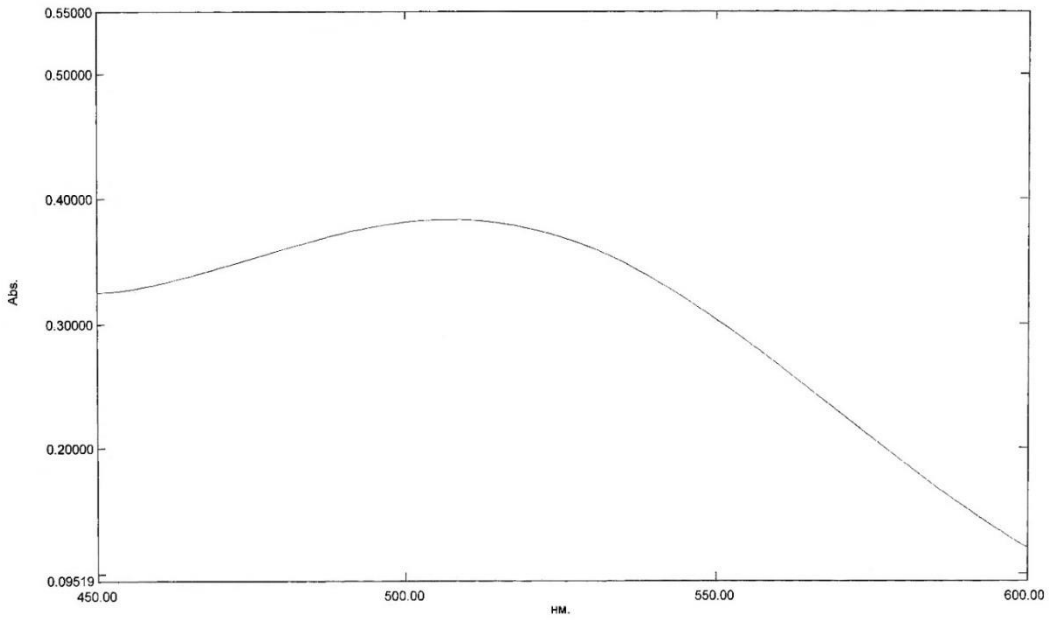


Рис. 5.5 УФ-спектр досліджуваного розчину сухого екстракту самосилу гайового

4.4.3.6.2. *Флавоноїди*

1,00 мл розчину А поміщають у мірну колбу місткістю 25,00 мл, додають 5 мл 70 % спирту етилового, 5 мл 5 % розчину алюмінію хлориду в 70 % спирті етиловому, 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти в 70 % спирті етиловому, доводять об'єм розчину 70 % спиртом етиловим до позначки і перемішують.

Через 30 хв вимірюють оптичну густину одержаного розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 408 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як компенсаційний розчин, що складається з 1,00 мл препарату, 5 мл 70 % спирту етилового і 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти в 70 % спирті етиловому, які вміщені у мірну колбу місткістю 25,00 мл та доведені 70 % спиртом етиловим до позначки.

Паралельно, через 30 хв, вимірюють оптичну густину розчину, що містить 1,00 мл розчину порівняння рутину, приготованого аналогічно випробуваному розчину, використовуючи як компенсаційний розчин, що складається з 1,00 мл розчину порівняння, 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти

в 70 % спирті етиловому, які поміщені в мірну колбу місткістю 25,00 мл і доведені 70 % спиртом етиловим до позначки.

Вміст суми флавоноїдів (X_3) в препараті в перерахунку на рутин в відсотках обчислюють за формулою:

$$X_3 = \frac{A \times m_0 \times P \times 1 \times 25 \times 50 \times 100 \times 100}{A_0 \times m \times 100 \times 100 \times 25 \times 1 \times (100 - W)} = \frac{A \times m_0 \times 50 \times P}{A_0 \times m \times (100 - W)},$$

де A – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину порівняння рутину;

m_0 – маса наважки рутину в розчині порівняння рутину, в г;

P – вміст рутину, зазначений в сертифікаті якості, %;

m – маса наважки досліджуваного препарату;

W – втрата в масі при висушуванні в досліджуваному препараті, %.

Приготування розчину порівняння рутину. Близько 0,025 г (точна наважка) рутину (Fluka кат № 84082 або аналогічний), висушеного при температурі 135°С до постійної ваги, поміщають у мірну колбу ємністю 100,00 мл, розчиняють у 80 мл 96 % спирту етилового Р при нагріванні на водяній бані, після охолодження доводять об'єм розчину спиртом етиловим 96 % до позначки, перемішують. Термін придатності розчину 1 міс при зберіганні в добре закупореній тарі в прохолодному, захищеному від світла місці.

Приготування 5 % розчину алюмінію хлориду. 5,0 г алюмінію хлориду Р (ДФУ 2001, вид.1, с.172) поміщають в мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняють в 70 % спирті етиловому, доводять об'єм розчину 70 % спиртом етиловим до позначки і перемішують. Термін придатності 5 діб.

Приготування 5 % розчину кислоти оцтової. У мірну колбу місткістю 100,0 мл з 70 % спиртом етиловим поміщають 5 мл кислоти оцтової льодяної Р і 70 % спиртом етиловим доводять об'єм до позначки, перемішують. Термін придатності розчину 5 діб.

Вміст суми флавоноїдів у перерахуванні на рутин у препараті повинен бути не меншим ніж 2,0 %.

Результати визначення суми флавоноїдів у перерахуванні на рутин в сухому екстракті трави самосилу гайового представлено в табл. 5.3.

Відносна похибка методу розрахована методом математичної статистики для 5 паралельних визначень суми флавоноїдів у перерахуванні на рутин в сухому екстракті трави самосилу гайового з надійністю P=0,95 становить 1,69 %.

Таблиця 5.3

Метрологічні характеристики кількісного визначення суми флавоноїдів у перерахуванні на рутин в сухому екстракті трави самосилу гайового

Знайдено в %	$x_{ср}$	S	P	t (P, f)	$\Delta X_{ср}$	ε %
2,51 2,57 2,49 2,50 2,55	2,524	0,0343	0,95	2,78	0,0427	1,69

На рис. 5.6-5.7 представлені УФ-спектри розчину порівняння рутину та досліджуваного розчину сухого екстракту самосилу гайового.

5.2.7. *Мікробіологічна чистота*.

Випробування проводять у відповідності з вимогами ДФУ п. 5.1.4, Категорія 4BN.

В препараті допускається загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10^4 бактерій і не більше 10^2 грибів в 1 г препарату.

Допускається не більше 10^2 ентеробактерій та деяких інших грам негативних бактерій в 1 г препарату.

Не допускається наявність *Salmonella* в 10 г препарату.

Не допускається наявність *Esherichia coli* в 1г препарату.

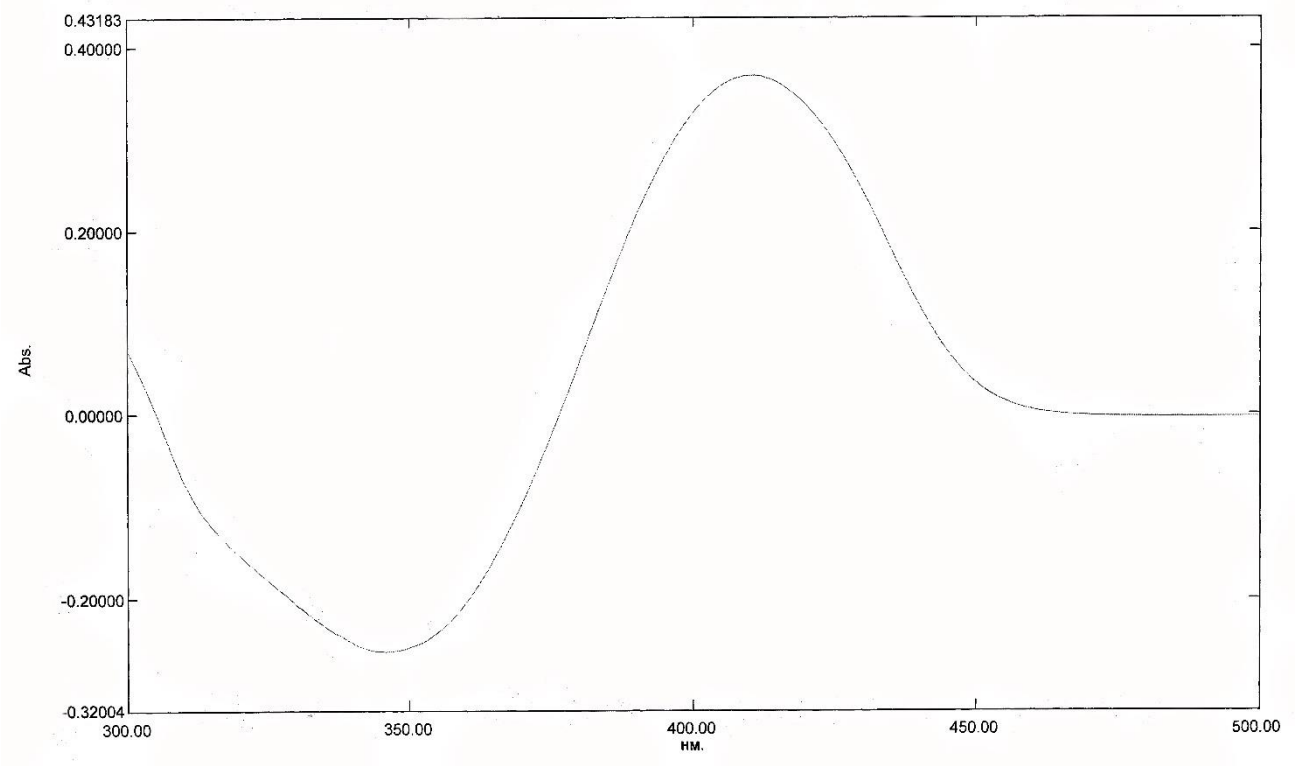


Рис. 5.6 УФ-спектр розчину порівняння рутину

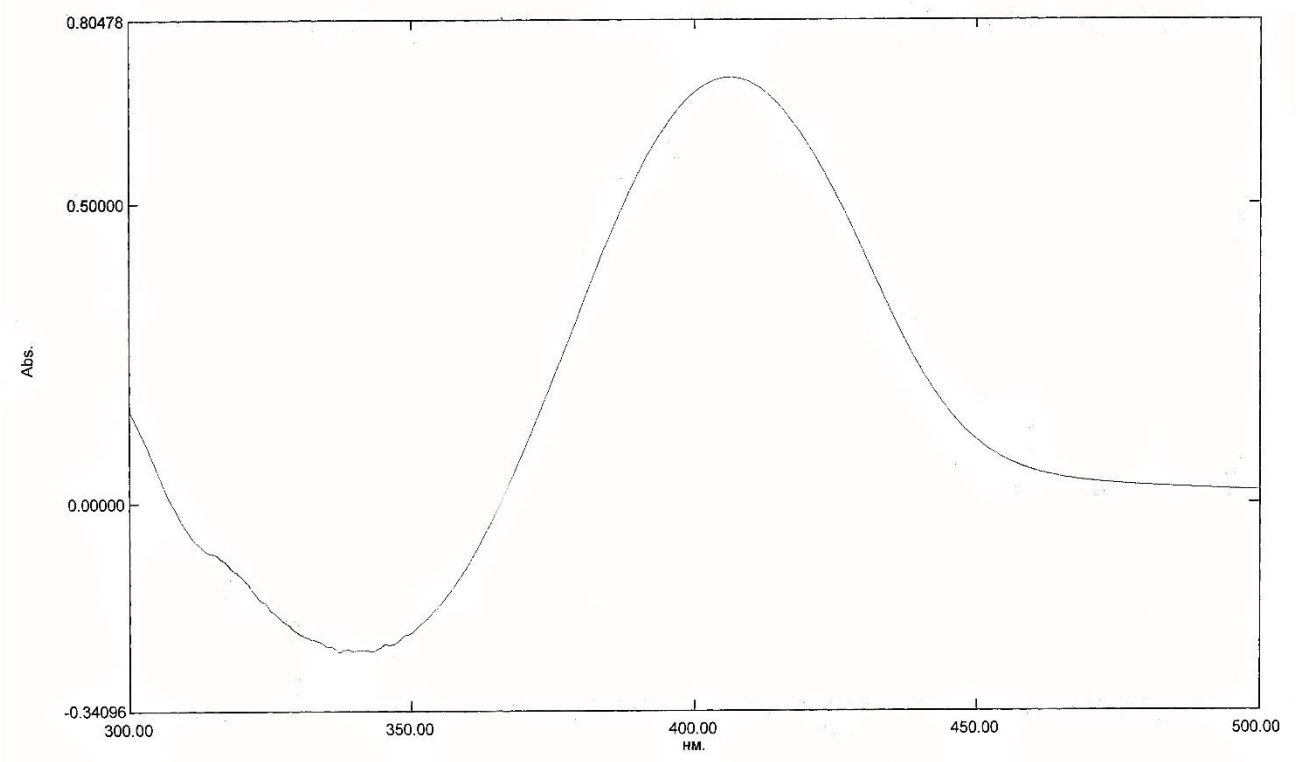


Рис. 5.7 УФ-спектр досліджуваного розчину сухого екстракту самосилу гайового

5.3 Дослідження гострої токсичності

Вивчення гострої токсичності має важливе значення для безпеки використання фармацевтичних препаратів. Воно дозволяє визначити, наскільки не шкідливою є дія конкретного лікарського засобу чи лікарської сировини на організм людини або тварини. Дані що до гострої токсичності допомагають забезпечувати контроль за побічними ефектами та в цілому за ефективністю застосування медичних засобів, оскільки безпосередньо пов’язані з їх дозуванням [172, 173].

Основні аспекти оцінки гострої токсичності включають встановлення максимальної безпечної дози, дослідження токсичності для конкретних органів і систем організму, визначення LD_{50} – дози при якої відбувається загибель 50 % тварин що беруть участь в експерименті, аналіз токсико-кінетики та метаболізму препарату, а також вивчення механізмів дії токсичності.

Визначення гострої токсичності проводили у відділі медичної хімії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ» під керівництвом завідувача відділу, д. біол. н. О. Є. Ядловського. Дослідження проводили за методом В.Б. Прозоровського [174].

Дослідження проводились відповідно до вимог GLP, Міністерства охорони здоров'я України (МОЗ) та правил European Convention for the Protection of Vertebrate Animals are used with Experimental and other Scientific Purposes" (Strasbourg, 1986) [113, 175, 176, 177, 178, 179, 180].

Для дослідження гострої токсичності сухого екстракту самосилу гайового було використано білих нелінійних мишей масою 19-23 г.

Для ідентифікації тварин використовували систему індивідуальних кольорових міток на їхньому тілі, за допомогою 1 % спиртового розчину діамантового зеленого.

Перед початком експерименту тварин тримали на карантині впродовж 7 днів перед початком досліду. Всі тварини були поділені на групи по п’ять

особин, кожна з груп була поміщена в окрему клітку. Кожна клітка містила деревинну стружку, яку замінювали щодня. Тваринам надавали вільний доступ до стандартного комерційного раціону і води, отже тварини отримували їжу та питво ad libitum (за бажанням). Утримання тварин було стабільним, з циклом світла тривалістю 12 годин світла і 12 годин темряви. В ході експерименту спостерігали за станом тварин та терміном загибелі. Результати враховували в альтернативній формі (кількість загиблих тварин) через 14 діб після одноразового введення [113, 181].

Гостру токсичність вивчали застосовуючи внутрішньо шлунковий шлях введення водно-спиртових розчинів сухого екстракту самосилу гайового. У якості розчинника використано етиловий спирт 70^0 та воду для ін'єкцій. Об'єм введеного в шлунок тварин розчину не перевищував 0,5 мл.

Для кожної миші, яка отримувала дозу сухого екстракту самосилу гайового 5000 мг/кг в 0,5 мл водно-етанолової емульсії, що вводили металевим зондом, містилось: 125 мг сухого екстракту самосилу гайового, 0,2 мл 700 етилового спирту C2H5OH, 0,25 мл aqua pro injectionibus та 0,03 мл емульгатору Твин-80 (одну краплю).

Для кожної миші, яка отримувала дозу сухого екстракту самосилу гайового 4000 мг/кг в 0,5 мл водно-етанолової емульсії, що вводили металевим зондом, містилось: 100 мг сухого екстракту самосилу гайового, 0,2 мл 700 етилового спирту C2H5OH, 0,25 мл aqua pro injectionibus та 0,02 мл емульгатору Твин-80.

Враховуючи, що екстракт самосилу гайового має невідому токсичність, початкова доза була визначена на рівні 5000 мг/кг. Ця доза відповідає максимальному рівню токсичності IV класу, який визнається як малотоксичні речовини. Вважається, що саме ця доза є граничною при визначенні гострої токсичності за умов внутрішньо-шлункового шляху введення досліджуваних речовин [182].

Отже, екстракт самосилу гайового вводили тваринам в дозі 5000 мг/кг та 4000 мг/кг у вигляді водно-спиртового розчину, у формі водно-етанолової емульсії із застосуванням Twin-80 у якості емульгатора.

За тваринами спостерігали протягом першої години після введення, через 2, 4, 6, 8, 24 ч, а також раз в день до 14 дня експерименту. Контроль маси тіла проводили через 3, 7 і 14 днів після введення.

Після завершення досліджень, тварини були піддані мортифікації з наступним візуальним оглядом стану основних внутрішніх органів. Це включало в себе огляд наступних органів: головний мозок, печінка, нирки, шлунок, кишечник, легені, серце та підшлункова залоза. В ході оцінки також визначалася маса внутрішніх органів з метою виявлення можливих відхилень від норми або незвичайних змін у структурі та масі цих органів.

Оцінювання результатів відбувалось згідно з класифікацією токсичності, яка була розроблена К. К. Сидоровим [115].

Статистичну обробку експериментальних даних проводили у програмі Excel. Математична обробка в себе включала розрахунки середніх арифметичних значень (M) і їх похибок (m). Встановлення ймовірності відмінностей за значеннями показника специфічного фармакологічного показника, проводилося за допомогою параметричного t-критерію Стьюдента та методу дисперсійного аналізу (ANOVA). Відмінності вважали статистично достовірними при рівні $P < 0,05$ [183].

