

Міністерство охорони здоров'я України
Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ПАРАЩУК ЕЛІНА АНАТОЛІЇВНА

УДК:615.014.07:582.794.1

ДИСЕРТАЦІЯ

ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ БЕДРИНЦЯ ЛОМИКАМЕНЕВОГО
(*PIMPINELLA SAXIFRAGA*)

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук

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

Е. А. Паращук

Науковий керівник Марчишин Світлана Михайлівна, доктор фармацевтичних
наук, професор

Тернопіль – 2020

АНОТАЦІЯ

Паращук Е. А. Фармакогностичне дослідження бедринця ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – «Фармацевтична хімія та фармакогнозія» (226 – Фармація, промислова фармація). – Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України. Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2020.

Дисертаційна робота присвячена вивченню цінної лікарської рослини з родини селерові (*Ariaceae*) бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.). Проведено комплексний фармакогностичний аналіз трави та кореневищ і коренів досліджуваної рослини. У сировині бедринцю ломикаменевого встановлена наявність аміно- та гідроксикоричних кислот, полісахаридів, флавоноїдів, кумаринів, дубильних речовин, жирних і органічних кислот, сапонінів, ефірної олії, визначено їх кількісний вміст. У надземних і підземних органах рослини визначено елементний склад.

Методом ВЕРХ у траві бедринцю ломикаменевого ідентифіковано 17 зв'язаних і 15 вільних амінокислот; у кореневищах і коренях – 17 зв'язаних і 13 вільних амінокислот. У траві переважають за вмістом такі вільні амінокислоти як пролін (1,60 мкг/мг) і глутамінова кислота (1,34 мкг/мг) не виявлено незамінної амінокислоти метіоніну та заміної цистину. Із зв'язаних амінокислот домінують глутамінова кислота (174,03 мкг/мг) і цистин (144,05 мкг/мг). У кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого з вільних амінокислот найбільший вміст аргініну (4,23 мкг/мг) і не виявлено гістидину, цистину, лізину і метіоніну. Зі зв'язаних амінокислот у підземних органах бедринцю ломикаменевого домінують глутамінова кислота (10,20 мкг/мг) і цистин (11,96 мкг/мг). Зі зв'язаних амінокислот у надземних і підземних органах бедринцю ломикаменевого кількісно переважають глутамінова кислота і цистин.

З трави та з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого виділено фракції водорозчинних полісахаридів (ВРПС) і пектинових речовин (ПР), кількісний вміст яких становив: трава ВРПС – 6,95 %, ПР – 11,89 %; кореневища і корені – 1,25 % і 4,41 % відповідно. Методом газової хроматографії з мас-спектрометрією (ГХ/МС) встановлено мономерний склад полісахаридних комплексів досліджуваної сировини: виявлено 5 цукрів у підземних органах, з них 2 ідентифіковано; 13 цукрів – у траві, ідентифіковано 3. В обох зразках сировини бедринцю ломикаменевого ідентифіковано D-глюкозу і сахарозу.

У надземних органах виявлено також D-фруктоза, вміст якої становив 0,68 мг/кг. Встановлено, що у підземних органах бедринцю ломикаменевого найбільша кількість сахарози міститься – 33,96 мг/кг.

У траві та кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого визначено кількісний вміст суми вільних органічних кислот, що становило 0,37 % і 0,44 % відповідно. Методом ТШХ виявлено наявність щавлевої, лимонної, бурштинової, бензойної, винної та слідів саліцилової кислот у бедринцю ломикаменевого траві та щавлевої, лимонної, бурштинової, винної у кореневищах і коренях. З органічних кислот у підземних органах бедринцю ломикаменевого методом ГХ/МС ідентифіковано щавлеву, малонову, бурштинову і лимонну кислоти. У надземних органах бедринцю виявлено левулінову кислоту.

У сировині бедринцю ломикаменевого якісний склад і кількісний вміст жирних кислот визначали методом ГХ/МС. У траві ідентифіковано 12 жирних кислот, у підземних органах виявлено 9 жирних кислот. У траві та кореневищах і коренях переважає поліненасичена жирна кислота – лінолева (5,59 мг/кг і 43,10 мг/кг відповідно); з насичених – пальмітинова (4,05 мг/кг і 7,15 мг/кг відповідно). Одержано ліпофільну фракцію бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів, вихід якої становив 7,88 % та 5,25 % відповідно.

У траві і підземних органах бедринцю ломикаменевого кількісний вміст сполук фенольної природи: суми кислот гідроксикоричних, суми кумаринів,

танінів, поліфенолів і суми флавоноїдів, який становив у траві 4,62 %, 1,81 %, 2,04 %, 4,85 % і 2,19 % відповідно; у підземних органах – 1,52 %, 3,64 %, 1,86 % і 3,72 % у перерахунку на суху сировину відповідно.

Використовуючи метод ВЕРХ, у траві бедринцю ломикаменевого ідентифіковано та визначено кількісний вміст гідроксикоричних кислот: розмаринової (0,11 %) і хлорогенової (3,13 %); флавоноїдів: рутину (0,44 %), лютеоліну (0,28 %), гіперозиду (0,19 %), ізокверцитрину (0,09 %); кумаринів: скополетину (0,001 %), псоралену (0,0002 %), не визначено бергаптену. У кореневищах і коренях рослини ідентифіковано і визначено 0,34 % хлорогенової кислоти, 0,009 % скополетину, 0,007 % псоларену, 0,008 % бергаптену. Не виявлено у підземних органах флавоноїдів.