При вивченні гострої токсичності не спостерігалось загибелі тварин (табл. 5.4).

Клінічна картина гострого отруєння у мишей при введенні екстракту самосилу гайового у дозі 5000 мг/кг та 4000 мг/кг супроводжувалася загальмованістю, потягами до блювання, нетиповим пересуванням по клітці, порушенням координації руху (припадає на лівий бік), сонливість [184].

Важливо відзначити, що виявлені симптоми зникли протягом трьох годин, і після цього періоду спостереження жодних змін у поведінці тварин не спостерігалось, що вказує на відновлення нормального стану.

Таблиця 5.4

Виживання тварин після одноразового введення екстракту самосилу гайового, n=5

Доза, мг/кг	Кількість тварин/Загибель
5000	5/0
4000	5/0
Контроль	5/0

Контроль ваги тіла вказує на те, що динаміка збільшення маси тіла тварин, які отримували екстракт самосилу гайового у вивчених дозах на 3, 7 і 14 день (табл. 5.5) у порівнянні з контролем (інтактні тварини) однакова.

Таблиця 5.5

Динаміка зміни маси тіла тварин

Доза, мг/кг	Статистичний показник	Вихідне	3 день	7 день	14 день
5000	M	22,8	23,432	25,47	27,822
	±m	0,56	0,46	0,53	0,85
	% до вихідного		-2,77	-11,71	-22,03
4000	M	22,6	23,38	25,272	27,234
	±m	1,11	1,16	0,72	0,8
	% до вихідного		-3,45	-11,82	-20,5
Контроль	M	24,2	25,088	26,934	28,71
	±m	1,62	0,89	1,13	0,95
	% до вихідного		-3,67	-11,3	-18,64

Під час огляду тварин та при розтині загиблих особин було відзначено наступне: шерсть залишалася чистою, видимі слизові оболонки набували легкого ціанотичного відтінку. Під час візуального обстеження внутрішніх

органів, таких як серце, легені, печінка, підшлункова залоза, нирки, кишечник, шлунок та статеві органи, жодних відхилень від норми не було виявлено. Маса внутрішніх органів тварин знаходилася в межах фізіологічної норми [174].

Величина LD_{50} для досліджуваного сухого екстракту самосилу гайового становила більше 5000 мг/кг, що дозволяє його віднести до V класу токсичності (практично не токсичних речовин) [115].

5.4 Дослідження протизапальної активності

Виходячи з даних літератури в народній медицині самосил гайовий широко застосовується саме як протизапальний засіб. Саме тому вважалося за доцільне дослідити наявність у нього протизапальної активності.

Відомо, що вивчення протизапальних властивостей потенційних лікарських засобів та біологічно-активних сполук здійснюють з метою оцінки їхньої здатності попереджувати або зменшувати ексудацію у біологічних системах. Це важливий аспект дослідження, оскільки запальні реакції та ексудація можуть впливати на перебіг захворювань та стан пацієнтів.

Запалення – це важлива фізіологічна реакція організму на травму, інфекцію чи інші стимули, що супроводжується розширенням кровоносних судин та ексудацією.

Протизапальна активність визначається здатністю специфічних речовин або лікарських препаратів зменшувати цей процес, тим самим сприяючи зменшенню запального відгуку та його негативних наслідків.

Під час вибору об'єктів та методів дослідження були дотримані вимоги, встановлені для доклінічного етапу вивчення специфічних властивостей лікарських засобів. Ці вимоги визначені в Керівництвах з експериментального (доклінічного) вивчення нових фармакологічних речовин, які були підготовлені під загальною редакцією О.В. Стефанова та проф. Р.У. Хабрієва [113, 116].

Однією із класичних моделей для дослідження протизапальної активності є модель карагенін-індукованого запалення у мишей.

Дослідження протизапальної активності проводили у відділі медичної хімії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ» під керівництвом завідувача відділу, д. біол. н. О. Є. Ядловського.

Екстракт самосилу гайового вводили перорально за 1 год до субплантарного введення 0,05 мл 1 % р-ну карагеніну. Диклофенак натрію (4 мг/кг) вводили одноразово перорально у вигляді водно-етанолової емульсії у дозах 1/50 ЛД50 (100 мг/кг). Контрольна група одержувала розчинник.

Розмір експериментальної групи становив 5 тварин.

Через 3 год після введення досліджуваного екстракту мишей виводили з експерименту. Задні лапи з набряклими і не набряклими стопами ампутували на рівні тазостегнових суглобів та порівнювали їх масу.

Пригнічення набряку розраховували за формулою:

$$\text{Інгібування набряку, } \% = \frac{(\text{Mse}-\text{Mhe})}{(\text{Msc}-\text{Mhc})} \times 100\,\% - 100\,\%,$$

де Mse – маса набряклої стопи в експерименті;

Mhe – маса здорової стопи в експерименті;

Msc – маса набряклої стопи в контролі;

Mhc – маса здорової стопи в контролі.

Одержані дані щодо протизапальної активності порівнювали з “золотим стандартом” – диклофенаком натрію.

Доза сухого екстракту трави самосилу гайового була обрана відповідно до рекомендацій, які стосуються дозування у скринінгових дослідженнях фармакологічної активності. Дані рекомендації стосуються сполук, які ще ніколи не досліджували, та які відрізняються за структурою від відомих медичних препаратів і не мають аналогів [182].

Для статистичної обробки експериментальних даних використовували програму Excel. Обчислення включали визначення середнього арифметичного значення (M) та їх похибок (m). Для оцінки ймовірності відмінностей за

значеннями показника специфічного фармакологічного ефекту користувалися параметричним t-критерієм Стьюдента та методом дисперсійного аналізу (ANOVA). Відмінності вважали статистично достовірними при рівні P <0,05 [183].

Результати отриманих досліджень наведено у таблиці 5.6.

Таблиця 5.6

Результати вивчення протизапальної активності, n=5

Речовина	**Доза, мг/кг**	**Величина набряку в контролі, у.о., M±m**	**Величина набряку в досліді, у.о., M±m**	**% інгібіції набряку**
Диклофенак натрію	4,0	91,8±12,4	39,4±20,03	-57,08*
Екстракт самосилу гайового	100,0	91,8±12,4	68,0±33,69	-25,9*

Примітка. * – P < 0,05 в порівнянні з контролем.

Проведені дослідження дозволили встановити, що екстракту самосилу гайового притаманна протизапальна активність. При цьому екстракт самосилу гайового виявляє меншу протизапальну активність, ніж диклофенак натрію. Враховуючи, що згідно з літературними джерелами модель набряку викликаного карагеніном, зумовлена активацією циклооксигеназного мультиферментного комплексу, отримані експериментальні дані можуть свідчити саме про інгібуючу дію досліджуваного екстракту на функцію ізоферментів циклооксигенази (ЦОГ), тобто про здатність екстракту цієї рослини пригнічувати синтез тканинних гормонів простагландинів [185].

5.5 Вивчення анальгезуючої та протисудомної активності

Аналгетичну активність досліджуваного сухого екстракту самосилу гайового вивчали на моделі вісцерального болю «Оцтовокислі корчі».

Через 30 хв після введення тваринам досліджуваної речовини внутрішньоочеревинно вводили 0,6 % розчин оцтової кислоти з розрахунку 0,1 мл/10 г маси тіла. Підрахунок кількості «корчів» проводили з 5 хв по 15 хв (час вимірювали за допомогою секундоміра) після введення розчину оцтової кислоти. Порівнювали кількість «корчів» у тварин дослідних і контрольних груп [186].

Про рівень антиноцицептивної активності судили за зниженням кількості «корчів» у дослідній групі порівняно з контрольною.

Як препарати порівняння у тесті «Оцтовокислі корчі» використовували Кеторолак-Лубнифарм (серія 10322). Кеторолак як відомо це найпотужніший ненаркотичний аналгетик. Препарат вводили внутрішньоочеревино в дозі 25 мг/кг. Контрольні тварини отримували розчинник [187, 113].

Дані щодо анальгезуючої активності сухого екстракту самосилу гайового наведено в таблиці 5.7.

Таблиця 5.7

Анальгезуюча активність сухого екстракту самосилу гайового, n = 5

Речовина	Доза, мг/кг	Кількість «корчів» в контролі, M ±m	Кількість «корчів» в досліді, M ±m	Інгібіція кількості «корчів», %
Сухий екстракт самосилу гайового	25,0	32,3 ± 7,5	15,6 ± 6,1	-51,75*
Кеторолак	25,0	32,3 ± 7,5	6,0 ± 1,58	-81,44*

Примітка. * – P < 0,05 в порівнянні з контролем.

Як показали результати проведених досліджень, сухий екстракт самосилу гайового за рівнем аналгетичної активності поступається препарату порівняння кеторолак, але виявляє достовірний аналгетичний ефект – 51,75 %.

При дослідженнях *протисудомної дії* сухого екстракту самосилу гайового в якості референтного препарату було використано ламотриджин (субстанція SIGMA-ALDRICH, Lot: LRAA1899, CAT#: PHR1392-1G), фармакопейний стандарт у дозі 10 мг/кг. Ламотриджин вводили в дозі ЕД50 (половину від ефективної терапевтичної дози), що становить 10 мг/кг. Тваринам контрольної групи вводили розчинник [188, 189, 190].

Отримані результати щодо вивчення протисудомної активності екстракту та його впливу на поведінку тварин наведено в таблиці 5.8.

На моделі коразолових судом досліджуваний екстракт виявив помірну протисудомну дію, в цілому поступаючись за активністю ламотриджину. Екстракт за своєю дією наближається до референтного препарату за впливом на гіперкінезію, тремору та стереотипних рухів, але поступається щодо клонічних судом.

Таблиця 5.8

Протисудомна активність сухого екстракту самосилу гайового, n = 5

Речовина	**Показ-ник**	**Гіперкінезія**		**Тремор, стереотипні рухи**		**Клонічні судоми**		**Виражені клоніко-тонічні судоми**		**Повторні клоніко-тонічні судоми**	
		конт	дослід	конт	дослід	конт	дослід	конт	дослід	конт	дослід
Сухий екстракт самосилу гайового	M	1	0,4	3,8	2,8	1,2	0,8	1,2	0,6	1,2	0,8
	±m	1	0,5	2,39	2,59	1,3	0,84	0,45	0,55	1,1	0,84
	%		-60		-26,32		-33,33		-50		-33,33
Ламотри-джин	M	1	0,2	3,8	3,6	1,2	2,4	1,2	0,4	1,2	0,6
	±m	1	0,45	2,39	2,61	1,3	1,67	0,45	0,55	1,1	0,89
	%		-80		-57,89		-83,33		-100*		-100

Примітка. * – P < 0,05 в порівнянні з контролем.

5.6 Дослідження антиоксидантної активності

Визначення антиоксидантних властивостей водного та водно-спиртового екстракту трави самосилу гайового проводили спектрофотометричним методом, за класичною методикою [117, 191]. Завдання методики полягає у визначенні реакційної здатності субстрату відносно стабільного радикалу дифенілпікрилгідразилу (ДФПГ).

Величини оптичної густини спиртових розчинів ДФПГ до (D_o516) та після інкубації зі спиртовими розчинами досліджуваних екстрактів (Dt516), а також значення співвідношення (ΔDt516/Do516)×100 % характеризують антирадикальні властивості, тобто здатність екстрактів слугувати „пастками вільних радикалів".

Визначення проводили на спектрофотометрі Shimadzu UV-1800 з використанням кварцевих кювет на довжині оптичного шляху 1 см, при контрольованій температурі інкубації 25^0C.

В якості препаратів порівняння використовували: синтетичний інгібітор вільнорадикальних реакцій Дибунол (Іонол, 2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол) [106, 176] і настойку листя горіха грецького ("Київська ФФ"), що було придбано у аптечній мережі, а також стандартні зразки рутину ("Fluka") і хлорогенової кислоти ("Fluka").

Статистичну обробку отриманих даних проводили, використовуючи t - критерій Ст`юдента [183].

В табл. 5.9 наведено показники оптичної густини спиртових розчинів стабільного радикалу ДФПГ (контроль) та спиртових розчинів ДФПГ, що містили досліджувані екстракти (дослід) за проміжок часу 2, 5, 10 хвилин.

Для зручнішого аналізу отриманих даних у табл. 5.8 представлено відсотковий показник антирадикальної активності (АРА), що вказує на можливість досліджуваного екстракту зменшувати вміст радикальної форми ДФПГ у спиртовому розчині за проміжок часу 10 хвилин.

Враховуючи, що відсотковий вміст оксикоричних кислот та флавоноїдів в досліджуваних екстрактах визначали в перерахунку на хлорогенову кислоту та рутин, то в якості референтних речовин при визначенні АРА використовували спиртові розчини субстанцій саме цих сполук.

Також, було необхідним провести порівняння антиоксидантних властивостей досліджуваних екстрактів самосилу гайового із показниками синтетичного антиоксиданту Дибунолу (Іонолу) та настойкою листя горіха грецького, оскільки цей лікарський засіб, що виявляє антирадикальні властивості, виготовлено з лікарської рослинної сировини.

Таблиця 5.9

Показники оптичної густини спиртових розчинів стабільного радикалу ДФПГ(D^o_{520}) та ДФПГ + Екстракт (D^t_{520}) при взаємодії спиртового розчину ДФПГ із екстрактами та препаратами порівняння (t = 25° С).

Спиртові розчини	Кіль-кість вимірів, n	Оптична густина за проміжок часу з початку реакції (хв.) D^o_{520}			АРА (%), за 10 хв
		2 хв	5 хв	10 хв	
1	2	3	4	5	6
ДФПГ	10	0,967±0,009	0,957±0,008	0,951±0,005	0
ДФПГ + іонол (Дибунол)	5	0,823±0,005*	0,723±0,008*	0,695±0,010*	27
ДФПГ + настойка листя горіха грецького	10	0,493±0,010*	0,337±0,012*	0,128±0,010*	86,9
ДФПГ + хлорогенова кислота	5	0,141±0,010*	0,118±0,005*	0,086±0,005*	91,3
ДФПГ + рутин	5	0,514±0,010*	0.418±0.009*	0,344±0,008*	62,3
ДФПГ + екстракт трави 96 % спирт	10	0,921±0,012*	0,918±0,015*	0,917±0,012*	15
ДФПГ + екстракт трави 70 % спирт	5	0,308±0,008*	0,214±0,010*	0,113±0,012*	87,1
ДФПГ + екстракт трави 50 % спирт	5	0,364±0,010*	0,326±0,008*	0,242±0,010*	74,5
ДФПГ + екстракт трави водний	5	0,133±0,010*	0,127±0,010*	0,104±0,008*	89,6

Примітка: * P < 0,05 – відносно спиртового розчину ДФПГ (контролю).

Отримані дані вказують, що всі досліджувані екстракти, з певною вірогідністю знижують вміст радикальної форми ДФПГ, тобто у тій чи іншій мірі виявляють антиоксидантні властивості.

Найбільшу здатність виявляти антиоксидантні властивості виявляє водний екстракт трави самосилу гайового (вже за 2 хвилини 87 % стабільного радикала ДФПГ нейтралізовано БАР водного екстракту самосилу гайового), якому майже не поступається спиртовий екстракт трави на 70 % етиловому спирті, що виявляють зниження концентрації радикальної форми ДФПГ за 10 хвилин на 89,6 % та 87,1 % відповідно.

Екстракти з трави самосилу гайового, виготовлений на 96 % спирті етиловому, виявляє дуже невелику антиоксидантну активність. Так, екстракт трави на 96 % спирті за 10 хвилин реакції знижує концентрацію радикальної форми ДФПГ лише на 15 %.

Незначно поступається за антирадикальними властивостями хлорогеновій кислоті водний екстракт трави самосилу гайового та екстракти трави на 70 % етанолі.

Аналізуючи дані кінетики взаємодії радикальної форми ДФПГ із водним та спиртовим екстрактом на 70 % етанолі, слід відмітити досить швидкий перебіг реакції, яка за 2 хвилини майже добігає кінця.

Отже, при додаванні до спиртового розчину ДФПГ водного екстракту трави та екстракту на 70 % спирті, концентрація його радикальної форми зменшується (за 2 хвилини) відповідно на 85 % та 67 %.

Взаємодія хлорогенової кислоти з ДФПГ за проміжок часу 10 хвилин виявила у неї достатньо високий рівень антирадикальних властивостей (91,3 %), що узгоджується з даними доступної нам літератури.

До того ж, реакція між ДФПГ та цією сполукою відбувається досить швидко – за 2 хвилини вміст радикальної форми ДФПГ в спиртовому розчині зменшується на 84 %. У порівнянні з нею флавоноїд рутин та особливо класичний антиоксидант Дибунол повільніше взаємодіють з стабільним радикалом. За 2 хвилини реакції рутин інактивує 55 % радикальної форми

ДФПГ, а за проміжок часу 10 хвилин лише 45 %. За 10 хв реакції Дибунол знижує вміст радикальної форми ДФПГ лише на 12 %.

Таким чином, проведені *in vitro* дослідження показали, що водному екстракту та 70 % спиртовому екстракту трави самосилу гайового притаманні антирадикальні властивості, за якими вони лише незначно поступаються хлорогеновій кислоті та не поступаються настойці листя горіха грецького [192].

Також було проведено кореляційний аналіз між АРА та відсотковим вмістом оксикоричних кислот, флавоноїдів і поліфенолів у досліджуваних екстрактах за методом найменших квадратів [183].

Після розрахунків були отримані такі значення коефіцієнтів кореляції (К):

АРА (%) – оксикоричні кислоти (%) $K \approx 0{,}90$;

АРА (%) – флавоноїди (%) $K \approx 0{,}42$;

АРА (%) – поліфеноли (%) $K \approx 0{,}68$.

Оскільки значення коефіцієнтів кореляції АРА – оксикоричні кислоти та АРА – поліфеноли наближаються до одиниці, то можна казати про взаємозв`язок між антирадикальними властивостями екстракту самосилу гайового та вмістом в них оксикоричних кислот та поліфенолів.