За результатом ВЕРХ-аналізу у досліджуваній сировині бедринцю ломикаменевого ідентифіковано вільні галову та елагову кислоти. Їх вміст у траві рослини становив – 0,07 % галової кислоти та 0,03 % елагової та по 0,03 % обох кислот у підземних органах.

Методом ГХ/МС встановлено якісний і визначено кількісний вміст компонентів летких сполук у сировині бедринцю ломикаменевого. У результаті проведених досліджень виявлено, що у траві міститься 59 компонентів, ідентифіковано 26; у підземних органах виявлено 65 компонентів, ідентифіковано 27. У траві основними компонентами є гермакрен-D, β -бісаболен, гептакозан, нонакозан (відсоток співпадіння 99 %); у кореневищах і коренях – каріофілен, *n*-гексадеканова кислота та 9,12-октадекадієнова кислота (відсоток співпадіння 99 %); гермакрен-D та β -гурьюнен (відсоток співпадіння 98 %). Спільними компонентами у траві та кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого є β -фарнезен, гермакрен-D, β -бісаболен, 1,3-диметилнафтален та *n*-гексадеканова кислота.

У досліджуваній сировині виявлено та визначено спектрофотометричним методом кількісний вміст сапонінів, який у траві становив у 0,99 % у перерахунку на есцин; у кореневищах і коренях – 1,89 %.

Якісний склад та визначення кількісного вмісту макро- і мікроелементів у досліджуваній сировині проводили методом ААС. Елементний склад у обох зразках встановлено по 15 хімічних елементів. У траві та кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого виявлено по 5 макро- (К, Са, Mg, Na, Р) і по 10 мікроелементів (Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Се, Cr, Со, Рb, Cd). У значній кількості в траві та підземних органах накопичуються макроелементи: калій (12929 мг/кг і 8095 мг/кг), кальцій (8788 мг/кг і 1539 мг/кг) і магній (2930 мг/кг і 1125 мг/кг) відповідно. З мікроелементів домінуючими є ферум – 151 мг/кг і 181 мг/кг відповідно.

Проведено морфолого-анатомічний аналіз бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів, визначено основні діагностичні макро- і мікроскопічні ознаки. Розроблено проекти методів контролю якості (МКЯ) на лікарську рослинну сировину «Бедринцю ломикаменевого трава» і «Бедринцю ломикаменевого кореневища і корені».

Одержано густі екстракти з трави і з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого, на які розроблено проекти МКЯ «Бедринцю ломикаменевого трави екстракт густий» та «Бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів екстракт густий».

Встановлено гостру токсичність густих екстрактів з трави та з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого. Досліджувані екстракти віднесено за класифікацією Сидорова К. К. до V класу токсичності сполук (практично нешкідливі речовини, $LD_{50} \geq 5000$ мг/кг).

Проведено фармакологічне дослідження густих екстрактів з трави та з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого, встановлено наявність відхаркувальної активності та протизапальних властивостей. Встановлено, що за відхаркувальним ефектом активність густого екстракту з кореневищ і коренів майже не поступаються референс-препарату «Геделікс» краплям.

Досліджено антимікробну активність густого екстракту з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого і доведено, що він проявляє виражену антимікробну дію. Більш виражену антимікробну активність густий екстракт

кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого проявляв по відношенню до грампозитивної мікрофлори (*S. aureus*, *C. albicans*, *B. subtilis*).

Ключові слова: бедринець ломикаменевий, трава, кореневища і корені, густий екстракт, фармакогностичне і фармакологічне дослідження, морфолого-анатомічний аналіз.

ANNOTATION

Parashchuk E. A. Pharmacognostic study of burnet saxifrage (*Pimpinella saxifraga*) – Qualifying thesis manuscript copyright.

Thesis for the Candidate Degree in Pharmaceutical Sciences, specialty «Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy» (226 – Pharmacy, industrial pharmacy). – I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2020.

The thesis is devoted to the study of a valuable medicinal plant called burnet saxifrage (*Pimpinella saxifraga* L.) from the family of celery (*Apiaceae*). A complex pharmacognostic analysis of the herb and the rhizomes with roots of the studied plant was carried out. Amino acids, hydroxycinnamic acids, polysaccharides, flavonoids, coumarins, tannins, fatty and organic acids, saponins, essential oil were found in the burnet saxifrage raw material, and their quantitative content was determined. The elemental composition of the above-ground and underground organs of the plant was determined.

By means of the HPLC method, 17 bound and 15 free amino acids were identified in the herb of burnet saxifrage; 17 bound and 13 free amino acids were found in the rhizomes and roots. In the herb, such free amino acids as proline (1.60 $\mu\text{g}/\text{mg}$) and glutamic acid (1.34 $\mu\text{g}/\text{mg}$) prevail by content, though no methionine as an essential amino acid and cystine as a non-essential one were identified. As regards the bound amino acids, glutamic acid (174.03 $\mu\text{g}/\text{mg}$) and cystine (144.05 $\mu\text{g}/\text{mg}$) predominate. In the rhizomes and roots of burnet saxifrage, arginine (4.23 $\mu\text{g}/\text{mg}$) has

the highest content among all free amino acids, though no histidine, cystine, lysine and methionine were detected. As for the bound amino acids, glutamic acid (10.20 $\mu\text{g}/\text{mg}$) and cystine (11.96 $\mu\text{g}/\text{mg}$) predominate in the underground organs of burnet saxifrage. Such bound amino acids as glutamic acid and cystine quantitatively dominate in the both above-ground and underground organs of burnet saxifrage.