Виходячи з даних, отриманих в процесі вивчення антиоксидантних властивостей, ми вважаємо за необхідне провести подальше вивчення властивостей водно-спиртових екстрактів самосилу гайового.

Висновки до розділу 5

1. Визначено параметри стандартизації сухого екстракту самосилу гайового з потенційною протизапальною, достовірною анальгетичною, помірною протисудомною дією, а також антиоксидантною активністю.

2. За результатами проведеного токсикологічного дослідження сухого екстракту самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys* L.) встановлено, що величина LD_{50} для досліджуваного сухого екстракту самосилу гайового становила більше 5000 мг/кг, що дозволяє його віднести до V класу токсичності (практично не токсичних речовин) згідно з класифікацією токсичності, розробленої К. К. Сидоровим.

3. Проведені дослідження дозволили виявити наявність протизапальних властивостей у сухого екстракту трави самосилу гайового. Проведені дослідження встановили, що екстракт виявив протизапальну активність, хоча трохи меншу, ніж у референтного препарату - диклофенаку натрію

4. Сухий екстракт самосилу гайового характеризується статистично достовірною анальгетичною активністю та помірною протисудомною дією.

5. При вивченні антиоксидатних властивостей екстрактів самосилу гайового, було визначено, що найбільшу здатність виявляти антиоксидантні властивості виявляє водний екстракт трави самосилу гайового, якому майже не поступається спиртовий екстракт трави на 70 % етиловому спирті, що виявляють зниження концентрації радикальної форми ДФПГ за 10 хвилин на 89,6 % та 87,1 % відповідно. Значення коефіцієнтів кореляції антиоксидантної активності гідроксикоричних кислот та антиоксидантної активності поліфенолів близькі до одиниці, що свідчить про зв’язок між антиоксидантною активністю рослинних екстрактів *Teucrium chamaedrys* L. та вмістом гідроксикоричних кислот і поліфенолів.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Anzina K. M., Gudzenko A. V., Kalko K. O. Preliminary phytochemical screening and antioxidant activities of the extract of *Teucrium chamaedrys* L. *PharmacologyOnLine*. 2021. V. 2, P. 972-977. (Scopus). (*Особистий внесок* – брала участь у плануванні та проведені експерименту, в обговоренні, обробці результатів дослідження та підготовці статті)

2. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Дослідження гострої токсичності сухого екстракту самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys L*). *«Scientific forum: theory and practice of research»*: матеріали IV міжнародної науково-теоретичної конференції, 6 жовтня 2023, Валенсія, Іспанія. Collection of scientific papers «SCIENTIA». 2023. С. 88-90 https://doi.org/10.36074/scientia-06.10.2023

3. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Визначення протизапальної активності сухого екстракту самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys L*). *«Інтелектуальний ресурс сьогодення: наукові задачі, розвиток та запитання»*: матеріали І міжнародної наукової конференції, 6 жовтня 2023. м. Дніпро, Україна. Міжнародний центр наукових досліджень. Вінниця: ТОВ «УКРЛОГОС Груп, 2023. С. 100-101 https://doi.org/10.36074/mcnd-06.10.2023

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено результати експериментального комплексного фармакогностичного дослідження самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys* L.) та самосилу гірського (*Teucrium montanum* L.), встановлення вмісту основних класів біологічно активних речовин та параметрів стандартизації рослинної сировини.

1. Проведено аналіз сучасних даних літератури щодо географічного розповсюдження, морфологічних особливостей, хімічного складу та застосування в медицині самосилу гайового та самосилу гірського з метою обрання перспективної лікарської рослинної сировини.

2. У результаті ідентифікації та вивчення якісного складу сировини самосилу гайового та самосилу гірського встановлено наявність таких компонентів, як полісахариди, органічні та гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, монотерпени, монотерпенові спирти, тритерпеноїди, сесквітерпени, амінокислоти, вуглеводні, дубильні речовини, стерини, іридоїди, фенілпропаноїди, токофероли, хлорофіли та каротиноїди. Хімічними та фізико-хімічними методами у сировині досліджуваних об’єктів визначено 117 компонентів, а саме: 3 гідроксикоричні кислоти, 3 флавоноїди, 18 амінокислот, 9 жирних кислот, 3 цукри, 21 монотерпен та монотерпеноїд, 23 сесквітерпени, 1 тритерпен, 1 токоферол, 3 стерини, 2 хлорофіли, 4 фенілпропаноїди, 7 вуглеводнів, 5 спиртів, 10 альдегідів та 4 кетони.

3. З застосуванням методів ВЕРХ, ГХ-МС, ГРХ та УФ-спектрофотометрії розроблені методики аналізу сировини самосилу гайового та самосилу гірського за вмістом наступних БАР: флавоноїдів, оксикоричних кислот, полісахаридів, поліфенолів, амінокислот, жирних кислот, каротиноїдів, токоферолів та хлорофілів. В досліджуваній сировині встановлено високий вміст похідних гідроксикоричних кислот (для самосилу гайового – від 2,69±0,11 % до 2,75±0,12 %, для самосилу гірського – від 1,72±0,06 % до 2,10±0,07 %), флавоноїдів (для самосилу гайового – від

0,38±0,02 % до 0,44±0,02 %, для самосилу гірського – від 0,21±0,01 % до 0,24±0,01 %), поліфенолів (для самосилу гайового – від 2,61±0,11 % до 3,07±0,12 %, для самосилу гірського – від 1,47±0,05 % до 2,51±0,09 %).

4. Обґрунтовано вибір оптимальних умов екстракції біологічно активних речовин із обох видів сировини. Оптимальними умовами екстракції є: використання сировини зі ступенем подрібнення 2-3 мм; в якості екстрагенту застосовувати 70 % етиловий спирт; співвідношення між сировиною та екстрагентом – 1:20; час екстракції – 45 хвилин, кількість екстракцій - 2.

5. Проведено визначення морфолого-анатомічних ознак сировини самосилу гайового та самосилу гірського. Виявлено анатомо-морфологічні ознаки, що характерні для кожного з досліджених видів сировини та дозволяють ідентифікувати досліджувані об’єкти, а саме характерне опушення адаксіальної та абаксіальної поверхні і особливості епідермальних клітин листкової пластинки, особливості латеральних сторін зубців та їх апікальних кінців.

6. З метою стандартизації сировини визначено показники доброякісності для трави самосилу гайового, трави самосилу гірського, а також для сухого екстракту самосилу гайового. Описано способи ідентифікації та визначення кількісного вмісту основних груп біологічно активних речовин, які використано для розробки проектів МКЯ. Розроблені проекти МКЯ «Трава самосилу гайового», «Трава самосилу гірського», «Сухий екстракт трави самосилу гайового».

7. За результатами проведеного дослідження гострої токсичності сухого екстракту самосилу гайового встановлено, що він належить до V класу токсичності (практично не токсичних речовин) та виявляє протизапальну, антиоксидантну, анальгезуючу та протисудомну дію.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Махиня Л. М., Мінарченко В. М., Струменська О. М. Стан та перспективи використання лікарських рослин в офіційній медицині України. *Science and Education a New Dimension. Natural and Technical Sciences.* 2017. Vol. 14, Iss. 132. P. 14-16.

2. Чекман І. С. Клінічна фітотерапія. Природа лікує / К. : Рада, 2000. С. 203.

3. Мінарченко В. М., Середа П.І. Ресурсознавство. Лікарські рослини : навчально-методичний посібник. К. : Фітосоціоцентр, 2004. С. 12.

4. Лікарські рослини і фітотерапія (фітотерапевтична рецептура) : навч. посіб. / Л. В. Бензель, Р. Є. Дармограй, П. В. Олійник, Л. І. Бензель. К. : ВСВ «Медицина», 2010. 400 с.

5. Гнілуша Н. В., Калініна А. А. Теоретичні аспекти дослідження лікарських рослин. Екологічний Вісник Криворіжжя. 2019. Вип. 4. С. 135–142. DOI: 10.31812/eco-bulletin-krd.v4i0.2580.

6. Кобзар А. Я. Фармакогнозія в медицині: навч. посіб. К. : Медицина, 2007. 543 с.

7. Сербін А. Г., Сіра Л. М., Слободянюк Т. О. Фармацевтична ботаніка. Підручник / Під редакцією Л.М. Сірої. Вінниця: НОВА КНИГА, 2007. 488с.

8. Мінарченко В. М. Лікарські рослини України: різноманіття, ресурси та правові основи їх використання. – Режим доступу : http://eep.org.ua/files/173342946-Валентина-Мінарченко.pdf).

9. Варна М. М. Ботаніка. Терміни. Поняття. Персоналії. К.: Видавничий центр «Академія», 1997. 272 с.

10. Фармакогнозія з основами біохімії рослин : підруч. для студ. вищ. фармац. навч. закл. та фарм. ф-тів вищих мед. навч. закл. III—IV рівнів акред. / В. М. Ковальов, І. О. Павлій, Т. І. Ісакова. Харків: Вид-во НФаУ:МТК-книга, 2004. 704 с.

11. Cowie, R.H., Bouchet, P. and Fontaine, B. The Sixth Mass Extinction: fact, fiction or speculation?. *Biol Rev*. 2022. V. 97. P. 640-663. DOI 10.1111/brv.12816

12. Shivanna, K.R. The ‘Sixth Mass Extinction Crisis’ and Its Impact on Flowering Plants. *Biodiversity and Chemotaxonomy. Sustainable Development and Biodiversity*. 2019. Vol 24. Springer, Cham. DOI 10.1007/978-3-030-30746-2_2

13. Daan P. van Uhm. The Sixth Mass Extinction. *The Illegal Wildlife Trade.* 2016 Nov 16;15:17–32. doi: 10.1007/978-3-319-42129-2_2. PMCID: PMC7121474.

14. Бобкова І. А., Варлахова Л. В., Маньковська М. М. Фармакогнозія : підручник. К. : Медицина, 2006. С. 36–37.

15. McClintock E., Epling C. A revision of Teucrium in the new world, with observations on its variation, geographical distribution and history. *Brittonia.* 1946;5:491–510. doi: 10.2307/2804830.

16. Teucrium L. Plants of the World Online, Royal Botanic Gardens, Kew. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: https://powo.science.kew.org/taxon/ urn:lsid:ipni.org:names:30039259-2

17. Брайон О. В., Чикаленко В. Г. Анатомія рослин: Підручник. К.: Вища школа. 1992. 272с.

18. Корнієвський Ю. І., Корнієвська В. Г., Шкроботько П. Ю. Анатомія рослин. Практикум модуль І. Запоріжжя, 2013. 85 с.

19. Flora Europaea. Volume 3: Diapensiaceae to Myoporaceae / T.G Tutin., V.H. Heywood, N.A Burges et al. Cambridge: Cambridge University Press. 1972. Vol. 5. 399 p.

20. The International Plant Names Index and World Checklist of Vascular Plants 2023. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: https://powo.science.kew.org/taxon/ urn:lsid:ipni.org:names:30039259-2/general-information

21. Labiatae, in The Families and Genera of Vascular Plants / Harley, R.M. et al. (K. Kubitzki, ed. in chief). 2004. VI: 167-275. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

22. Teucrium chamaedrys L. Plants of the World Online, Royal Botanic Gardens, Kew. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: https://powo.science.kew.org/taxon/ urn:lsid:ipni.org:names:460310-1

23. Verleichende Chorologie der Zentraleuropaischen Flora / H. Meusel, E. Jager, E. Weinert et al, 1978. Bd. 2. Karten. P. 259-421.

24. Скибіцька М. І. Могиляк М. Г. Перспективи інтродукції лікарських та декоративних рослин з родини Lamiaceae у західному лісостепу України. *Науковий вісник України*. 2013. Вип. 23. 10. С.40-45.

25. Sowerby James. English Botany, Or, Coloured Figures of British Plants. Harvard University. 1873. Edition 3. Vol. 7. P. 84

26. Зубцова Т.В. Идентификация видов Teucrium chamaedrys L. и Teucrium stevenianum Klokov (Lamiaceae L.): хорология, морфология и особенности фенологии в Донбассе. *Промышленная ботаника*. 2003. Вип. 3. С. 68-72.

27. Морозюк С.С., Протопопова В.В. Трав'янисті рослини України : навчальний посібник. Національний педагогічний університет ім. М.П. Драгоманова, Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. Тернопіль: Навчальна книга – Богдан, 2007. 216 с.

28. An updated tribal classification of Lamiaceae based on plastome phylogenomics / Zhao Fei, Chen Ya-Ping, Salmaki Yasaman et al. *BMC Biology*. 2021. 19 (1):2. doi:10.1186/s12915-020-00931-
z. PMC 7796571. PMID 33419433.

29. Total phenol and flavonoid contents of extracts from different plant parts of Teucrium montanum L. / M. Stankovic, M. Topuzovic, S. Solujic et al. Planta Medica. 2010. 76. DOI 10.1055/s-0030-1264575.

30. Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of Different Teucrium Chamaedrys L. exstracts / M. Stankovic, M. Topuzovic, A. Marković et

al. Biotechnology & Biotechnological Equipment. 2014. 24. 82-86. DOI 10.1080/13102818.2010.10817816.

31. Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activities of extracts from Teucrium polium growing wild in Morocco / Y. El Atki, I. Aouam, F. El kamari et al. *Materials Today: Proceedings*. Volume 13. Part 3. 2019. P. 777-783. ISSN 2214-7853, https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.04.040.

32. Chemical composition and in vitro evaluation of total phenolic, flavonoid, and antioxidant properties of essential oil and solvent extract from the aerial parts of Teucrium polium grown in Tunisia / S. Bakari, M. Ncir, S. Felhi et al. *Food Sci Biotechnol. 2015.* V. 24, P. 1943–1949. https://doi.org/10.1007/s10068-015-0256-z

33. Javidnia K., Miri R., Khosravi A. R. Composition of the essential oil of Teucrium persicum Boiss. from Iran. *J. Essent. Oil Res*. 2007. V. 19. P. 35–38.

34. Chemical Composition of Essential Oil of Tecurium mascatenses Bois Grown in Oman / M. Oraimi, J. Al-Sabahi, A. Weli et al. *Journal of Essential Oil Bearing Plants (Jeobp).* 2012. Vol. 15. P.822-826

35. Blázquez María, Pérez Isabel, Boira Herminio. Essential oil analysis of Teucrium libanitis and T. turredanum by GC and GC–MS. *Flavour and Fragrance Journal.* 2003. V. 18. P. 497 - 501. DOI 10.1002/ffj.1256.

36. Hayta Şükrü, Yazgin Ayşe, Bagci Eyup. Composition of the essential oils of two Teucrium species from Turkey. *Bitlis Eren University Journal of Science and Technology.* 2017. V. 7. P. 140-144. 10.17678/beuscitech.348447.

37. Chemical Composition of the Essential Oil of Teucrium yemense Deflers. Nasser Ali, Martina Wurster, Norbert Arnold et al. *Records of Natural Products.* 2008. V. 2. P. 27-31

38. Chemical analysis and antimicrobial activity of Teucrium polium L. essential oil from eastern Algeria / Lograda Takia, Messaoud Ramdani, Chalard Pierre et al. *American Journal of Advanced Drug Delivery* . 2014. V. 2. P. 697-710

39. Mortezr-Semnani K, Saeedi M, Akbarzadeh M. Essential oil composition of Teucrium scordium L. *Acta Pharm*. 2007. V. 57 P. 499–504.

40. Analysis of the essential oil of Teucrium polium ssp. capitatum from the Balkan Peninsula / V. Mitić, O. Jovanović, V. Stankov-Jovanović et al. *G. Nat. Prod. Commun*. 2012. V. 7. P. 83–86.

41. Antioxidant activities of the extracts and components of Teucrium orientale L. var. Orientale / A. Cakir, A. Mavi, C. Kazaz et al. *Turk. J. Chem*. 2006. V. 30. P. 483.

42. Composition of the essential oil of Teucrium parviflorum L. (Lamiaceae) from Turkey / Eyup Bagci, Sukru Hayta, Ayse Yazgin, Gulden Dogan. *Journal of Medicinal Plants Research.* 2011. Vol. 5. P. 3457-3460.

43. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities and phenolic profile for Hyssopus officinalis, Ocimum basilicum and Teucrium chamaedrys / L. Vlase, D. Benedec, D. Hanganu et al. *Molecules.* 2014. V. 19(5). P. 5490-507. DOI: 10.3390/molecules19055490. PMID: 24786688; PMCID: PMC6270679.

44. RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity / C. Proestos, N. Chorianopoulos, G. J. Nychas, M. Komaitis. J. Agric. *Food Chem*. 2005. V. 53. P. 1190–1195.

45. Antiphytoviral activity of sesquiterpene-rich essential oils from four croatian Teucrium species / N. Bezic, E. Vuko, V. Dunkic, M. Ruscic et al. *Molecules*. 2011. V. 16. P. 8119–8129.

46. Total phenolic content, flavonoid concentrations and antioxidant activity, of the whole plant and plant parts extracts from Teucrium montanum L. var. montanum, f. supinum (L.) Reichenb / Milan Stankovic, Neda Martinović, Marina Topuzovic, Slavica Solujic. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2011. V. 25. P. 2222. DOI 10.5504/BBEQ.2011.0020.

47. Extraction of saponins and toxicological profile of Teucrium stocksianum boiss extracts collected from District Swat / S. M. M. Shah, A. Sadiq, S. M. H. Shah, S. Khan. *Biol Res*. 2014. V. 47(1). P. 65 DOI 10.1186/0717-6287-47-65

48. Cytotoxic saponin poliusaposide from Teucrium polium / Wael Elmasri, Mohamed Elamir Hegazy, Yehia Mechref, Paul Pare. *RSC Adv.* 2015. V. 5. DOI 10.1039/C5RA02713F.

49. Determination of the content of total polyphenols,non-tannin polyphenols and tannins in five species of the genus Teucrium L. / Željan Maleš, Kroata Hazler Pilepić, Mirza Bojić, Zoran Tatalović. *Period biol*. 2015. Vol 117, No 3. P. 453-455. DOI: 10.18054/pb.2015.117.3.1001

50. Secondary Metabolite, antioxidant and Antibacterial Activities of Teucrium polium L Methanolic Extract / Chedia Aouadhi, Hanene Ghazghazi, Hasnaoui Brahim, Abderrazak Maaroufi. *International Journal of Agronomy and Plant Production*. 2013. V. 4. P. 1790-1797.