The fractions of water-soluble polysaccharides (WSPS) and pectic substances (PS) were distinguished in the herb, rhizomes and roots of burnet saxifrage, the quantitative content of which was the following: WSPS – herb – 6.95 %, rhizomes and roots – 11.25 %; PS – herb 11.89 %, rhizomes and roots – 4.41 %. The GC/MS method determined the monomer composition of polysaccharides of the studied plant. The composition of polysaccharide complexes of rhizomes and roots revealed 5 sugars, 2 of which were identified; in the herb – 13 sugars, identified – 3. D-glucose and sucrose were identified in both samples of the raw materials.

D-fructose with the content of 0.68 mg/kg was also detected in the aboveground organs. The largest amount of sucrose, i.e. 33.96 mg/kg, was found in the underground organs of burnet.

The quantitative content of free organic acids in the burnet saxifrage herb and the rhizomes with roots was determined, which constituted 0.37 % and 0.44 %, respectively. The TLC method revealed the presence of oxalic, citric, succinic, benzoic, tartaric and traces of salicylic acids in the burnet saxifrage herb and oxalic, citric, succinic, tartaric – in rhizomes and roots. As for the organic acids, oxalic, malonic, succinic and citric acids were identified in the underground organs of burnet saxifrage by means of the GC/MS method. Levulinic acid was found in the above-ground organs of burnet.

The qualitative and quantitative content of fatty acids in the studied burnet saxifrage raw material was determined by means of the GC/MS method. Thus, 12 fatty acids were identified in the herb and 9 fatty acids were found in the underground organs. Polyunsaturated fatty acid – linoleic (5.59 mg/kg and 43.10 mg/kg, respectively) is found to be predominant in the herb and the rhizomes with roots; of the saturated – palmitic (4.05 mg/kg and 7.15 mg/kg, respectively). The lipophilic

fraction of the burnet saxifrage herb and the rhizomes with roots was obtained, whose yield was 7.88 % and 5.25 %, respectively.

In the herb and subterranean organs of burnet saxifrage, the quantitative content of phenolic compounds is as follows: sums of hydroxybutyric acids, sums of coumarins, sums of tannins, polyphenols and sums of flavonoids amounted in the herb to 4.62 %, 1.81 %, 2.04 %, 4.85 % and 2.19 % respectively; in the underground organs – 1.52 %, 3.64 %, 1.86 % and 3.72 % respectively, in terms of dry raw materials.

By means of the HPLC method, the quantitative content of such hydroxycinnamic acids as rosmarinic (0.11 %) and chlorogenic (3.13 %); flavonoids as rutin (0.44 %), luteolin (0.28 %), hyperoside (0.19 %), isoquercitrin (0.09 %); coumarins as scopoletin (0.001 %), psoralen (0.0002 %) were identified and quantified in the herb of burnet saxifrage; bergapten was not detected. In the rhizomes and roots of the plant, there were identified and determined 0.34 % of chlorogenic acid, 0.009 % of scopoletin, 0.007 % of psolarine, 0.008 % of bergapten. Flavonoids were not found in the underground organs.

As a result of the HPLC analysis, free gallic and ellagic acids were identified in the investigated raw material of burnet saxifrage. Their content in the herb of the plant was 0.07 % of gallic acid, 0.03 % of ellagic one and 0.03 % of each acid in the underground organs.

The GC/MS method was used to determine the qualitative and quantitative content of volatile components in the raw material of burnet saxifrage. As a result of the research, 59 components were found in the herb, 26 of which were identified; 65 components were determined in the underground organs, 27 – identified. In the herb, the main components are germacrene-D, β -bisabolene, heptacosane, nonacosane (99 % coincidence); in rhizomes and roots – caryophyllene, *p*-hexadecanoic acid and 9,12- octadecadienoic acid (99 % coincidence); germacrene-D and β -guryunene (98 % coincidence). Such components as β -farnesene, germacrene-D, β -bisabolene, 1,3-dimethylnaphthalene and *p*-hexadecanoic acid were found in all the herb, rhizomes and roots of burnet saxifrage.

The quantitative content of saponins was detected and determined by spectrophotometric method in the raw material under study, which was 0.99 % in terms of escin in the herb and 1.89 % in rhizomes and roots.

The qualitative and quantitative content of macro- and microelements in the studied raw material was determined by means of the AAS method. In both samples, 15 chemical elements were identified. There were detected 5 macro- (K, Ca, Mg, Na, P) and 10 trace elements (Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Ce, Cr, Co, Pb, Cd) in the herb, rhizomes and roots of the burnet saxifrage. Macroelements that accumulate in the herb and underground organs the most are: potassium (12929 mg/kg and 8095 mg/kg), calcium (8788 mg/kg and 1539 mg/kg) and magnesium (2930 mg/kg and 1125 mg/kg), respectively. Iron is dominant among the trace elements, constituting 151 mg/kg and 181 mg/kg, respectively.

Morphological and anatomical analysis of the burnet saxifrage herb, rhizomes and roots was performed, the main diagnostic macro- and microscopic features were determined. The projects of quality control methods for medicinal plant raw materials «Burnet saxifrage herb» and «Burnet saxifrage rhizomes and roots» were developed.

The technology of obtaining thick extracts from the herb and from the rhizomes and roots of burnet saxifrage and the projects of quality control methods on the substance «Burnet saxifrage thick extract» and «Burnet saxifrage rhizomes and roots thick extract» were developed.

Acute toxicity of dense extracts from the herb and the rhizomes with roots of the burnet saxifrage was established. The investigated extracts are classified according to the K.K. Sydorov classification to the class V of toxicity of the compounds (almost harmless substances, $LD_{50} \geq 5000$ mg/kg).

A pharmacological study of dense extracts from the herb and the rhizomes with roots of burnet saxifrage was performed; the presence of expectorant activity and anti-inflammatory properties was detected. It was established that the thick extract from the rhizomes and roots is almost as effective as the reference drops Hedelix in creating expectorant effect.

The antimicrobial activity of the thick extract from the burnet saxifrage rhizomes and roots was investigated and it was proved that it had a pronounced antimicrobial effect. A more pronounced antimicrobial activity of a thick extract of the burnet saxifrage rhizomes and roots was observed in relation to gram-positive microflora (*S. aureus*, *C. albicans*, *B. subtilis*).

Key words: burnet saxifrage, herb, rhizomes and roots, thick extract, pharmacognostic and pharmacological research, morphological and anatomical analysis.

Список публікацій здобувача

1. Марчишин С. М., Гонтова Т. М., Панасюк Е. А. Морфолого-анатомічне дослідження бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.). *Фармацевтичний часопис*. 2015. №2. С. 9-16 (*Особистий внесок – здійснювала літературний огляд, виконувала експериментальну частину, брала участь в обговоренні отриманих результатів та підготувала статтю до друку*).

2. Вміст кислот гідроксикоричних у траві та кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.) / Паращук Е. А., Марчишин С. М., Кирилів М. В., Бекус І. Р. *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20. № 3. С. 90-95 (*Особистий внесок – виконувала експериментальну частину, брала участь в обговоренні отриманих результатів та підготувала статтю до друку*).

3. Паращук Е. А., Марчишин С. М., Слободянюк Л. В. Дослідження летких компонентів бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.). *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20. № 4. С. 107-113 (*Особистий внесок – виконувала експериментальну частину, брала участь в обговоренні отриманих результатів та підготувала статтю до друку*).

4. Визначення антимікробної активності бедринцю ломикаменевого екстракту густого / Паращук Е. А., Ткачук Н. І., Марчишин С. М., Козир Г. Р. *Фармацевтичний часопис*. 2019. № 1 (49). С. 85-91 (*Особистий внесок –*

виконала експериментальну частину, провела аналіз результатів дослідження протимікробної та протигрибкової дії, підготувала статтю до друку).

5. Паращук Е. А., Марчишин С. М., Слободянюк Л. В. Дослідження похідних кумаринів бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifrage* L.). *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 1. С. 66-70 (Особистий внесок – виконала експериментальну частину, описала одержані результати, брала участь в написанні статті).

6. Phenolic compounds from *Pimpinella saxifraga* L. / S. Marchyshyn, E. Parashchuk, I. Dakhym, L. Husak. *The Pharma Innovation Journal*. 2018. № 7(6). P. 600-602 (Особистий внесок - виконувала експериментальну частину, брала участь в узагальненні одержаних результатів та в написанні статті).

7. Пат. На корисну модель № 139946 Україна, МПК А61К 36/00, С11В 1/04, С11В 1/10, А61Р 11/10. Спосіб одержання рослинної субстанції з відхаркувальною та антимікробною активністю / Марчишин С. М., Паращук Е. А., Козир Г. Р., Слободянюк Л. В., Ткачук Н. І., Волощук Н. І. № u 2019 08377 ; заявл. 16.07.19 ; опубл. 27.01.20, Бюл. № 2 (Особистий внесок – брала участь в патентному пошуку, одержанні засобу та в оформленні патенту).

8. Панасюк Е. А. Вміст дубильних речовин у траві і підземних органах бедринцю ломикаменевого. *XIX Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених, присвячений пам'яті ректора, члена-кореспондента НАМН України, професора Леоніда Якимовича Ковальчука*: матер. XIX конгр., 27-29 квіт. 2015 р. Т., «Укрмедкнига», 2015. С. 339.

9. Panasyuk E. Carbohydrate in above-ground and underground organs of *Pimpinella saxifrage* L. *Plant – the source of research material: 4th International Conference and Workshop*. 20-23.09. 2015. Lublin. P. 92.

10. Марчишин С. М., Панасюк Е. А. Визначення вмісту гідроксикоричних кислот у траві та підземних органах бедринцю ломикаменевого. *Хімія природних сполук*: матеріали IV Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародною участю, 21-22 квіт. 2016 р. Т., «Укрмедкнига», 2016. С.

142 (*Особистий внесок – виконала експериментальну частину, описала одержані результати, брала участь в написанні тез*).

11. Марчишин С. М., Панасюк Е. А. Дослідження карбонових кислот у надземних і підземних органах бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga L.*) *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, 13-16 верес. 2016 р. Х., 2016. С. 112 (*Особистий внесок – виконала експериментальну частину, описала одержані результати, брала участь в написанні тез*).

12. Марчишин С. М., Панасюк Е. А., Демидяк О. Л. Дослідження елементного складу бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga L.*). *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнародною участю, 10-11 листоп. 2016 р. Т., «Укрмедкнига», 2016. С. 62 (*Особистий внесок – виконала експериментальну частину, описала одержані результати, брала участь в написанні тез*).