51. Rates S. M. K. Plants as source of drugs. *Toxicon.* 2001. V. 39. P. 603–613.

52. Fabricant D. S., Farnsworth N. R. The Value of Plants Used in Traditional Medicine for Drug Discovery. *Environmental Health Perspectives*. Supplement 1: Reviews in Environmental Health. 2001. V. 109. P. 69 –75.

53. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives / R.C. Dutra, M.M. Campos, A.R. Santos, J.B. Calixto. *Pharmacol Res.* 2016. V. 112:4 P. 29. doi: 10.1016/j.phrs.2016.01.021. PMID: 26812486.

54. Мінарченко В. М., Бутко А. Ю. Дослідження вітчизняного ринку лікарських засобів рослинного походження. *Фармацевтичний журнал*. 2017. № 1. С. 30-36.

55. The University of Iowa College of Pharmacy. Hardin Library for the Health Sciences. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: https://dsps.lib.uiowa.edu/ roots/wall-germander/#:~:text=It%20has%20been%20used %20in,et%20al.%2C%202009).

56. Bahramikia S., Ardestani A., Yazdanparast R. Protective effects of four Iranian medicinal plants against free radicalmediated protein oxidation. *Food Chem*. 2009. Vol. 115. № 1. P. 37–42.

57. Bahramikia S., Yazdanparast R. Phytochemistry and Medicinal Properties of Teucrium polium L. (Lamiaceae). *Phytotherapy Research*. 2012. Vol. 26. № 11. P. 1581-1593.

58. Sarac N., Ugur A. Antimicrobial activities and usage in folkloric medicine of some Lamiaceae species growing in Mugla, Turkey. *EurAsian. J. BioSci*. 2007. Vol. 4. P. 28–37.

59. The variation of antioxidant activities and chemical composition of essential oils of Teucrium orientale L. var. orientale during harvesting stages / A. Yildirim et al. *Flavour and Fragrance Journal*. 2004. Vol. 19. № 5. P.367–372.

60. Amiri H. Antioxidant activity of the essential oil and methanolic extract of Teucrium orientale (L.) subsp. taylori (Boiss.) *Iran J. Pharm. Res.* 2010. V. 9. P. 417–423.

61. De Judicibus M. Botanical Notebook; Warburton, Vic., Ed.; Custom Book Centre; University of Melbourne: Melbourne, Australia, 2011. 116 p.

62. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health / V. Lobo, A. Patil, A. Phatak, N. Chandra *Pharmacogn. Rev*. 2010. V. 4. P.118–126.

63. The effect of teucrium polium honey on the wound healing and tensile strength in rat. / Alizadeh A. M, Sohanaki H., Khaniki M. et al. *Iran J Basic Med Sci*. 2011 Nov; 14 (6). P. 499-505. PMID: 23493667; PMCID: PMC3586860

64. Gursoy N., Tepe B. Determination of the antimicrobial and antioxidative properties and total phenolics of two ‘‘endemic’’ Lamiaceae species from Turkey: Ballota rotundifolia L. and Teucrium chamaedrys C. Koch. *Plant Foods Hum. Nutr*. 2009. V. 64. P. 135–140.

65. Kadifkova P. T., Kulevanova S., Stefova M. In vitro antioxidant activity of some Teucrium species (Lamiaceae). *Acta Pharmaceut*. 2005. V. 55. P. 207–214.

66. Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oils of Teucrium chamaedrys subsp. chamaedrys, T. orientale var. puberulens, and T. chamaedrys subsp. Lydium / M. Kucuk, C. Gulec, A. Yasar, O. Ucuncu et al. *Pharm. Biol*. 2006. V. 44. P. 592–599.

67. Antimicrobial activity of some Teucrium species from Serbia / Stefanovic O., Stankovic M., Topuzovic M. et all. *Planta Medica*. 2011. 77. 1454. DOI 10.1055/s-0031-1282975.

68. Rahmouni F., Saoudi M., Reba, T.. Therapeutics studies and biological properties of Teucrium polium (Lamiaceae). *BioFactors.* 2021. V. 47. P. 952– 963. https://doi.org/10.1002/biof.1782

69. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of Teucrium marum (Lamiaceae) / D. Ricci, D. Fraternale, L. Giamperi et al. *J. Ethnopharmacol*. 2005. V. 98. P. 195–200.

70. Rahmouni F, Hamdaoui L, Rebai T. In vivo anti-inflammatory activity of aqueous extract of Teucrium polium against carrageenan-induced inflammation in experimental models. *Arch Physiol Biochem.* 2017. V. 123 (5). P. 313-321. doi: 10.1080/13813455.2017.1333517. PMID: 28557561.

71. Anti-inflammatory activity of Teucrium polium / M. Tariq, A. M. Ageel, M. A. al-Yahya et al. *Int J Tissue React.* 1989. V. 11(4):185-8. PMID: 2634627.

72. Investigation of antioxidant, antifungal, antibacterial, and anti-inflammatory effects of teucrium polium on common pathogens in vaginitis: a review / T. Ilaghinezhad Bardsiri, S. Moayedi, R. et al. *Jundishapur J Nat Pharm Prod.* 2022. V. 17(4):e128060. https://doi.org/10.5812/jjnpp-128060.

73. Phytochemical composition, anti-inflammatory and antitumour activities of four Teucrium essential oils from Greece / Federica Menichini, Filomena Conforti, Daniela Rigano et al. *Food Chemistry*. 2009. Vol. 115. Issue 2. P. 679-686. ISSN 0308-8146, https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.067.

74. Belén Fernández Puntero, Irene Iglesias Peinado, Angel Ma Villar del Fresno. Anti-inflammatory and antiulcer activity of Teucrium buxifolium. *Journal of Ethnopharmacology*. 1997. Vol. 55. Issue 2. P. 93-98. ISSN 0378-8741, https://doi.org/10.1016/S0378-8741(96)01479-1.

75. Fatma Rahmouni, Latifa Hamdaoui, Tarek Rebai. In vivo anti-inflammatory activity of aqueous extract of Teucrium polium against carrageenan-

induced inflammation in experimental models. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 2017. V. 123:5, P. 313-321, DOI: 10.1080/13813455.2017.1333517

76. Hertog M., Hollman P., Van de Putte B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines and fruit juices. *J. Agric. Food Chem.* 1993. V. 41. P. 1242–1246.

77. Rice-Evans C. A. Flavonoid antioxidants. *Curr. Med. Chem*. 2001. V. 8. P. 797–807.

78. Karpinska M., Browski J., Danowska-Oziewics M. The use of natural antioxidants in ready-to-serve food. *Food Chem*. 2001. V. 72. P. 5–9.

79. Screening of some Greek aromatic plants for antioxidant activity / M. Couladis, O. Tzakou, E. Verykokidou, C. Harvala. *Phytother. Res.* 2003. V. 17. P. 194–195.

80. Antioxidant and free radical scavenging activity of H. officinalis L. var. angustifolius, V. odorata, B. hyrcana and C. Speciosum / M. A. Ebrahimzadeh, S. M. Nabavi, S. F. Nabavi et al. *Pak. J. Pharm. Sci.* 2010. V. 23. P. 29–34.

81. Antioxidant efficacy of iridoid and phenylethanoid glycosides from the medicinal plant Teucrium chamaedris (sic) in cell-free systems / S. Pacifico, B. D'Abrosca, M. T. Pascarella et al. *Bioorganic and Medicinal Chemistry.* 2009. V. 17(17), P. 6173-6179. doi:10.1016/j.bmc.2009.07.065

82. Cardiovascular effects of Teucrium polium L. extract in rabbit / Niazmand Saeed, Esparham Maryam, Hassannia Tahereh et al. *Pharmacognosy magazine*. 2011. V. 7. P. 260-264. DOI 10.4103/0973-1296.84244.

83. The effect of hydroalcoholic extract of Teucrium polium L. On the inflammatory markers and lipid profile in hypercholesterolemic rats / Amraei Mansour, Ghorbani Ayub, Seifinejad Yaser et al. *Journal of Inflammation Research*. 2018. Vol. 11. P. 265-272. DOI 10.2147/JIR.S165172.

84. Effect of Teucrium polium boiled leaf extract on intestinal motility and blood pressure / M.-S. Suleiman, A.-S. Abdul-Ghani, S. Al-Khalil et al. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 22. Issue 1. 1988. P. 111-116, ISSN 0378-8741, https://doi.org/10.1016/0378-8741(88)90236-X.

85. Dastjerdi M. Z., Namjoyan F., Azemi M. E.. Alpha amylase inhibition activity of some plants extract of Teucrium species. *J Biol Sci Opin*. 2015. V. 7. P. 26- 31.

86. Rasekh H. R., Khoshnood-Mansourkhani M. J., Kamalinejad M. Hypolipidemic Effects of Teucrium Polium in Rats. *Fitoterapia*. 2001. V. 72. P. 937–939. DOI:10.1016/S0367-326X(01)00348-3

87. Exploration of Lamiaceae in Cardio Vascular Diseases and Functional Foods: Medicine as Food and Food as Medicine / Chakrabartty Ishani, Mohanta Yugal Kishore, Nongbet Amilia et al. *Frontiers in Pharmacology*. 2022. Vol. 13. DOI 10.3389/fphar.2022.894814. ISSN 1663-9812

88. Malki, S., Yahia, A. L. Evaluation of Diuretic Activity from Teucrium Polium L. Extracts (Lamiaceae) in Rats. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 2014. V. 5, P. 1259–1262. doi:10.13040/IJPSR.0975-8232.5(4).1259-62

89. Дудченко Л. Г., Козьяков А. С., Кривенко В. В. Пряно-ароматические и пряно-вкусовые растения: Справочник / Отв. ред. К. М. Сытник. К.: Наукова думка. 1989. 304 с. ISBN 5-12-000483-0.

90. Fathiazad F., Hamedeyazdan S. A review on Hyssopus officinalis L. Composition and biological activities. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* 2011. V. 5. P. 1959–1966.

91. Potential of Teucrium chamaedrys L. to modulate apoptosis and biotransformation in colorectal carcinoma cells / Milena G. Milutinović, Vuk M. Maksimović, Danijela M. Cvetković et al. Journal of Ethnopharmacology. 2019. V. 240. ISSN 0378-8741. https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.111951.

92. Bio-active compounds from teucrium plants used in the traditional medicine of Kurdistan region, Iraq / F. O. Abdullah, F. H. S. Hussain, A. S. Sardar et al. *Molecules*. 2022. V. 27(10). P. 3116. doi: 10.3390/molecules27103116. PMID: 35630593; PMCID: PMC9145536.

93. Kazemizadeh Zahra, Basiri Alireza, Habibi Zohreh. Chemical composition of the essential oil of Teucrium hyrcanicum and T. Chamaedrys L.

subsp. chamaedrys from Iran. *Chemistry of Natural Compounds.* 2008. V. 44. P. 651-653. 10.1007/s10600-008-9164-2.

94. Review on Teucrium polium biological activities and medical characteristics against different pathologic situations / Khazaei Mozafar, Nematollahi-Mahani seyed noureddin, Mokhtari Tahmineh, Sheikhbahaei Fatemeh. *Journal of Contemporary Medical Sciences*. 2018. V. 4. No. 1. P. 1-6

95. Лушпа В. І. Ефективне лікування диспепсії у немовлят і отруєнь препаратами міді за допомогою самосилу гайового (Teucrium chamaedrys L.) (Огляд літератури). *Фітотерапія. Часопис*. 2014. №3. С. 38-42.

96. Vikas Sharma. Teucrium Marum Verum – Homeopathic Medicine: Its Use, Indications And Dosage. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: https://www.drhomeo.com/medicine/teucrium-marum-verum-homeopathic-medicine-its-use-indications-and-dosage/

97. Нормативно-директивні документи МОЗ України. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http:// www.moz.gov.ua/

98. Довідник «Компендіум» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://compendium.com.ua/

99. Федорченко С. В., Курта С. А. Хроматографічні методи аналізу: навч. посіб. Івано-Франківськ: Прикарп. нац. ун-т ім. В. Стефаника. 2012. 146 с.

100. Державна Фармакопея України: у 3 т. / ДП «Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів». 2-ге вид. Х.: Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів, 2014. Т. 3. 732 с.

101. Державна фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Х. : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1130 с.

102. Державна фармакопея України / ДП «Український науковий фармако-пейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доп. 1. Х.: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.

103. Державна фармакопея України / ДП «Український науковий фармако-пейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доп. 2. Х.: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. 336 с.

104. Мусієнко С. Г., Кисличенко В. С. Дослідження фенольних сполук сировини лавра благородного. *Зб. наук. праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2014. Вип. 23 (4). С. 341–344.

105. Ковальов В. Н. Фармакогнозія з основами біохімії рослин : учбове видання / В. Н. Ковальов, О. І. Павлій, Т. І. Ісакова Х.: НФАУ, 2000. 704 с.

106. Практикум по фармакогнозии: Учеб. пособие для студ. вузов / В. Н. Ковалев, Н. В. Попова, В. С. Кисличенко и др. Х. : Золотые страницы, 2003. 640 с.

107. Макро- та мікроелементи. М. В. Погорєлов, В. І. Бумейстер, Г. Ф. Ткач та ін. Суми: СумДУ, 2010. 147 с.

108. Сорочан О. О., Штеменко Н. І. Методи аналізу амінокислот: навч.-метод. посіб. Д.: РВВ ДНУ, 2005. 60 с.

109. Лапач С. Н., Чубенко А. В. Применение современных количественных методов анализа в фармакологии и фармации. К.: Фармакологічний комітет. 1998. 140 с.

110. Бурлака І. С., Кисличенко В. С., Поздняков В. В. Дослідження полісахаридів та органічних кислот трави куничника звичайного та щучника дернистого. *Український медичний альманах*. 2011. Т. 14, № 3. С. 50-52.

111. Солодовниченко Н. М., Журавльов М. С., Ковальов В. М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати: посібник з фармакогнозії з основами біохімії лік. рослин Х. : Вид-во НФАУ «Золоті сторінки». 2001. 408 с.

112. Ковальов В. М., Бородіна Н. В. Вивчення ліпофільних речовин Populus tremula. Вісник фармації. 2003. № 4(36). С. 55-59.

113. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. Київ: Авіцена, 2001. 528 с.

114. Науково-методичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожемякін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко та ін. К. : Авіцена, 2002. 156 с.

115. Сидоров К. К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. Токсикология новых промышленных химических веществ. 1973. Вып. 13. С. 47-51.

116. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р. У. Хабриева. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ОАО Издательство «Медицина». 2005. С. 832.

117. Георгиевский В. П., Рыбаченко А. И., Козаков А. Л. Физико-химические и аналитические характеристики флавоноидных соединений. Р.: Изд-во Ростовского ун-та. 1988. С. 131.

118. Bashir Salim Faruk, Kumar Gaurav. Preliminary phytochemical screening and in vitro antibacterial activity of Plumbago indica (Laal chitrak) root extracts against drug-resistant Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae. *Open Agriculture*. 2021. Vol. 6. no. 1. P. 435-444. https://doi.org/10.1515/opag-2021-0026

119. Preliminary Phytochemical Screening, Quantitative Analysis of Alkaloids, and Antioxidant Activity of Crude Plant Extracts from Ephedra intermedia Indigenous to Balochistan / Rahman Gul, Syed Umer Jan, Syed Faridullah et al. *The Scientific World Journal.* Vol. 2017. Article ID 5873648, 7 pages. https://doi.org/10.1155/2017/5873648

120. Preliminary phytochemical screening of six medicinal plants used in traditional medicine / M. Yadav, S. Chatterji, S. K. Gupta, Geeta Watal. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 2014. V. 6. P. 539-542.

121. Sangeeta Sankhalkar, Vrunda Vernekar. Quantitative and Qualitative Analysis of Phenolic and Flavonoid Content in Moringa oleifera Lam and Ocimum tenuiflorum L. *Pharmacognosy Res.* 2016. V. 8 (1). P. 16–21. doi: 0.4103/0974-8490.171095

122. Стан забезпеченості макро- і мікроелементами у практично здорових людей різного віку / Ю. В. Гавалко, М. С. Романенко, Л. Л. Синєок та ін. *Проблемы старения и долголетия*. 2015. № 3–4.(24). С. 266–278.

123. Мінеральний склад кістки в різні терміни репаративного процесу / В. З. Сікора, В. І. Бумейстер, О. О. Устянський та ін. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2007. № 2. С. 150–153.

124. Хортецька Т. В., Смойловська Г. П., Мазулін О. В. Дослідження складу макро- та мікроелементів рослинної сировини Plantago media L. флори України. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2013. №1 (11). С. 12-14.

125. Гальченко С. М., Коротков П. А., Кириленко Є. К. Рентгенофлуоресцентний метод визначення мікроелементного складу питної води. *Нові технології*. 2009. № 1 (23). С. 214.

126. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Дослідження мікро- та макроелементного складу двох видів роду Самосил (*Teucrium* L.). *Фармацевтичний часопис*. 2022. Вип. 1. С. 20–24. https://doi.org/10.11603/2312-0967.2022.1.13053

127. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Дослідження кількісного вмісту мікро- та макроелементів *Teucrium chamaedrys* L. *«Grundlagen der modernen wissenschaftlichen forschung»*: матеріали II міжнародної науково-практичної конференції. 12 серпня 2022, Цюріх, Швейцарія. Collection of scientific papers «ΛΌГОΣ». С. 187-188. https://doi.org/logos-12.08.2022.59

128. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Порівняння кількісного вмісту мікро- та макроелементів у вегетативних органах *Teucrium montanum* L. *«Formation of innovative potential of world science»*: матеріали III міжнародної науково-теоретичної конференції, 19 серпня 2022, Тель-Авів, Ізраїль. Collection of scientific papers «SCIENTIA». 2022. С. 229-230. https://doi.org/10.36074/scientia-19.08.2022

129. Володимирець В. І. Біохімія рослин.: Інтеративний комплекс навчально - методичного забезпечення. Рівне: НУВГП. 2006. 127 с

130. Мазулін О. В., Калошина Н. А., Денисенко О. Н. Амінокислотний склад — важлива характеристика біологічної активності лікарської сировини. *Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики*: зб. наук. ст. Запоріжжя: Видво ЗДМУ. 1999. Вип. IV. С. 36–38.