13. Балик Ю. Паращук Е. Визначення технологічних характеристик бедринцю ломикаменевого підземних органів. *XXIII Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених*: матер. XXIII конгр., 15-17 квіт. 2019 р. Т., «Укрмедкнига», 2019. С. 209 (*Особистий внесок – виконала експериментальну частину, описала одержані результати, брала участь в написанні тез*).

14. Паращук Е. А. Визначення вмісту біологічно активних речовин вторинного синтезу у траві та підземних органах бедринцю. *Хімія природних сполук*: матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародною участю, 30-31 квіт. 2019 р. Т., «Укрмедкнига», 2019. С. 46.

15. Паращук Е. А., Марчишин С. М. Дослідження відхаркувального ефекту густих екстрактів з трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого. *Актуальні питання фармакології та фармакотерапії*: матеріали Всеукр. науково-практ. конф., 26-27 верес. 2019 р. Т., «Укрмедкнига», 2019 С. 60-61. (*Особистий внесок – виконала*

експериментальну частину, описала одержані результати, брала участь в написанні тез).

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	17
ВСТУП.....	18
РОЗДІЛ 1 БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД І ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ РОСЛИН РОДУ БЕДРИНЕЦЬ (<i>PIMPINELLA</i>) (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	25
1.1 Ботанічна характеристика рослин роду Бедринець (<i>Pimpinella</i>)	25
1.2 Хімічний склад і фармакологічна дія біологічно активних речовин бедринцю ломикаменевого.....	30
1.3 Застосування бедринцю ломикаменевого у народній і науковій медицині та інших галузях народного господарства	34
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	43
2.1 Короткі відомості про об'єкти дослідження, прилади, методи та реактиви.....	43
2.2 Виявлення та визначення кількісного вмісту біологічно активних речовин первинного синтезу.....	45
2.2.1 Визначення вуглеводів.....	45
2.2.2 Виявлення амінокислот.....	46
2.2.3 Виявлення органічних кислот.....	47
2.2.4 Дослідження жирних кислот.....	48
2.3 Дослідження ліпофільних речовин.....	49
2.4 Виявлення та визначення кількісного вмісту біологічно активних речовин вторинного синтезу.....	49
2.4.1 Дослідження дубильних речовин.....	49
2.4.2 Гідроксикоричні кислоти.....	52
2.4.3 Визначення флавоноїдів.....	54
2.4.4 Визначення кумаринів.....	56
2.4.5 Визначення ефірної олії.....	58

	15
2.4.6 Визначення сапонінів.....	59
2.5 Дослідження елементного складу сировини бедринцю ломикаменевого.....	60
2.6 Морфолого-анатомічний аналіз дослідження лікарської рослинної сировини.....	60
2.7 Фармакологічні дослідження.....	61
2.7.1 Визначення гострої токсичності густих екстрактів трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого на мишах.....	61
2.7.2 Дослідження відхаркувального ефекту густих екстрактів трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого.....	62
2.7.3 Дослідження протизапальні активності густих екстрактів трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого.....	63
2.7.4 Дослідження антимікробної активності густих екстрактів трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого.....	64
РОЗДІЛ 3 ВИВЧЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ І КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У НАДЗЕМНИХ І ПІДЗЕМНИХ ОРГАНАХ БЕДРИНЦЮ ЛОМИКАМЕНЕВОГО.....	67
3.1 Визначення вуглеводів.....	67
3.2 Вивчення органічних кислот.....	70
3.3 Визначення жирних кислот.....	71
3.4 Дослідження ліпофільних комплексів.....	76
3.5 Визначення амінокислот.....	77
3.6 Визначення гідроксикоричних кислот.....	83
3.7 Визначення флавоноїдів.....	86
3.8 Визначення дубильних речовин.....	88
3.9 Визначення кумаринів.....	91
3.10 Визначення летких сполук.....	93
3.11 Визначення сапонінів.....	98
3.12 Вивчення елементного складу.....	99
ВИСНОВКИ.....	101

РОЗДІЛ 4	МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНИЙ АНАЛІЗ БЕДРИНЦЮ ЛОМИКАМЕНЕВОГО (<i>PIMPINELLA SAXIFRAGA</i> L.) ТА ВИЗНАЧЕННЯ ЧИСЛОВИХ ПОКАЗНИКІВ СИРОВИНИ.....	104
4.1	Морфолого-анатомічне вивчення підземних органів бедринцю ломикаменевого.....	104
4.2	Морфолого-анатомічне вивчення трави бедринцю ломикаменевого.....	106
4.3	Визначення числових показників бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів	112
	ВИСНОВКИ.....	113
РОЗДІЛ 5	ОДЕРЖАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СУБСТАНЦІЙ З НАДЗЕМНИХ І ПІДЗЕМНИХ ОРГАНІВ БЕДРИНЦЮ ЛОМИКАМЕНЕВОГО ТА ВИВЧЕННЯ ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ.....	114
5.1	Одержання та хімічний аналіз субстанцій з надземних і підземних органів бедринцю ломикаменевого.....	114
5.2	Вивчення гострої токсичності густих екстрактів з трави та з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого.....	118
5.3	Дослідження відхаркувального ефекту густих екстрактів з трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого.....	120
5.4	Протизапальна активність густих екстрактів з надземних і підземних органів бедринцю ломикаменевого на моделі карагенінового набряку у щурів.....	122
5.5	Визначення антимікробної активності густого екстракту з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого.....	123
	ВИСНОВКИ.....	126
	ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ	128
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	131
	ДОДАТКИ.....	152