131. Davies J. S. Aminoacids, peptides and proteins. Cambiidge: The Royal Society of Chemistry. 2006. 472p.

132. Зоценко Л. О., Цуркан О. О. Амінокислотний склад надземних органів Elsholtzia Stauntonii benth. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2017. Вип. 28. С. 51-57.

133. Губський Ю. І. Біологічна хімія. Вінниця : Нова книга, 2007. 656 с

134. Амінокислотний склад трави Polygonum hydropiper L. та Polygonum persicaria L. флори України / І. А. Лукіна, О. В. Мазулін, Г. П. Смойловська та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2015. № 1 (17). С. 56–59.

135. Амінокислотний склад трави перспективних видів роду Оман (Inula L.) флори України / О. К. Єренко, О. В. Мазулін, Г. П. Смойловська та ін. *Фармацевтичний журнал*. 2012. № 3. С. 94-98.

136. Цимбаліста Ю. А. Амінокислотний склад соняшника однорічного та топінамбура. *Фармацевтичний журнал*. 2011. № 3. С. 91–94.

137. Determination of amino acids in medicinal plants from Southern Sonora, Mexico / Edgar F. Moran-Palacio, Orlando Tortoledo-Ortiz, Grelda A. Yanez-Farias et al. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2014. Vol. 13 (4). P. 601–606.

138. Делян Є. П. Амінокислотний склад надземних органів рослин роду Sonchus. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2016. № 1. С. 102-106.

139. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Амінокислотний склад трави та коренів деяких перспективних рослин роду *Teucrium* L. флори України. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2022. Том 15. Випуск 6. С. 414–419. https://doi.org/10.33250/15.06.414

140. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Вивчення вмісту амінокислот деяких вегетативних органів Teucrium chamaedrys L. *«Globalization of scientific knowledge: international cooperation and integration of sciences»*: матеріали III міжнародної науково-практичної конференції, 17 червня 2022, Вінниця, Україна - Відень, Австрія. Grail of Science. Випуск 16. С. 580-581. https://doi.org/grail-of-science.17.06.2022.100

141. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Визначення концентрації амінокислот в траві та коренях Teucrium montanum L.. *«Débats scientifiques et orientations prospectives du développement scientifique»:* матеріали III міжнародної науково-практичної конференції, 8 липня 2022, Париж, Франція. Collection of scientific papers «ΛΌГОΣ». С. 360-361. https://doi.org/logos-08.07.2022.106

142. Паращук Е. А., Марчишин С. М., Слободянюк Л. В. Дослідження летких компонентів бедринцю ломикаменевого (Pimpinella saxifrage L.). *Мед. клін. хімія*. 2018. Т. 20. № 4. С. 107–113. https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2018.v0.i4.9822

143. GC-MS Analysis of the Composition of the Extracts and Essential Oil from Myristica fragrans Seeds Using Magnesium Aluminometasilicate as Excipient / I. Matulyte, M. Marksa, L. Ivanauskas et al. *Molecules.* 2019. Vol 24. P. 606.

144. Ozel M. Z., Gogus F., Lewis A. C. Determination of Teucrium chamaedrys volatiles by using direct thermal desorption-comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-offlight mass spectrometry. *J. Chromatogr A.* 2006. Vol. 1114. № 1. P.164-169.

145. Хромато-мас-спектрометричне дослідження летких сполук ефірної олії трави різних видів роду Salvia L. / О. М. Семенченко, О. О. Цуркан, О. А. Корабльова, О. В. Бурмака. *Фармац. журн*. 2013. № 1. С. 62–65.

146. Adams R. P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/mass Spectroscopy. Illinois Allured Publishing Croporation. 2001.

147. Anzina K. M., Gudzenko A. V. Component composition of essential oils of grass *Teucrium chamaedrys* L. using gas chromatography method with mass

detection. *Farmatsevtychnyi Zhurnal*. 2022. Вип. 3. P. 77-81. https://doi.org/10.32352/0367-3057.3.22.09

148. Войцехівська О. В. Ситар О. В., Таран Н. Ю. Фенольні сполуки: різноманіття, біологічна активність, перспективи застосування. *Вісн. Харк. нац. аграр. ун-ту. Серія "Біологія"*. 2015. Вип. 1 (34). С. 104–119.

149. Natural Flavonoids and Its Pharmaceutical Importance / S. Bose, D. Sarkar, A. Bose, S. C. Mandal. *The Pharma Review*. 2018. Vol. 12. P. 61–75.

150. Іващенко І. В. Дослідження фенольних сполук полину естрагенового (Artemisia dracunculus L.) за інтродукції в Житомирському Поліссі. *Агроекономічний журнал*. 2016. № 2. С. 60–64.

151. Кацуба І. К., Кисличенко В. С., Новосел О. М. Дослідження фенольних сполук листя мати-й-мачухи. *Укр. мед. альм*. 2011. 14, № 6. С. 92–94.

152. Романова, С. В., Ковальов С. В. Кількісне визначення фенольних сполук Lens culinaris. *Вісник фармації*. 2009. № 2. С. 24-26.

153. Федосов А. І., Кисличенко В. С., Новосел О. М. Визначення кількісного вмісту суми фенольних сполук в артишоку суцвіттях, часнику листі та цибулинах. *Медична та клінічна хімія*. Тернопіль, 2018. Т. 20. С.100-104

154. Ковтун-Водяницька С. М., Левон В. Ф., Ковтун-Водяницька С. М. Сумарний вміст фенольних сполук у надземній частині інтродуцентів роду Isodon (Schrad. ex Benth.). *Наук. записки. Біологія та екологія*. 2015. Вип. 171. С. 25–28.

155. Дослідження фенольних сполук хризантеми садової багаторічної (Chrysanthemum × hortorum Bailey) / С. М. Марчишин, О. Л. Демидяк, О. В. Полонець, М. С. Гарник. *Мед. та клініч. хімія*. 2016.18, № 2 (67). С. 48–53.

156. Марчишин, С. М., Стойко Л. І. Визначення фенольних сполуку траві Centaurium erythraea rafn. методом ВЕРХ. *Фармацевтичний часопис*. 2014. Вип 1. https://doi.org/10.11603/2312-0967.2014.1.2879

157. Порівняльний хроматографічний аналіз фенольних сполук у траві двох видів роду Чабер (Satureja L.) / М. І. Шанайда, О. В. Петрик, І. З. Кернична та ін. *Фармацевтичний часопис*. 2022. Вип. 4. С. 4–11.

158. Визначення вмісту жирних кислот у насінні подорожника середнього / О. О. Малюгіна, Т. В. Хортецька, Г. П. Смойловська та ін. *SWorldJournal*. 2020. Вип. 2 (04-02). С.12-16. DOI: 10.30888/2410-6615.2020-04-02-002

159. Федосов А. І., Кисличенко В. С., Новосел О. М. Дослідження жирнокислотного складу часнику листя та цибулин. *Медична та клінічна хімія*. 2017. Т. 19, № 4. С. 5-9. DOI 10.11603/mcch.2410-681X.2017.v0.i4.8334

160. Вишневська Л. І., Дегтярьова К. О., Бісага Є. І. Дослідження якісного і кількісного складу ліпофільних сполук в екстракті м'якоті гарбуза звичайного (Cucurbita pepo L.). *Фармацевтичний журнал*. 2014. № 4. С. 47-52.

161. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Аналіз жирнокислотного складу самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys* L.). *«Інноваційні тенденції сьогодення в сфері природничих, гуманітарних та точних наук»*: матеріали III міжнародної наукової конференції, 29 вересня 2023, м. Рівне, Україна. Міжнародний центр наукових досліджень. Вінниця: Європейська наукова платформа, 2023.С. 177-179 https://doi.org/10.36074/mcnd-29.09.2023

162. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Визначення жирнокислотного складу самосилу гірського (*Teucrium montanum* L.). *«Ricerche scientifiche e metodi della loro realizzazione: esperienza mondiale e realtà domestiche»*: матеріали IV міжнародної науково-практичної конференції, 29 вересня 2023, Болонья, Італія. Collection of scientific papers «ΛΌГОΣ». 2023. С. 257-258. https://doi.org/10.36074/logos-29.09.2023

163. Дослідження вмісту вуглеводів у плодах маслинки багатоквіткової (Elaeagnus multiflora L.) та маслинки вузьколистої (Elaeagnus angustifolia L.) / Є. М. Гергель, О. Ю. Коновалова, Т. В. Джан, Є. А. Власик. *Фармацевтичний журнал*. 2011. № 6. С. 96–98.

164. Кисличенко В. С., Ярошенко І. В., Кузнєцова В. Ю. Визначення полісахаридного та елементного складу клубенів салепу. *Вісник фармації.* 2008. № 1. С. 8–11.

165. Дослідження полісахаридних комплексів рослин родини Asteraceae. С. М. Марчишин, О. Л. Демидяк, І. С. Дахим та ін. *Science Rise*. 2015. № 10/4 (15). С. 31–35.

166. Тартинська Г. С., Журавель І. О., Кисличенко В. С. Визначення якісного складу та кількісного вмісту цукрів та органічних кислот в траві талабану польового. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини.* 2011. Т. 6, № 3. С. 116–117.

167. Цуркан О. О., Ковальчук Т. В., Бурмака О. В. Ідентифікація та кількісне визначення полісахаридів у квітках конюшини лучної. *Фармацевтичний журнал*. 2008. № 6. С. 109–113.

168. Кочетков Н.К. Химия биологически активных соединений. 1970. 631 с.

169. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Вивчення вмісту полісахаридів у траві самосилу гайового та самосилу гірського. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2022. Том 16. Випуск 2. С. 131-135. https://doi.org/10.33250/16.02.131

170. Wagner H., Bladt S. Plant drug analysis. – 2nd ed. – Berlin: Springer, 2001. – 384 p.

171. Bunnell, R.H. The Vitamins. Vol. VI. NY: Academic Press. 1967. P.265–316.

172. Шанайда М.І., Олещук О.М. Вивчення гострої токсичності рідкого екстракту трави чаберу садового. *Укр. біофарм. журнал*. 2017. № 4 (51). С.22–26.

173. Вивчення гострої токсичності та фармакологічної активності сухого екстракту трави вероніки лікарської / С. М. Марчишин, Т. Я. Ярошенко, І. І. Мілян та ін. *Мед. та клін. хімія*. 2015. № 4. С. 96-100.

174. Прозоровский В.Б. Табличный экспресс-метод определения средних эффективных мер воздействия на биологические объекты. *Токсикол. весник*. 1998. №1. с. 28–32.

175. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the Approximation of the Laws, Regulations and Administrative Provisions of the

Member States Regarding the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Official Journal of the European Communities. 1986. L 358. P. 1-29.

176. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose : Council of Europe. Strasbourg, 1986. 52 p.

177. Про затвердження порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів : Наказ МОЗ України № 944 від 14.12.2009 р. Офіційний вісник України. Офіц. вид. 2010. 4. 61 с.

178. Про затвердження Порядку проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань і Типового положення про комісії з питань етики : Наказ МОЗ України № 690 від 23.09.2009. Офіційний вісник України. Офіц. вид. 2009. № 87. 95 с.

179. Про захист тварин від жорстокого поводження : Закон України № 3447-IV. Відомості Верховної Ради України. Офіц. вид. 2006. № 27. 230 с.

180. Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах : Наказ Міністерства освіти, науки, молоді та спорту України № 249 від 01.03.2012. Офіційний вісник України. Офіц. вид. 2012. № 24. С. 82.

181. Лабораторные животные: разведение, соержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария, Б. В. Западнюк. К.: Вища шк., 1983. 384 с.

182. OECD Guideline for Testing of Chemicals. OECD Guideline 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure, Approved: June 1998, Adopted: December 17, 2001.

183. Халафяна А. А. Сучасні статистичні методи медичних досліджень. М.: ЛКИ, 2008. 320с.

184. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Дослідження гострої токсичності сухого екстракту самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys L*). *«Scientific forum: theory and practice of research»*: матеріали IV міжнародної науково-

теоретичної конференції, 6 жовтня 2023, Валенсія, Іспанія. Collection of scientific papers «SCIENTIA». 2023. С. 88-90 https://doi.org/10.36074/scientia-06.10.2023

185. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Визначення протизапальної активності сухого екстракту самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys L*). *«Інтелектуальний ресурс сьогодення: наукові задачі, розвиток та запитання»*: матеріали І міжнародної наукової конференції, 6 жовтня 2023. м. Дніпро, Україна. Міжнародний центр наукових досліджень. Вінниця: ТОВ «УКРЛОГОС Груп, 2023. 116 с. С. 100-101 https://doi.org/10.36074/mcnd-06.10.2023

186. Wood R. L. Animal models in analgesic testing. Analgesics: neurochemical, behavioral and clinical perspectives; editors: M. Kuhar, J. Pasternak. New-York : Raven Press, 1941. V. 42. 74 p.

187. Drug discovery and evaluation: pharmacological assays; ed. by H. Gerhard Vogel. 2nd ed. Berlin : Springer-Verlag; New York : Heidelberg, 2002. 1453 p.

188. Calcaterra N. E., Barrow J. C. Classics in chemical neuroscience: diazepam (valium). *ACS Chem. Neurosci.* 2014. V. 5 (4). P. 253–260.

189. Vogel G. H. Drug discovery and evaluation. Pharmacological assays. Second completely revised, updated, and enlarged edition. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 2002. 1026 p.

190. Gerald M. C., Riffee W. H. Acute and chronic effects of d- and i-amphetamine on seizure susceptibil-ity in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 1973. V. 21, No 3. P. 323–330

191. Литвиненко В. І., Попова Т. П., Аммосов О. С. Диференціальна УФ – спектроскопія флавоноїдів. *Фармацевтичний журнал*. 1976. № 6. С. 20–28.

192. Anzina K. M., Gudzenko A. V., Kalko K. O. Preliminary phytochemical screening and antioxidant activities of the extract of *Teucrium chamaedrys* L. *PharmacologyOnLine*. 2021. V. 2, P. 972-977.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

1. Anzina K. M., Gudzenko A. V., Kalko K. O. Preliminary phytochemical screening and antioxidant activities of the extract of *Teucrium chamaedrys L. PharmacologyOnLine*. 2021. V. 2, P. 972-977. (Scopus). (*Особистий внесок* – брала участь у плануванні та проведені експерименту, в обговоренні, обробці результатів дослідження та підготовці статті)

2. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Амінокислотний склад трави та коренів деяких перспективних рослин роду *Teucrium L.* флори України. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2022. Том 15. Випуск 6. С. 414–419. https://doi.org/10.33250/15.06.414 (*Особистий внесок* – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)

3. Anzina K. M., Gudzenko A. V. Component composition of essential oils of grass *Teucrium chamaedrys L.* using gas chromatography method with mass detection. *Farmatsevtychnyi Zhurnal*. 2022. Вип. 3. P. 77-81. https://doi.org/10.32352/0367-3057.3.22.09 (*Особистий внесок* – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)

4. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Вивчення вмісту полісахаридів у траві самосилу гайового та самосилу гірського. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2022. Том 16. Випуск 2. С. 131-135. https://doi.org/10.33250/16.02.131 (*Особистий внесок* – брала участь у плануванні та проведені експерименту, в обговоренні, обробці результатів дослідження та підготовці статті)

5. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Дослідження мікро- та макроелементного складу двох видів роду Самосил (*Teucrium* L.). *Фармацевтичний часопис*. 2022. Вип. 1. С. 20–24. https://doi.org/10.11603/2312-0967.2022.1.13053 (*Особистий внесок* – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)

6. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Вивчення вмісту амінокислот деяких вегетативних органів Teucrium chamaedrys L. *«Globalization of scientific knowledge: international cooperation and integration of sciences»*: матеріали III міжнародної науково-практичної конференції, 17 червня 2022, Вінниця, Україна - Відень, Австрія. Grail of Science. Випуск 16. С. 580-581. https://doi.org/grail-of-science.17.06.2022.100

7. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Визначення концентрації амінокислот в траві та коренях Teucrium montanum L.. *«Débats scientifiques et orientations prospectives du développement scientifique»:* матеріали III міжнародної науково-практичної конференції, 8 липня 2022, Париж, Франція. Collection of scientific papers «ΛΌГОΣ». С. 360-361. https://doi.org/logos-08.07.2022.106

8. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Дослідження кількісного вмісту мікро- та макроелементів *Teucrium chamaedrys* L. *«Grundlagen der modernen wissenschaftlichen forschung»*: матеріали II міжнародної науково-практичної конференції. 12 серпня 2022, Цюріх, Швейцарія. Collection of scientific papers «ΛΌГОΣ». С. 187-188. https://doi.org/logos-12.08.2022.59

9. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Порівняння кількісного вмісту мікро- та макроелементів у вегетативних органах *Teucrium montanum* L. *«Formation of innovative potential of world science»*: матеріали III міжнародної науково-теоретичної конференції, 19 серпня 2022, Тель-Авів, Ізраїль. Collection of scientific papers «SCIENTIA». 2022. С. 229-230. https://doi.org/10.36074/scientia-19.08.2022

10. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Аналіз жирнокислотного складу самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys* L.). *«Інноваційні тенденції сьогодення в сфері природничих, гуманітарних та точних наук»*: матеріали III міжнародної наукової конференції, 29 вересня 2023, м. Рівне, Україна. Міжнародний центр наукових досліджень. Вінниця: Європейська наукова платформа, 2023.С. 177-179 https://doi.org/10.36074/mcnd-29.09.2023

11. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Визначення жирнокислотного складу самосилу гірського (*Teucrium montanum* L.). *«Ricerche scientifiche e metodi della*

loro realizzazione: esperienza mondiale e realtà domestiche»: матеріали IV міжнародної науково-практичної конференції, 29 вересня 2023, Болонья, Італія. Collection of scientific papers «ΛΌГОΣ». 2023. С. 257-258. https://doi.org/10.36074/logos-29.09.2023

12. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Дослідження гострої токсичності сухого екстракту самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys L*). *«Scientific forum: theory and practice of research»*: матеріали IV міжнародної науково-теоретичної конференції, 6 жовтня 2023, Валенсія, Іспанія. Collection of scientific papers «SCIENTIA». 2023. С. 88-90 https://doi.org/10.36074/scientia-06.10.2023

13. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Визначення протизапальної активності сухого екстракту самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys L*). *«Інтелектуальний ресурс сьогодення: наукові задачі, розвиток та запитання»*: матеріали І міжнародної наукової конференції, 6 жовтня 2023. м. Дніпро, Україна. Міжнародний центр наукових досліджень. Вінниця: ТОВ «УКРЛОГОС Груп, 2023. 116 с. С. 100-101 https://doi.org/10.36074/mcnd-06.10.2023

Продовж. дод. А

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на наступних науково-практичних конференціях:

1. III Міжнародна науково-практична конференція «Globalization of scientific knowledge: international cooperation and integration of sciences».(17 червня 2022, Вінниця, Україна – Відень, Австрія, форма участі – публікація тез);

2. III Міжнародна науково-практична конференціїя «Débats scientifiques et orientations prospectives du développement scientifique» (8 серпня 2022, Париж, Франція, форма участі – публікація тез);

3. II Міжнародна науково-практична конференція «Grundlagen der modernen wissenschaftlichen forschung» (12 серпня 2022, Цюріх, Швейцарія, форма участі – публікація тез);

4. III Міжнародна науково-теоретична конференція «Formation of innovative potential of world science» (19 серпня 2022, Тель Авів, Ізраїль, форма участі – публікація тез);

5. III Міжнародна наукова конференція «Інноваційні тенденції сьогодення в сфері природничих, гуманітарних та точних наук» (29 вересня 2023, Рівне, Україна, форма участі – публікація тез);

6. IV Міжнародна науково-практична конференціїя «Ricerche scientifiche e metodi della loro realizzazione: esperienza mondiale e realtà domestiche».. (29 вересня 2023, Болонья, Італія, форма участі – публікація тез);

7. IV Міжнародна науково-теоретична конференція «Scientific forum: theory and practice of research» (6 листопада 2023, Валенсія, Іспанія, форма участі – публікація тез);

8. I Міжнародна наукова конференція «Інтелектуальний ресурс сьогодення: наукові задачі, розвиток та запитання» (6 листопада 2023, Дніпро, Україна, форма участі – публікація тез).