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ААС	–	атомно-абсорбційна спектрофотометрія;
АЕА	–	антиексудативна активність;
БАР	–	біологічно активні речовини;
БЕГК	–	бедринцю екстракт густий кореневищ і коренів;
БЕГТ	–	бедринцю екстракт густий трави;
ВЕРХ	–	високоефективна рідинна хроматографія;
ВРПС	–	водорозчинні полісахариди;
ГХ	–	газова хроматографія;
ГХ/МС	–	газова хроматографія з мас-спектрометрією;
ДФУ	–	Державна Фармакопея України;
ЕД50	–	ефективна доза;
КМ	–	коефіцієнт маси;
КП	–	контрольна патологія;
ЛД ₅₀	–	середня летальна доза;
ЛР	–	лікарські рослини;
ЛРС	–	лікарська рослинна сировина;
МКЯ	–	методи контролю якості;
МПА	–	м'ясо-пептонний агар;
МС	–	мас-спектри;
ПК	–	позитивний контроль;
ПР	–	пектинові речовини;
ПХ	–	хроматографія на папері;
ТШХ	–	тонкошарова хроматографія;
УФ	–	ультрафіолетова спектроскопія;
ФЕК	–	фотоелектрокалориметр;
ФСЗ	–	фармакопейний стандартний зразок;
ФСЗ ДФУ	–	фармакопейний стандартний зразок ДФУ;
ШКТ	–	шлунково-кишковий тракт.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Одним із методів пошуку перспективних видів ЛР, розширення номенклатури офіцинальних ЛР, створення на основі БАР рослин нових вітчизняних фітопрепаратів є вивчення досвіду використання ліків природного походження у народній медицині.

Відомо, що флора України налічує близько 1000 видів рослин, яким притаманна фармакологічна активність. Однак більшість з них потребує додаткового вивчення. Поява синтетичних ліків, що переважно моделюють БАР рослин, не зменшила ролі природних лікарських засобів.

З метою пошуку нових перспективних ЛР актуальним є комплексне фармакогностичне дослідження неофіцинальної рослини родини Селерові (*Apiaceae*) роду Бедринець (*Pimpinella*) – бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.), який містить комплекс БАР, що мають широкий спектр фармакологічної активності (спазмолітичну, відхаркувальну, протикашлеву, сечогінну, антибактеріальну, фунгіцидну), достатню сировинну базу, великий досвід використання у народній медицині багатьох країн світу.

Аналіз джерел літератури свідчить про недостатнє фармакогностичне вивчення бедринцю ломикаменевого, тому дане дослідження є актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідних програм кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» «Фармакогностичне вивчення культивованих і дикорослих лікарських рослин; фізико-хімічні дослідження продуктів перетворення 1,3-диметилксантину та стандартизація, фармакологічні і фармакотехнологічні випробування лікарських засобів» (номер Державної реєстрації 0115 U003359) та «Пошук нових видів лікарських рослин, фармакогностичне та фармакологічне обґрунтування ефективності їх біологічно активних речовин» (номер Державної

реєстрації 0118 U004982). Дисертантом особисто проведено фармакогностичне дослідження бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.).

Мета і завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи було провести комплексний фармакогностичний аналіз бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів із дослідженням різних груп біологічно активних речовин та одержання лікарських субстанцій на їх основі.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

- здійснити інформаційний пошук та аналіз сучасного стану досліджень за темою дисертаційної роботи;
- провести вивчення якісного складу БАР надземних і підземних органів бедринцю ломикаменевого;
- визначити кількісний вміст основних груп БАР у траві та кореневищах і коренях досліджуваної рослини;
- встановити основні морфолого-анатомічні особливості будови трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого;
- розробити технологію одержання субстанцій з бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів, визначити їх хімічний склад та вивчити фармакологічну активність;
- розробити проекти МКЯ на бедринцю ломикаменевого траву і кореневища і корені та одержані субстанції.

Об'єкт дослідження – комплексне фармакогностичне дослідження бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів та вивчення фармакологічної активності БАР досліджуваної рослини.

Предмет дослідження – виявлення, якісний та кількісний аналіз БАР; макро- та мікроскопічний аналіз досліджуваної сировини бедринцю ломикаменевого; оптимальні технологічні аспекти розробки фітосубстанцій з бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів та вивчення відхаркувальної, протизапальної та антимікробної активності.

Методи дослідження. При виконанні дисертаційної роботи були використані фармакопейні методи виявлення якісного складу та кількісного вмісту БАР. Були застосовані методи: ПХ, ТШХ, ГХ/МС, ВЕРХ, спектрофотометрія, гравіметрія і титриметрія. Компонентний склад летких сполук досліджуваної ЛРС проводили на хроматографі Agilent Technology 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973N. З метою ідентифікації макро- та мікроелементів використовували атомно-абсорбційний метод аналізу, дослідження проводили на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115 ПК. Для морфологічного аналізу сировини бедринцю ломикаменевого використовували лупу та біноклярний мікроскоп МБС-9. Діагностичні мікроскопічні ознаки фіксували за допомогою мікроскопа «Granum» при збільшенні $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$ разів. Фотознімки робили за допомогою фотоапарату Sony DSC-W80. Фармакологічні дослідження проводили *in vivo*, мікробіологічні – *in vitro*. Використовували методи математичної статистики (обробка цифрових даних методом варіаційної статистики з використанням параметричного критерію Стюдента, непараметричних критеріїв Ньюмана-Кейлса, Манна-Уїтні).

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше проведено фармакогностичне дослідження бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.) трави та кореневищ і коренів. Методами фітохімічного аналізу встановлено наявність флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, кумаринів, танінів, вуглеводів, амінокислот, органічних і жирних кислот, сапонінів, які забезпечують їх фармакологічну активність. Вперше методом ГХ/МС досліджено полісахаридні комплекси та визначено їх мономерний склад. Досліджено кількісний вміст суми органічних кислот, який у бедринцю ломикаменевого траві та кореневищах і коренях становив 0,37 % і 0,44 % відповідно.

Вперше методом ГХ/МС визначали якісний склад та кількісний вміст жирних кислот. Аналіз проведених досліджень показав, що відсоток збігу виявлених сполук із тими, що є в бібліотеці мас-спектрів NIST 02, для

бедринцю ломикаменевого трави становив 83-99 %, для кореневищ і коренів – 74-99 %.

У траві та підземних органах бедринцю ломикаменевого уперше методом ВЕРХ проводили визначення якісного складу та кількісного вмісту вільних і зв'язаних амінокислот. У підземних органах визначено 13 вільних і 17 зв'язаних амінокислот, у траві – 17 зв'язаних амінокислот та 15 вільних.

Визначено у траві та кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого кількісний вміст сполук фенольної природи: суми кислот гідроксикоричних, суми кумаринів, суми танінів, поліфенолів і суми флавоноїдів, який становив у траві ($4,62 \pm 0,05$) %, ($1,81 \pm 0,01$) %, ($2,04 \pm 0,05$) %, ($4,85 \pm 0,01$) % і ($2,19 \pm 0,05$) % відповідно; у підземних органах – ($1,52 \pm 0,03$) %, ($3,64 \pm 0,01$) %, ($1,86 \pm 0,02$) % і ($3,72 \pm 0,21$) %.

Методом ВЕРХ вперше ідентифіковано та встановлено кількісний вміст вільних галової і елагової кислот; гідроксикоричних кислот (хлорогенової і розмаринової), флавоноїдів (рутину, гіперозиду, ізокверцитрину, лютеоліну), кумаринів (скополетину, псоралену, бергаптену). Встановлено наявність та визначено кількісний вміст сапонінів – 0,99 % і 1,89 % відповідно.

Методом ААС визначено в сировині бедринцю ломикаменевого вміст макро- і мікроелементів.

Компонентний склад летких сполук вперше досліджено хроматографічним методом на хромато-мас-спектрометричній системі.

Вперше вивчено основні діагностичні морфолого-анатомічні будову кореневища, стебла, листків та пелюсток бедринцю ломикаменевого та визначено їх основні макро- і мікродіагностичні ознаки.

Одержано густі екстракти з трави та з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого визначено основні параметри контролю їх якості.

Вперше досліджено гостру токсичність густих екстрактів з трави та з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого та доведено протизапальну, відхаркувальну та антимікробну дію досліджуваних фітосубстанцій.

Наукова новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель «Спосіб одержання рослинної субстанції з відхаркувальною та антимікробною активністю» № u 2019 08377.

Практичне значення отриманих результатів. Проведений комплексний фармакогностичний аналіз бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів та доведена перспективність застосування у медичній практиці бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.).

Обґрунтовано технологію одержання екстрактів з трави та підземних органів досліджуваної рослини. За результатами досліджень розроблено проекти МКЯ на нову лікарську сировину – «Бедринцю ломикаменевого трава», «Бедринцю ломикаменевого кореневища і корені» та на одержані субстанції «Бедринцю ломикаменевого трави екстракт густий» та «Бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів екстракт густий» (дод. В).

Досліджено протизапальну, відхаркувальну та антимікробну дію досліджуваних фітосубстанцій.

Отримано патент України на корисну модель «Спосіб одержання рослинної субстанції з відхаркувальною та антимікробною активністю» № u 2019 08377 (дод. А).

Дані фармакогностичних досліджень впроваджено у навчальний процес кафедри ботаніки Національного фармацевтичного університету, кафедр фармацевтичної хімії та фармації Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (дод. Б).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійно виконаним дослідженням автора. Дисертантом особисто проведено інформаційно-патентний пошук та аналіз даних літератури щодо ботанічної характеристики, хімічного складу, фармакологічних особливостей використання бедринцю ломикаменевого. Разом з науковим керівником здобувачем визначені мета, завдання, методики експериментальних досліджень.

Автором проведено вивчення якісного складу і кількісного вмісту БАР бедринцю ломикаменевого, здійснено статистичну обробку, аналіз та узагальнення отриманих результатів; досліджено морфолого-анатомічні особливості будови трави та кореневищ і коренів досліджуваної рослини та розроблено проекти МКЯ на нові перспективні види лікарської рослинної сировини та субстанції, одержані з них. Обґрунтовано технологію одержання екстрактів з трави та підземних органів бедринцю ломикаменевого, проведено вивчення їх протизапальної, відхаркувальної та антимікробної активності.