Додаток Б

ЗАТВЕРДЖЕНО
Наказ Міністерства охорони здоров'я України
_____№ _____
Реєстраційне посвідчення
№_____

Заявник, країна:

Виробник, країна:

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Трава самосилу гайового

Трава самосилу гайового, у пачках по 50 г

Продовж. дод. Б

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

на траву самосилу гайового

Методи контролю якості розповсюджується на зібрану в період цвітіння та висушену траву рослини самосилу гайового (Teucrium chamaedrys L.), яка використовується в якості сировини для отримання лікарських препаратів.

Продовж. дод. Б

СПЕЦИФІКАЦІЯ

Найменування показників	**Допустимі норми**	**Методи контролю**
1. Опис	Подрібнена сировина складається зі шматочків чотиригранних стебел, світло-зеленого кольору, помірно опушених, фрагментів листків з нерівномірно надрізано-зубчастим краєм, від зеленого до сизувато-зеленого кольору, фрагментів суцвіть – чашечок зеленого кольору та блідо-пурпурових квіток. Запах сировини специфічний. Смак гіркуватий.	п. 1 МКЯ ЛЗ (органолептично)
2. Мікроскопія	Згідно МКЯ	п. 1 МКЯ ЛЗ
3. Ідентифікація 3.1. Поліфенольні сполуки	З розчином заліза (III) хлориду з'являється зелене забарвлення	п. 3.1 МКЯ ЛЗ
3.2. Амінокислоти	З розчином нінгідрину з'являється фіолетове забарвлення	п. 3.2 МКЯ ЛЗ
3.3. Хлорогенова кислота, цикорієва кислота, рутин.	На хроматограмі розчину А повинні бути наявні хроматографічні зони хлорогенової кислоти, цикорієвої кислоти та рутину.	ВЕРХ ДФУ, п. 2.2.27, п. 3.3 МКЯ ЛЗ
4. Важкі метали	Не більше 0,001 %	ДФУ, 2.4.27, п. 4 МКЯ ЛЗ
5. Втрата в масі при висушуванні	Не більше 10 %	ДФУ, 2.2.32, п. 5 МКЯ ЛЗ
6. Вміст загальної золи	Не більше 10 %	ДФУ, 2.4.16, п. 6 МКЯ ЛЗ
7. Частинок, що проходять крізь сито з диаметром отворів 0,2 мм	Не більше 10 %	ДФУ, 2.1.4, п. 7 МКЯ ЛЗ
8. Органічних домішок	Не більше 2 %	ДФУ, 2.8.2, п. 8 МКЯ ЛЗ
9. Мінеральних домішок	Не більше 1 %	ДФУ, 2.8.2, п. 9 МКЯ ЛЗ
10. Маса вмісту упаковки	від 47,5 г до 52,5 г.	п. 10 МКЯ ЛЗ

11. Кількісний вміст 11.1. Похідні гідроксикоричної кислоти	Не менше 2 %	Спектрофото-метричний метод, ДФУ, 2.2.25, п. 11.1 МКЯ ЛЗ
11.2. Флавоноїди	Не менше 0,25 %	п. 11.3 МКЯ ЛЗ
12.Мікробіологічна чистота	В препараті допускається загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10^7 бактерій і не більше 10^5 грибів в 1 г. Не більше 10^2 бактерій *Esherichia coli* в 1 г.	ДФУ, 5.1.4, (кат.4), 2.6.12, 2.6.13, п. 12 МКЯ ЛЗ

Продовж. дод. Б

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ

1. Опис. Подрібнена сировина складається зі шматочків чотиригранних стебел, світло-зеленого кольору, помірно опушених, фрагментів листків з нерівномірно надрізано-зубчастим краєм, від зеленого до сизувато-зеленого кольору, фрагментів суцвіть – чашечок зеленого кольору та блідо-пурпурових квіток. Запах сировини специфічний. Смак гіркуватий.

2. Мікроскопія. Аналітичну пробу для визначення достовірності просіюють крізь сито з діаметром отворів 0,2 мм за ГОСТ 4403-91. Частину просіву використовують для виготовлення мікропрепаратів.

При розгляді під мікроскопом повинні бути видні наступні елементи: з обох боків листки помірно опушені криючими та залозистими трихомами. На адаксіальній поверхні спрямованість волосків переважно акроскопна. На абаксіальній стороні їх орієнтація частіше базископна або перпендикулярна поверхні жилок. Основні епідермальні клітини абаксіальної сторони тонкостінні, неправильної (амебоподібної) форми зі звивистими обрисами, в проекції розпростерті, суміжні кути закруглені. Клітини епідерми адаксіальної сторони листкової пластинки багатокутні, полігональні, рідше ізодіаметричні з більш-менш хвилястими чи зигзагуватими антиклінальними стінками. Опушення чашечки утворене криючими простими однорядними 2-3 клітинними чи багатоклітинними прозорими волосками. Внутрішня поверхня чашечки опушена лише у верхній частині.

3. Ідентифікація.

Приготування розчину А. 5,00 г (точна наважка) досліджуваної сировини вносять в конічну колбу, обладнану зворотним холодильником, додають 50 мл 70 % етилового спирту та витримують на киплячому водяному огрівнику протягом 45 хв. Після цього екстракт охолоджують до кімнатної температури та

Продовж. дод. Б

фільтрують через фільтр «червона стрічка» в мірну колбу об'ємом 100,00 мл. Екстракцію проводять ще раз та доводять об'єм витягів до 100,00 мл 70 % етиловим спиртом.

3.1. До 3 мл розчину А додають 0,5 мл 50 % розчину заліза (III) хлориду Р. Має спостерігатися темно-коричневе забарвлення з зеленим відтінком, яке зникає при додаванні 0,5 мл кислоти сірчаної розведеної Р (поліфенольні сполуки).

3.2. До 2 мл розчину А додають 2 мл 1 % розчину нінгідрину Р спиртового і нагрівають на водяній бані протягом 2 хв при постійному перемішуванні. Утворюється фіолетове забарвлення (амінокислоти).

3.3. Хлорогенова кислота, цикорієва кислота, рутин.

На лінію старту хроматографічної пластинки «Kieselgel 60 F_{254}» розміром 4×10 см або аналогічної наносять 5 мкл розчину А. Пластинку сушать на повітрі протягом 5 хв, вміщають у камеру з системою розчинників етилацетат-льодяна оцтова кислота-мурашина кислота-вода (100:11:11:26) і хроматографують висхідним способом. Коли фронт розчинників пройде біля 8 см від лінії старту, пластинку виймають з камери, висушують на повітрі протягом 10 хв та послідовно обприскують 1 % розчином дифенілборилоксиетиламіну в метанолі та 5 % розчином поліетиленгліколю-4000 в етанолі.

Після обприскування пластинку висушують та переглядають за довжини хвилі 365 нм. На хроматограмі розчину А мають виявлятися наступні хроматографічні зони: зона помаранчового кольору з R_f біля 0,4 (рутин), зона блакитного кольору з R_f біля 0,5 (хлорогенова кислота) та зона блакитного кольору з R_f біля 0,8 (цикорієва кислота).

Продовж. дод. Б

Примітки:	1. Приготування 1 % розчину дифеніл-борилоксиетиламіну. 1 г дифенілборилоксиетиламіну (Sigma-Aldrich кат № 8.41636 або аналогічний) вміщують в мірну колбу об'ємом 100 мл, розчиняють в 30 мл метанолу, доводять метанолом до мітки та перемішують. Термін придатності розчину 1 місяць при зберіганні у холодильнику. 2. Приготування 5 % розчину поліетиленгліколю-4000. 5 г поліетиленгліколю-4000 (Sigma-Aldrich кат №P3265 або аналогічний) вміщують в мірну колбу об'ємом 100 мл, розчиняють в 30 мл етанолу, доводять етанолом до мітки та перемішують. Термін придатності розчину 1 місяць при зберіганні у холодильнику.

4. Важкі метали. Не більше 0,001 % в препараті (ДФУ, п. 2.4.27).

5. Втрата в масі при висушуванні. Не більше 10 % (ДФУ, п. 2.2.32).

6. Вміст загальної золи. Не більше 10 % (ДФУ п. 2.4.16).

7. Частинок, що проходять крізь сито з диаметром отворів 0,2 мм. Частинок, що проходять крізь сито з диаметром отворів 0,2 мм повинно бути не більше 10 % (ДФУ п. 2.1.4).

8. Органічних домішок. Не більше 2 % (ДФУ п. 2.8.2).

9. Мінеральних домішок. Не більше 1 % (ДФУ п. 2.8.2).

10. Маса вмісту упаковки. Маса вмісту однієї упаковки повинна знаходиться в межах від 47,5 г до 52,5 г.

11. Кількісне визначення

11.1. Похідні гідроксикоричної кислоти

Продовж. дод. Б

1,00 мл розчину А вміщують в мірну колбу об'ємом 25,00 мл, додають 2 мл 0,5 М хлористоводневої кислоти, 2 мл розчину натрію нітриту і натрію молібдату та 1 мл розчину натрію гідроксиду розведеного. Доводять до позначки водою і перемішують (випробуваний розчин).

Вимірюють оптичну густину випробуваного розчину та випробованого розчину хлорогенової кислоти за довжини хвилі 505 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи в якості компенсаційного розчин, аналогічний за складом досліджуваному, але без додавання розчину натрію нітриту і натрію молібдату.

Обчислюють відсотковий вміст похідних гідроксикоричної кислоти (X_1),у відсотках, у перерахунку на хлорогенову кислоту, за наступною формулою:

$$X_1 = \frac{A1 \times m0 \times 100 \times 25 \times 1 \times 100}{A0 \times m1 \times 1 \times 100 \times 25 \times (100 - W)},$$

де A_1 – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина випробуваного розчину хлорогенової кислоти;

m_1 – маса наважки досліджуваної сировини;

m_0 – маса наважки хлорогенової кислоти в розчині порівняння хлорогенової кислоти;

W – втрата в масі при висушуванні в досліджуваному препараті, %.

Приготування розчину порівняння хлорогенової кислоти. Близько 0,10 г (точна наважка) хлорогенової кислоти (Sigma-Aldrich кат № C3878 або аналогічний) вміщають у мірну колбу ємністю 100,00 мл, розчиняють у 80 мл 96 % спирту етилового Р, доводять об'єм розчину спиртом етиловим 96 % до позначки, перемішують. Термін придатності розчину 1 міс при зберіганні в добре закупореній тарі в прохолодному, захищеному від світла місці.

Продовж. дод. Б

1,00 мл отриманого розчину вміщують в мірну колбу об'ємом 25,00 мл, додають 2 мл 0,5 М хлористоводневої кислоти, 2 мл розчину натрію нітриту і натрію молібдату та 1 мл розчину натрію гідроксиду розведеного. Доводять до позначки водою і перемішують (випробуваний розчин хлорогенової кислоти).

Приготування 0,5 М розчину хлористоводневої кислоти. У мірну колбу місткістю 100,0 мл поміщають 80 мл води Р, повільно вливають 4,25 мл кислоти хлористоводневої концентрованої і доводять водою Р до мітки. Термін придатності розчину 30 діб.

Приготування розчину натрію нітриту і натрію молібдату. У мірну колбу об'ємом 100,0 мл вміщують 10,0 г натрію нітриту Р та 10,0 г натрію молібдату. Розчиняють у невеликій кількості води, доводять тим же самим розчинником до позначки. Фільтрують через паперовий фільтр. Термін придатності розчину 5 діб.

Приготування розчину натрію гідроксиду розведеного. У мірну колбу ємністю 25,0 мл поміщають 2,125 г натрію гідроксиду Р, розчиняють у воді Р, доводять до позначки тим самим розчинником і перемішують. Термін придатності розчину 5 діб.

Вміст похідних гідроксикоричної кислоти в препараті повинен бути не меншим, ніж 2 %.

11.2. Флавоноїди

1,00 мл розчину А поміщають у мірну колбу місткістю 25,00 мл, додають 5 мл 70 % спирту етилового, 5 мл 5 % розчину алюмінію хлориду в 70 % спирті етиловому, 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти в 70 % спирті етиловому, доводять об'єм розчину 70 % спиртом етиловим до позначки і перемішують.

Через 30 хв вимірюють оптичну густину одержаного розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 408 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм,

Продовж. дод. Б

використовуючи як компенсаційний розчин, що складається з 1,00 мл препарату, 5 мл 70 % спирту етилового і 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти в 70 % спирті етиловому, які вміщені у мірну колбу місткістю 25,00 мл та доведені 70 % спиртом етиловим до позначки.

Паралельно, через 30 хв, вимірюють оптичну густину розчину, що містить 1,00 мл розчину порівняння рутину, приготованого аналогічно випробуваному розчину, використовуючи як компенсаційний розчин розчин, що складається з 1,00 мл розчину порівняння, 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти в 70 % спирті етиловому, які поміщені в мірну колбу місткістю 25,00 мл і доведені 70 % спиртом етиловим до позначки.

Вміст суми флавоноїдів (X_3) в препараті в перерахунку на рутин в відсотках обчислюють за формулою:

$$X_3 = \frac{A \times m_0 \times P \times 1 \times 25 \times 50 \times 100 \times 100}{A_0 \times m \times 100 \times 100 \times 25 \times 1 \times (100 - W)} = \frac{A \times m_0 \times 50 \times P}{A_0 \times m \times (100 - W)},$$

де A – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину порівняння рутину;

m_0 – маса наважки рутину в розчині порівняння рутину, в г;

P – вміст рутину, зазначений в сертифікаті якості, %;

m – маса наважки досліджуваного препарату;

W – втрата в масі при висушуванні в досліджуваному препараті, %.

Приготування розчину порівняння рутину. Близько 0,025 г (точна наважка) рутину (Fluka кат № 84082 або аналогічний), висушеного при температурі 135°С до постійної ваги, поміщають у мірну колбу ємністю 100,00 мл, розчиняють у 80 мл 96 % спирту етилового Р при нагріванні на водяній бані, після охолодження доводять об'єм розчину спиртом етиловим 96 % до позначки, перемішують.

Продовж. дод. Б

Термін придатності розчину 1 місяць при зберіганні в добре закупореній тарі в прохолодному, захищеному від світла місці.

Приготування 5 % розчину алюмінію хлориду. 5,0 г алюмінію хлориду Р поміщають в мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняють в 70 % спирті етиловому, доводять об'єм розчину 70 % спиртом етиловим до позначки і перемішують. Термін придатності 5 діб.

Приготування 5 % розчину кислоти оцтової. У мірну колбу місткістю 100,0 мл з 70 % спиртом етиловим поміщають 5,0 мл кислоти оцтової льодяної Р і 70 % спиртом етиловим доводять об'єм до позначки, перемішують. Термін придатності розчину 5 діб.

Вміст суми флавоноїдів у перерахуванні на рутин у препараті повинен бути не меншим ніж 0,25 %.

12. Мікробіологічна чистота.

Випробування проводять у відповідності з вимогами ДФУ п. 5.1.4, (кат.4), п. 2.6.12, п. 2.6.13.

В сировині допускається загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10^7 бактерій і не більше 10^5 грибів в 1 г.

Не більше 10^2 бактерій *Esherichia coli* в 1 г.

13. Упаковка.

14. Маркування.

15. Умови зберігання.

При температурі не вище 25ºС.

16. Термін придатності.

2 роки.

Протизапальний засіб.

Анальгезуючий засіб.

Продовж. дод. Б

ЗАТВЕРДЖЕНО
Наказ Міністерства охорони здоров'я України
_____№ _____
Реєстраційне посвідчення
№_____

Заявник, країна:

Виробник, країна:

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Трава самосилу гірського
Трава самосилу гірського, у пачках по 50 г

Продовж. дод. Б

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

на траву самосилу гірського

Методи контролю якості розповсюджується на зібрану в період цвітіння та висушену траву рослини самосилу гірського (Teucrium montanum L.), яка використовується в якості сировини для отримання лікарських препаратів.

Продовж. дод. Б

СПЕЦИФІКАЦІЯ

Найменування показників	Допустимі норми	Методи контролю
1. Опис	Подрібнена сировина складається зі шматочків чотиригранних стебел, сірувато-білих від опушення, фрагментів цілокраїх листків, загнутих донизу, від зеленого до сизувато-зеленого кольору, фрагментів суцвіть – чашечок зеленого кольору та блідо-жовтих квіток. Запах сировини специфічний. Смак гіркуватий.	п. 1 МКЯ ЛЗ (органолептично)
2. Мікроскопія	Згідно МКЯ	п. 1 МКЯ ЛЗ
3. Ідентифікація 3.1. Поліфенольні сполуки	З розчином заліза (III) хлориду з'являється зелене забарвлення	п. 3.1 МКЯ ЛЗ
3.2. Амінокислоти	З розчином нінгідрину з'являється фіолетове забарвлення	п. 3.2 МКЯ ЛЗ
3.3. Хлорогенова кислота, цикорієва кислота, рутин.	На хроматограмі розчину А повинні бути наявні хроматографічні зони хлорогенової кислоти, цикорієвої кислоти та рутину.	ВЕРХ ДФУ, п. 2.2.27, п. 3.3 МКЯ ЛЗ
4. Важкі метали	Не більше 0,001 %	ДФУ, 2.4.27, п. 4 МКЯ ЛЗ
5. Втрата в масі при висушуванні	Не більше 10 %	ДФУ, 2.2.32, п. 5 МКЯ ЛЗ
6. Вміст загальної золи	Не більше 10 %	ДФУ, 2.4.16, п. 6 МКЯ ЛЗ
7. Частинок, що проходять крізь сито з диаметром отворів 0,2 мм	Не більше 10 %	ДФУ, 2.1.4, п. 7 МКЯ ЛЗ
8. Органічних домішок	Не більше 2 %	ДФУ, 2.8.2, п. 8 МКЯ ЛЗ
9. Мінеральних домішок	Не більше 1 %	ДФУ, 2.8.2, п. 9 МКЯ ЛЗ
10. Маса вмісту упаковки	від 47,5 г до 52,5 г.	п. 10 МКЯ ЛЗ

11. Кількісний вміст 11.1. Похідні гідроксикоричної кислоти	Не менше 1,5 %	Спектрофото-метричний метод, ДФУ, 2.2.25, п. 11.1 МКЯ ЛЗ
11.2. Флавоноїди	Не менше 0,2 %	п. 11.3 МКЯ ЛЗ
12.Мікробіологічна чистота	В препараті допускається загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10^7 бактерій і не більше 10^5 грибів в 1 г. Не більше 10^2 бактерій *Esherichia coli* в 1 г.	ДФУ, 5.1.4, (кат.4), 2.6.12, 2.6.13, п. 12 МКЯ ЛЗ

Продовж. дод. Б

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ

1. Опис. Подрібнена сировина складається зі шматочків чотиригранних стебел, сірувато-білих від опушення, фрагментів цілокраїх листків, загнутих донизу, від зеленого до сизувато-зеленого кольору, фрагментів суцвіть – чашечок зеленого кольору та блідо-жовтих квіток. Запах сировини специфічний. Смак гіркуватий.

2. Мікроскопія. Аналітичну пробу для визначення достовірності просіюють крізь сито з діаметром отворів 0,2 мм за ГОСТ 4403-91. Частину просіву використовують для виготовлення мікропрепаратів.

При розгляді під мікроскопом повинні бути видні наступні елементи: з адаксіального боку листків криючі волоски розміщені більш-менш рівномірно по усій поверхні листкової пластинки, а також по її краю, орієнтовані акроскопно. З абаксіальної сторони криючі волоски також акроскопні, сконцентровані переважно вздовж центральної та бічних жилок, а також по краю листкової пластинки. Основні клітини епідерми адаксіальної поверхні дрібні, видовжені, неправильної форми, з тонкими дугоподібними, ледь хвилястими чи майже прямими антиклінальними стінками, в проекції багатокутні, з гострими чи тупими закругленими суміжними кутами. Чашечка густо опушена, окрім верхівки зубців. Зубці видовжені, термінально загострені, латеральні сторони увігнуті.

3. Ідентифікація.

Приготування розчину А. 5,00 г (точна наважка) досліджуваної сировини вносять в конічну колбу, обладнану зворотним холодильником, додають 50 мл 70 % етилового спирту та витримують на киплячому водяному огрівнику протягом 45 хв. Після цього екстракт охолоджують до кімнатної температури та фільтрують через фільтр «червона стрічка» в мірну колбу об'ємом 100,00 мл. Екстракцію проводять ще раз та доводять об'єм витягів до 100,00 мл 70 % етиловим спиртом.

Продовж. дод. Б

3.1. До 3 мл розчину А додають 0,5 мл 50 % розчину заліза (III) хлориду Р. Має спостерігатися темно-коричневе забарвлення з зеленим відтінком, яке зникає при додаванні 0,5 мл кислоти сірчаної розведеної Р (поліфенольні сполуки).

3.2. До 2 мл розчину А додають 2 мл 1 % розчину нінгідрину Р спиртового і нагрівають на водяній бані протягом 2 хв при постійному перемішуванні. Утворюється фіолетове забарвлення (амінокислоти).

3.3. Хлорогенова кислота, цикорієва кислота, рутин.

На лінію старту хроматографічної пластинки «Kieselgel 60 F_{254}» розміром 4×10 см або аналогічної наносять 5 мкл розчину А. Пластинку сушать на повітрі протягом 5 хв, вміщають у камеру з системою розчинників етилацетат-льодяна оцтова кислота-мурашина кислота-вода (100:11:11:26) і хроматографують висхідним способом. Коли фронт розчинників пройде біля 8 см від лінії старту, пластинку виймають з камери, висушують на повітрі протягом 10 хв та послідовно обприскують 1 % розчином дифенілборилоксиетиламіну в метанолі та 5 % розчином поліетиленгліколю-4000 в етанолі.

Після обприскування пластинку висушують та переглядають за довжини хвилі 365 нм. На хроматограмі розчину А мають виявлятися наступні хроматографічні зони: зона помаранчового кольору з R_f біля 0,4 (рутин), зона блакитного кольору з R_f біля 0,5 (хлорогенова кислота) та зона блакитного кольору з R_f біля 0,8 (цикорієва кислота).

Примітки:	1. Приготування 1 % розчину дифеніл-борилоксиетиламіну. 1 г дифенілборилоксиетиламіну (Sigma-Aldrich кат № 8.41636 або аналогічний) вміщують в мірну колбу об'ємом 100 мл, розчиняють в 30 мл метанолу, доводять метанолом до мітки та перемішують. Термін придатності розчину 1 місяць при зберіганні у холодильнику.

Продовж. дод. Б

	2. Приготування 5 % розчину поліетиленгліколю-4000. 5 г поліетиленгліколю-4000 (Sigma-Aldrich кат №P3265 або аналогічний) вміщують в мірну колбу об'ємом 100 мл, розчиняють в 30 мл етанолу, доводять етанолом до мітки та перемішують. Термін придатності розчину 1 місяць при зберіганні у холодильнику.

4. Важкі метали. Не більше 0,001 % в препараті (ДФУ, п. 2.4.27).

5. Втрата в масі при висушуванні. Не більше 10 % (ДФУ, п. 2.2.32).

6. Вміст загальної золи. Не більше 10 % (ДФУ п. 2.4.16).

7. Частинок, що проходять крізь сито з диаметром отворів 0,2 мм. Частинок, що проходять крізь сито з диаметром отворів 0,2 мм повинно бути не більше 10 % (ДФУ п. 2.1.4).

8. Органічних домішок. Не більше 2 % (ДФУ п. 2.8.2).

9. Мінеральних домішок. Не більше 1 % (ДФУ п. 2.8.2).

10. Маса вмісту упаковки. Маса вмісту однієї упаковки повинна знаходиться в межах від 47,5 г до 52,5 г.

11. Кількісне визначення

11.1. Похідні гідроксикоричної кислоти

1,00 мл розчину А вміщують в мірну колбу об'ємом 25,00 мл, додають 2 мл 0,5 М хлористоводневої кислоти, 2 мл розчину натрію нітриту і натрію молібдату та 1 мл розчину натрію гідроксиду розведеного. Доводять до позначки водою і перемішують (випробуваний розчин).

Вимірюють оптичну густину випробуваного розчину та випробованого розчину хлорогенової кислоти за довжини хвилі 505 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи в якості компенсаційного розчин, аналогічний

Продовж. дод. Б

за складом досліджуваному, але без додавання розчину натрію нітриту і натрію молібдату.

Обчислюють відсотковий вміст похідних гідроксикоричної кислоти (X_1),у відсотках, у перерахунку на хлорогенову кислоту, за наступною формулою:

$$X_1 = \frac{A1 \times m0 \times 100 \times 25 \times 1 \times 100}{A0 \times m1 \times 1 \times 100 \times 25 \times (100 - W)},$$

де A_1 – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина випробуваного розчину хлорогенової кислоти;

m_1 – маса наважки досліджуваної сировини;

m_0 – маса наважки хлорогенової кислоти в розчині порівняння хлорогенової кислоти;

W – втрата в масі при висушуванні в досліджуваному препараті, %.

Приготування розчину порівняння хлорогенової кислоти. Близько 0,10 г (точна наважка) хлорогенової кислоти (Sigma-Aldrich кат № C3878 або аналогічний) вміщають у мірну колбу ємністю 100,00 мл, розчиняють у 80 мл 96 % спирту етилового Р, доводять об'єм розчину спиртом етиловим 96 % до позначки, перемішують. Термін придатності розчину 1 міс при зберіганні в добре закупореній тарі в прохолодному, захищеному від світла місці.

1,00 мл отриманого розчину вміщують в мірну колбу об'ємом 25,00 мл, додають 2 мл 0,5 М хлористоводневої кислоти, 2 мл розчину натрію нітриту і натрію молібдату та 1 мл розчину натрію гідроксиду розведеного. Доводять до позначки водою і перемішують (випробуваний розчин хлорогенової кислоти).

Приготування 0,5 М розчину хлористоводневої кислоти. У мірну колбу місткістю 100,0 мл поміщають 80 мл води Р, повільно вливають 4,25 мл кислоти

Продовж. дод. Б

хлористоводневої концентрованої і доводять водою Р до мітки. Термін придатності розчину 30 діб.

Приготування розчину натрію нітриту і натрію молібдату. У мірну колбу об'ємом 100,0 мл вміщують 10,0 г натрію нітриту Р та 10,0 г натрію молібдату. Розчиняють у невеликій кількості води, доводять тим же самим розчинником до позначки. Фільтрують через паперовий фільтр. Термін придатності розчину 5 діб.

Приготування розчину натрію гідроксиду розведеного. У мірну колбу ємністю 25,0 мл поміщають 2,125 г натрію гідроксиду Р, розчиняють у воді Р, доводять до позначки тим самим розчинником і перемішують. Термін придатності розчину 5 діб.

Вміст похідних гідроксикоричної кислоти в препараті повинен бути не меншим, ніж 1,5 %.

11.2. Флавоноїди

1,00 мл розчину А поміщають у мірну колбу місткістю 25,00 мл, додають 5 мл 70 % спирту етилового, 5 мл 5 % розчину алюмінію хлориду в 70 % спирті етиловому, 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти в 70 % спирті етиловому, доводять об'єм розчину 70 % спиртом етиловим до позначки і перемішують.

Через 30 хв вимірюють оптичну густину одержаного розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 408 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як компенсаційний розчин, що складається з 1,00 мл препарату, 5 мл 70 % спирту етилового і 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти в 70 % спирті етиловому, які вміщені у мірну колбу місткістю 25,00 мл та доведені 70% спиртом етиловим до позначки.

Паралельно, через 30 хв, вимірюють оптичну густину розчину, що містить 1,00 мл розчину порівняння рутину, приготованого аналогічно випробуваному розчину,

Продовж. дод. Б

використовуючи як компенсаційний розчин розчин, що складається з 1,00 мл розчину порівняння, 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти в 70 % спирті етиловому, які поміщені в мірну колбу місткістю 25,00 мл і доведені 70 % спиртом етиловим до позначки.

Вміст суми флавоноїдів (X_3) в препараті в перерахунку на рутин в відсотках обчислюють за формулою:

$$X_3 = \frac{A \times m_0 \times P \times 1 \times 25 \times 50 \times 100 \times 100}{A_0 \times m \times 100 \times 100 \times 25 \times 1 \times (100 - W)} = \frac{A \times m_0 \times 50 \times P}{A_0 \times m \times (100 - W)},$$

де A – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину порівняння рутину;

m_0 – маса наважки рутину в розчині порівняння рутину, в г;

P – вміст рутину, зазначений в сертифікаті якості, %;

m – маса наважки досліджуваного препарату;

W – втрата в масі при висушуванні в досліджуваному препараті, %.

Приготування розчину порівняння рутину. Близько 0,025 г (точна наважка) рутину (Fluka кат № 84082 або аналогічний), висушеного при температурі 135°С до постійної ваги, поміщають у мірну колбу ємністю 100,00 мл, розчиняють у 80 мл 96 % спирту етилового Р при нагріванні на водяній бані, після охолодження доводять об'єм розчину спиртом етиловим 96 % до позначки, перемішують. Термін придатності розчину 1 місяць при зберіганні в добре закупореній тарі в прохолодному, захищеному від світла місці.

Приготування 5 % розчину алюмінію хлориду. 5,0 г алюмінію хлориду Р поміщають в мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняють в 70 % спирті етиловому, доводять об'єм розчину 70 % спиртом етиловим до позначки і перемішують. Термін придатності 5 діб.

Продовж. дод. Б

Приготування 5 % розчину кислоти оцтової. У мірну колбу місткістю 100,0 мл з 70 % спиртом етиловим поміщають 5,0 мл кислоти оцтової льодяної Р і 70 % спиртом етиловим доводять об'єм до позначки, перемішують. Термін придатності розчину 5 діб.

Вміст суми флавоноїдів у перерахуванні на рутин у препараті повинен бути не меншим ніж 0,20 %.

12. Мікробіологічна чистота.

Випробування проводять у відповідності з вимогами ДФУ п. 5.1.4, (кат.4), п. 2.6.12, п. 2.6.13.

В сировині допускається загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10^7 бактерій і не більше 10^5 грибів в 1 г.

Не більше 10^2 бактерій *Esherichia coli* в 1 г.

13. Упаковка.

14. Маркування.

15. Умови зберігання.

При температурі не вище 25ºС.

16. Термін придатності.

2 роки.

Продовж. дод. Б

ЗАТВЕРДЖЕНО
Наказ Міністерства охорони здоров'я України
_____№ _____
Реєстраційне посвідчення
№_____

Заявник, країна:

Виробник, країна:

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Сухий екстракт самосилу гайового
Сухий екстракт самосилу гайового, у флаконах з темного скла

Продовж. дод. Б

СПЕЦИФІКАЦІЯ

Найменування показників	**Допустимі норми**	**Методи контролю**
1. Опис	Порошок темно-коричневого кольору з зеленуватим відтінком, що має специфічний запах.	п. 1 МКЯ ЛЗ (органолептично)
2. Мікроскопія	Згідно МКЯ	п. 1 МКЯ ЛЗ
3. Ідентифікація 3.1. Поліфенольні сполуки	З розчином заліза (III) хлориду з'являється зелене забарвлення	п. 3.1 МКЯ ЛЗ
3.2. Амінокислоти	З розчином нінгідрину з'являється фіолетове забарвлення	п. 3.2 МКЯ ЛЗ
3.3. Хлорогенова кислота, цикорієва кислота, рутин.	На хроматограмі розчину А повинні бути наявні хроматографічні зони хлорогенової кислоти, цикорієвої кислоти та рутину.	ВЕРХ ДФУ, п. 2.2.27, п. 3.3 МКЯ ЛЗ
4. Важкі метали	Не більше 0,001 %	ДФУ, 2.4.27, п. 4 МКЯ ЛЗ
5. Втрата в масі при висушуванні	Не більше 10 %	ДФУ, 2.2.32, п. 5 МКЯ ЛЗ
6. Вміст загальної золи	Не більше 10 %	ДФУ, 2.4.16, п. 6 МКЯ ЛЗ
7. Частинок, що проходять крізь сито з діаметром отворів 0,2 мм	Не більше 10 %	ДФУ, 2.1.4, п. 7 МКЯ ЛЗ
8. Органічних домішок	Не більше 2 %	ДФУ, 2.8.2, п. 8 МКЯ ЛЗ
9. Мінеральних домішок	Не більше 1 %	ДФУ, 2.8.2, п. 9 МКЯ ЛЗ
10. Маса вмісту упаковки	від 47,5 г до 52,5 г.	п. 10 МКЯ ЛЗ
11. Кількісний вміст 11.1. Похідні гідроксикоричної кислоти	Не менше 8 %	Спектрофотометричний метод, ДФУ, 2.2.25, п. 11.1 МКЯ ЛЗ
11.2. Флавоноїди	Не менше 2,0 %	п. 11.3 МКЯ ЛЗ

12.Мікробіологічна чистота	В препараті допускається загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10^7 бактерій і не більше 10^5 грибів в 1 г. Не більше 10^2 бактерій *Esherichia coli* в 1 г.	ДФУ, 5.1.4, (кат.4), 2.6.12, 2.6.13, п. 12 МКЯ ЛЗ

Продовж. дод. Б

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ

1. Опис. Порошок темно-коричневого кольору з зеленуватим відтінком, що має специфічний запах.

2. Ідентифікація.

Приготування розчину А. 0,50 г (точна наважка) досліджуваного сухого екстракту вміщують в мірну колбу об'ємом 50 мл, розчиняють в 70 мл 70 % етилового спирту, доводять тим же розчинником до мітки та перемішують.

2.1. До 3 мл розчину А додають 0,5 мл 50 % розчину заліза (III) хлориду Р. Має спостерігатися темно-коричневе забарвлення з зеленим відтінком, яке зникає при додаванні 0,5 мл кислоти сірчаної розведеної Р (поліфенольні сполуки).

2.2. До 2 мл розчину А додають 2 мл 1 % розчину нінгідрину Р спиртового і нагрівають на водяній бані протягом 2 хв при постійному перемішуванні. Утворюється фіолетове забарвлення (амінокислоти).

2.3. Хлорогенова кислота, цикорієва кислота, рутин.

На лінію старту хроматографічної пластинки «Kieselgel 60 F_{254}» розміром 4×10 см або аналогічної наносять 5 мкл розчину А. Пластинку сушать на повітрі протягом 5 хв, вміщають у камеру з системою розчинників етилацетат-льодяна оцтова кислота-мурашина кислота-вода (100:11:11:26) і хроматографують висхідним способом. Коли фронт розчинників пройде біля 8 см від лінії старту, пластинку виймають з камери, висушують на повітрі протягом 10 хв та послідовно обприскують 1 % розчином дифенілборилоксиетиламіну в метанолі та 5 % розчином поліетиленгліколю-4000 в етанолі.

Після обприскування пластинку висушують та переглядають за довжини хвилі 365 нм. На хроматограмі розчину А мають виявлятися наступні хроматографічні зони: зона помаранчового кольору з R_f біля 0,4 (рутин), зона

Продовж. дод. Б

блакитного кольору з R_f біля 0,5 (хлорогенова кислота) та зона блакитного кольору з R_f біля 0,8 (цикорієва кислота).

Примітки:	1. Приготування 1 % розчину дифеніл-борилоксиетиламіну. 1 г дифенілборилоксиетиламіну (Sigma-Aldrich кат № 8.41636 або аналогічний) вміщують в мірну колбу об'ємом 100 мл, розчиняють в 30 мл метанолу, доводять метанолом до мітки та перемішують. Термін придатності розчину 1 місяць при зберіганні у холодильнику. 2. Приготування 5 % розчину поліетиленгліколю-4000. 5 г поліетиленгліколю-4000 (Sigma-Aldrich кат №P3265 або аналогічний) вміщують в мірну колбу об'ємом 100 мл, розчиняють в 30 мл етанолу, доводять етанолом до мітки та перемішують. Термін придатності розчину 1 місяць при зберіганні у холодильнику.

.

3. Важкі метали. Не більше 0,001 % в препараті (ДФУ, 2.4.27).

4. Втрата в масі при висушуванні. Не більше 8 % (ДФУ, п. 2.2.32).

5. Вміст загальної золи. Не більше 8 % (ДФУ п. 2.4.16).

6. Кількісне визначення

6.1. Похідні гідроксикоричної кислоти

1,00 мл розчину А вміщують в мірну колбу об'ємом 25,00 мл, додають 2 мл 0,5 М хлористоводневої кислоти, 2 мл розчину натрію нітриту і натрію молібдату та 1 мл розчину натрію гідроксиду розведеного. Доводять до позначки водою і перемішують (випробуваний розчин).

Продовж. дод. Б

Вимірюють оптичну густину випробуваного розчину та випробованого розчину хлорогенової кислоти за довжини хвилі 505 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи в якості компенсаційного розчин, аналогічний за складом досліджуваному, але без додавання розчину натрію нітриту і натрію молібдату.

Обчислюють відсотковий вміст похідних гідроксикоричної кислоти (X_1),у відсотках, у перерахунку на хлорогенову кислоту, за наступною формулою:

$$X_1 = \frac{A1 \times m0 \times 50 \times 25 \times 1 \times 100}{A0 \times m1 \times 1 \times 100 \times 25 \times (100 - W)},$$

де A_1 – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина випробуваного розчину хлорогенової кислоти;

m_1 – маса наважки досліджуваного препарату;

m_0 – маса наважки хлорогенової кислоти в розчині порівняння хлорогенової кислоти;

W – втрата в масі при висушуванні в досліджуваному препараті, %.

Приготування розчину порівняння хлорогенової кислоти. Близько 0,030 г (точна наважка) хлорогенової кислоти (Sigma-Aldrich кат № C3878 або аналогічний) вміщають у мірну колбу ємністю 100,00 мл, розчиняють у 80 мл 96 % спирту етилового Р, доводять об'єм розчину спиртом етиловим 96 % до позначки, перемішують. Термін придатності розчину 1 міс при зберіганні в добре закупореній тарі в прохолодному, захищеному від світла місці.

1,00 мл отриманого розчину вміщують в мірну колбу об'ємом 25,00 мл, додають 2 мл 0,5 М хлористоводневої кислоти, 2 мл розчину натрію нітриту і натрію молібдату та 1 мл розчину натрію гідроксиду розведеного. Доводять до позначки водою і перемішують (випробуваний розчин хлорогенової кислоти).

Продовж. дод. Б

Приготування 0,5 М розчину хлористоводневої кислоти. У мірну колбу місткістю 100,0 мл поміщають 80 мл води Р, повільно вливають 4,25 мл кислоти хлористоводневої концентрованої і доводять водою Р до мітки. Термін придатності розчину 30 діб.

Приготування розчину натрію нітриту і натрію молібдату. У мірну колбу об'ємом 100,0 мл вміщують 10,0 г натрію нітриту Р та 10,0 г натрію молібдату. Розчиняють у невеликій кількості води, доводять тим же самим розчинником до позначки. Фільтрують через паперовий фільтр. Термін придатності розчину 5 діб.

Приготування розчину натрію гідроксиду розведеного. У мірну колбу ємністю 25,0 мл поміщають 2,125 г натрію гідроксиду Р, розчиняють у воді Р, доводять до позначки тим самим розчинником і перемішують. Термін придатності розчину 5 діб.

Вміст похідних гідроксикоричної кислоти в препараті повинен бути не меншим, ніж 8,0 %.

6.2. Флавоноїди

1,00 мл розчину А поміщають у мірну колбу місткістю 25,00 мл, додають 5 мл 70 % спирту етилового, 5 мл 5 % розчину алюмінію хлориду в 70 % спирті етиловому, 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти в 70 % спирті етиловому, доводять об'єм розчину 70 % спиртом етиловим до позначки і перемішують.

Через 30 хв вимірюють оптичну густину одержаного розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 408 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як компенсаційний розчин, що складається з 1,00 мл препарату, 5 мл 70 % спирту етилового і 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти в 70 % спирті етиловому, які вміщені у мірну колбу місткістю 25,00 мл та доведені 70 % спиртом етиловим до позначки.

Продовж. дод. Б

Паралельно, через 30 хв, вимірюють оптичну густину розчину, що містить 1,00 мл розчину порівняння рутину, приготованого аналогічно випробуваному розчину, використовуючи як компенсаційний розчин розчин, що складається з 1,00 мл розчину порівняння, 2 мл 5 % розчину оцтової кислоти в 70 % спирті етиловому, які поміщені в мірну колбу місткістю 25,00 мл і доведені 70 % спиртом етиловим до позначки.

Вміст суми флавоноїдів (X_3) в препараті в перерахунку на рутин в відсотках обчислюють за формулою:

$$X_3 = \frac{A \times m_0 \times P \times 1 \times 25 \times 50 \times 100 \times 100}{A_0 \times m \times 100 \times 100 \times 25 \times 1 \times (100 - W)} = \frac{A \times m_0 \times 50 \times P}{A_0 \times m \times (100 - W)},$$

де A – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину порівняння рутину;

m_0 – маса наважки рутину в розчині порівняння рутину, в г;

P – вміст рутину, зазначений в сертифікаті якості, %;

m – маса наважки досліджуваного препарату;

W – втрата в масі при висушуванні в досліджуваному препараті, %.

Приготування розчину порівняння рутину. Близько 0,025 г (точна наважка) рутину (Fluka кат № 84082 або аналогічний), висушеного при температурі 135°С до постійної ваги, поміщають у мірну колбу ємністю 100,00 мл, розчиняють у 80 мл 96 % спирту етилового Р при нагріванні на водяній бані, після охолодження доводять об'єм розчину спиртом етиловим 96 % до позначки, перемішують. Термін придатності розчину 1 міс при зберіганні в добре закупореній тарі в прохолодному, захищеному від світла місці.

Приготування 5 % розчину алюмінію хлориду. 5,0 г алюмінію хлориду Р (ДФУ 2001, вид.1, с.172) поміщають в мірну колбу місткістю 100,0 мл,

Продовж. дод. Б

розчиняють в 70 % спирті етиловому, доводять об'єм розчину 70 % спиртом етиловим до позначки і перемішують. Термін придатності 5 діб.

Приготування 5 % розчину кислоти оцтової. У мірну колбу місткістю 100,0 мл з 70 % спиртом етиловим поміщають 5 мл кислоти оцтової льодяної Р і 70 % спиртом етиловим доводять об'єм до позначки, перемішують. Термін придатності розчину 5 діб.

Вміст суми флавоноїдів у перерахуванні на рутин у препараті повинен бути не меншим ніж 2,0 %.

7. Мікробіологічна чистота.

Випробування проводять у відповідності з вимогами ДФУ п. 5.1.4, Категорія 4BN.

В препараті допускається загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10^4 бактерій і не більше 10^2 грибів в 1 г препарату.

Допускається не більше 10^2 ентеробактерій та деяких інших грам негативних бактерій в 1 г препарату.

Не допускається наявність *Salmonella* в 10 г препарату.

Не допускається наявність *Esherichia coli* в 1г препарату.

8. Упаковка.

9. Маркування.

10. Умови зберігання.

При температурі не вище 25ºС.

11. Термін придатності.

2 роки.

Протизапальний засіб.

Анальгезуючий засіб.

Додаток В

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ
МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
Державна установа «Інститут фармакології та токсикології»
Державна лабораторія з контролю якості лікарських засобів
Україна, 03057, Київ, вул. Антона Цедіка, 14
Тел./факс: (044) 456-98-25
Свідоцтво про атестацію Державної служби України з лікарських засобів та контролю за наркотиками
№ 481 дійсне до 18.06.2024
Сертифікат на систему управління якістю ISO 9001
№ UA.8O050.074 QMS-21
дійсний до 16.09.2024

NATIONAL ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES OF UKRAINE
State Institution «Institute of pharmacology and toxicology»
State Laboratory for Quality Control of Medicines
14, Anton Tsedik str., 03057, Kyiv, Ukraine
Phone/fax: 380-44/ 456-98-25
Certificate of accreditation of State administration of Ukraine on medicinal products and drug control
№ 481 valid till 18.06.2024
Certificate for the quality management system ISO 9001
No. UA.8O050.074 QMS-21
valid till 16.09.2024

Вих № 50 від «01» 11 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Найменування пропозиції для впровадження: методика визначення антирадикальної активності у траві самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys L.*).

Установа, автор: ПВНЗ «Київський медичний університет» (02099, Україна, Київ, вул. Бориспільська, 2), кафедра хімії, аспірант – Анзіна К.М.

Джерела інформації: Anzina K. M., Gudzenko A. V., Kalko K. O. Preliminary phytochemical screening and antioxidant activities of the extract of Teucrium chamaedrys L. *PharmacologyOnLine*. 2021. V. 2, P. 972-977.

Рекомендовано впровадити: спектрофотометричну методику in vitro визначення антирадикальної активності у траві самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys L.*) для подальшого використання її для визначення антирадикальної активності рослинної сировини в Державній лабораторії з контролю якості лікарських засобів ДУ «Іститут фармакології та токсикології НАМН України».

Термін впровадження: з 06.11.2023.

Завідувач
Державної лабораторії з контролю якості лікарських засобів ДУ «ІФТ НАМНУ»
к. фарм. н. **Олена КОЛЯДИЧ**

Продовж. дод. В

« Затверджую »
Проректор з наукової роботи
Запорізького державного медико-фармацевтичного
університету _____ проф. Туманський В. О.
16. 11. 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Результати дослідження амінокислотного складу трави самосилу гайового.

2. Установа, автор: ПВНЗ «Київський медичний університет, кафедра хімії, аспірант Анзіна К.М.

3. Джерела інформації: Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Амінокислотний склад трави та коренів деяких перспективних рослин роду *Teucrium L.* флори України. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2022. Том 15. Випуск 6. С. 414–419. https://doi.org/10.33250/15.06.414

4. Де впроваджено: Кафедра клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

5. Форма впровадження: науково-дослідна робота.

6. Ефект від впровадження: підвищення ефективності стандартизації за визначенням біологічно активних речовин у складу лікарської рослинної сировини трави самосилу тайового.

7. Терміни впровадження: 2023-2024 навчальний рік.

Затверджено на засіданні кафедри протокол № 7 від 9.11. 23

Відповідальний за впровадження: _____ проф. Мазулін О. В.

Продовж. дод. В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор закладу вищої освіти з
наукової роботи Тернопільського
національного медичного
університету імені
І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор біологічних наук, професор
_____ Кліщ І. М.
«___» _____ 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Результати дослідження мінерального складу трави самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys L.)*.

2. Установа, автор: ПВНЗ «Київський медичний університет», кафедра хімії, аспірант Анзіна К. М.

3. Джерела інформації: Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Дослідження мікро- та макроелементного складу двох видів роду Самосил (*Teucrium L.*). *Фармацевтичний часопис*. 2022. Вип. 1. С. 20–24. https://doi.org/10.11603/2312-0967.2022.1.13053

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.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.

7. Терміни впровадження: 2022-2023 навчальний рік.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою, протокол № 10 від «24» жовтня 2023 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри фармакогнозії
з медичною ботанікою Тернопільського
національного медичного університету
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
д. фарм. наук, професор С. М. Марчишин

Продовж. дод. В

ЗАТВЕРДЖЕНО
Перший проректор НУОЗ України
імені П. Л. Шупика
член-кор. НАМН України
проф. _____ Вдовиченков Ю.П.
«____» _____ 2023 р

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ.

1. Найменування пропозиції для впровадження: Результати дослідження мінерального складу трави самосилу гірського (*Teucrium montanum L.*).

2. Установа, автор: ПВНЗ «Київський медичний університет», кафедра хімії, аспірант Анзіна К.М.

3. Джерела інформації: Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Дослідження мікро- та макроелементного складу двох видів роду Самосил (*Teucrium L.*). *Фармацевтичний часопис*. 2022. Вип. 1. С. 20–24. https://doi.org/10.11603/2312-0967.2022.1.13053

4. Де впроваджено: Кафедра фармацевтичної технології і біофармації Національного університету охорони здоров'я України ім. П.Л. Шупика.

5. Форма впровадження: науково-дослідна робота.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.

7. Терміни впровадження: 2023-2024 навчальний рік.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри фармацевтичної технології
і біофармації НУОЗ України імені П. Л. Шупика
д-р фарм. наук, проф. Давтян Л.Л.

Продовж. дод. В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з науково-педагогічної (інноваційної та науково-дослідної) роботи Національного фармацевтичного університету, проф.
_____ Інна ВЛАДИМИРОВА
«__» _____ 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Результати дослідження вмісту амінокислот, полісахаридів, мікро- та мікроелементів у сировині самосилу гайового (*Teucrium chamaedrys L.*).

2. Установа, автор: ПВНЗ «Київський медичний університет», кафедра хімії, аспірант Анзіна К.М.

3. Джерела інформації:

1. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Амінокислотний склад трави та коренів деяких перспективних рослин роду *Teucrium L.* флори України. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2022. Том 15. Випуск 6. С. 414–419. https://doi.org/10.33250/15.06.414

2. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Вивчення вмісту полісахаридів у траві самосилу гайового та самосилу гірського. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2022. Том 16. Випуск 2. С. 131-135. https://doi.org/10.33250/16.02.131

3. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Дослідження мікро- та макроелементного складу двох видів роду Самосил (*Teucrium L.*). *Фармацевтичний часопис*. 2022. Вип. 1. С. 20–24. https://doi.org/10.11603/2312-0967.2022.1.13053

4. Де впроваджено: кафедра фармакогнозії та нутриціології Національного фармацевтичного університету.

5. Форма впровадження: науково-дослідна робота; навчальний процес (лабораторні заняття, лекційний курс).

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.

7. Терміни впровадження: 2023-2024 навчальний рік.

Затверджено на засіданні кафедри фармакогнозії та нутриціології.
Протокол № 4 від 09.11.2023 р.

Завідувачка кафедри фармакогнозії та нутриціології НФаУ
д. фармац. наук, професор **Вікторія КИСЛИЧЕНКО**

Відповідальний за впровадження:
к. фармац. н., доцент ЗВО кафедри фармакогнозії та нутриціології НФаУ **Олена НОВОСЕЛ**

Продовж. дод. В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
В.о. проректора з наукової роботи
Івано-Франківського національного
медичного університету
_____ проф. Оксана МАКАРЧУК
«___» _____ 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Результати фітохімічного дослідження сировини самосилу гірського (*Teucrium montanum* L.).

2. Установа, автор: ПВНЗ «Київський медичний університет», кафедра хімії, аспірант Анзіна К.М.

3. Джерела інформації:

1. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Амінокислотний склад трави та коренів деяких перспективних рослин роду *Teucrium* L. флори України. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2022. Том 15. Випуск 6. С. 414–419. https://doi.org/10.33250/15.06.414

2. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Вивчення вмісту полісахаридів у траві самосилу гайового та самосилу гірського. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2022. Том 16. Випуск 2. С. 131-135. https://doi.org/10.33250/16.02.131

3. Анзіна К. М., Гудзенко А. В. Дослідження мікро- та макроелементного складу двох видів роду Самосил (*Teucrium L.*). *Фармацевтичний часопис*. 2022. Вип. 1. С. 20–24. https://doi.org/10.11603/2312-0967.2022.1.13053

4. Де впроваджено: кафедра фармацевтичного управління, технології ліків та фармакогнозії Івано-Франківського національного медичного університету.

5. Форма впровадження: науково-дослідна робота та навчальний процес.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань студентів з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.

7. Терміни впровадження: 2023-2024 навчальний рік.

Відповідальний за впровадження:
В. о. завідувача кафедри
фармацевтичного управління,
технології ліків та фармакогнозії доц. Марія МЕЛЬНИК