Вивчення морфолого-анатомічних особливостей будови трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого проведено за консультативної допомоги д. фарм. наук, професора, зав. кафедри ботаніки НФаУ Т. М. Гонтової.

Фармакологічні дослідження проведено автором на базі науково-дослідної лабораторії доклінічного вивчення фармакологічних речовин Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова під керівництвом професора Н. І. Волошук. Дослідження антимікробної активності густих екстрактів бедринцю ломикаменевого проведено автором на базі кафедри мікробіології, вірусології та імунології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України під керівництвом к. мед. н., доц. Н. І. Ткачук.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві з Т. М. Гонтовою, Л. В. Гусак (Слободянюк), Н. І. Ткачук, І. С. Дахим, М. В. Кирилів, І. Р. Бекус, Г. Р. Козир, О. Л. Демидяк дисертанту належить фактичний матеріал та основний доробок. Співавтором наукових праць є також науковий керівник проф. С. М. Марчишин, спільно з якою було проведено ряд досліджень.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були викладені та обговорені на XIX Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених, присвяченому пам'яті ректора, члена-кореспондента НАМН України, професора Л. Я. Ковальчука (Тернопіль, 27-29 квітня 2015 р.); 4th International conference and workshop «Plant – the source of

research material» (Lublin (Poland), 20-23. 09 2015); IV і V Всеукраїнських науково-практичних конференціях з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р.; 30-31 травня 2019 р.); VIII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація ХХІ століття»: тенденції та перспективи» (Харків, 13-16 вересня 2016 р.); VI науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 10-11 листопада 2016 р.); XXIII Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 15-17 квітня 2019 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання фармакології та фармакотерапії» (Тернопіль, 26-27 вересня 2019 р.).

Апробацію дисертаційної роботи проведено на спільному засіданні професорсько-викладацького складу кафедр фармацевтичного профілю Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського 21 червня 2019 року.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових робіт, у тому числі 5 статей у фахових виданнях України, 1 стаття у закордонному фаховому виданні, 8 тез. Одержано 1 патент на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається із вступу, огляду літератури, чотирьох розділів експериментальних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел та 5 додатків. Дисертаційна робота викладена на 170 сторінках, ілюстрована 25 таблицями та 38 рисунками. Основного тексту 108 сторінок. Список використаних джерел літератури містить 203 найменування, з яких 58 – латиницею.

РОЗДІЛ 1

БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД І
ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ РОСЛИН РОДУ БЕДРИНЕЦЬ
(*PIMPINELLA*) (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)1.1 Ботанічна характеристика рослин роду Бедринець (*Pimpinella*)

Клас Дводольні – *Magnoliopsida*, Родина Селерові – *Apiaceae*, Рід Бедринець – *Pimpinella* L, Бедринець ломикаменевий – *Pimpinella saxifraga* L.)

Бедринéць (*Pimpinella*) – рід родини селерові (*Apiaceae*). Це багаторічні трав'янисті рослини з прямостоячим стеблом і перистим листям. Квітки зібрані у суцвіття складний зонтик. У світовій флорі налічується близько 200 видів роду Бедринець (*Pimpinella* L.) (за іншими даними [122] – 150 видів), поширених в Азії, Європі та Африці, декілька видів зростає в Америці; в Україні зустрічаються 5 видів: бедринець великий (*Pimpinella major* (L.) Huds.), бедринець іноземний (*Pimpinella peregrina* L.), бедринець каменелюбний (*Pimpinella lithophila* Schischkin), бедринець вапнолюбний (крейдяний) (*Pimpinella titanophila* Woronow), бедринець ломикаменевий (*Pimpinella saxifraga* L.) [91, 137].

Представники роду використовуються як прянощі, в народній, традиційній та офіциналній медицині як відхаркувальні, спазмолітині, антибактеріальні, протигрибкові засоби [122, 150, 160, 168, 169, 171, 201].

Для деяких видів встановлено протипухлинну, антиоксидантну, протизапальну, гіпоглікемічну, протисудомну, інсектицидну активність екстрактів [10, 122, 198].

Найпоширенішим в Україні видом є бедринець ломикаменевий (*Pimpinella saxifraga* L.) [24, 143].

Бедринець ломикаменевий (*Pimpinella saxifraga* L.) багаторічна трав'яниста рослина, типовий вид роду Бедринець (*Pimpinella*) родини селерові (*Apiaceae*) [2, 80, 50].

У народі бедринець називають: бедронець, бедронець каменистий, бедрець (Київщина, Чернігівщина), бедринець (Галичина), бедринець простий, бедринець ломикамінь, бедринка, бидинець, буковець, галацуцка, дика морква, дрібчасте зілля (Полтавщина) [144], бедринка, бедрич простий, бездрінець бедрич, беридеревець, галацицка, ганус кульшастий, дзягель, єдрапець, зілля дрібчасте, козел, козлики, гюдринедь, ядринець [80].

Латинська назва *pimpinella*, походить від лат. *bipinella*, *bipinulla*, що вказує на форму листка – перисторозсічені. Видова назва *saxifraga* складається з лат. слів *saxum* + *fragere*, що позначає рослина, яка росте на каменях і розламає їх. Згідно з легендою, вона ламає каміння, намагаючись пробитися до сонця. За іншою версією своєю видовою назвою ця лікарська рослина зобов'язана літолітичній дії.

Ломикаменевим бедринець названо і через те, що рослина невибаглива і дуже витривала, адже вона дає паростки після суворих зим і цвіте в період засухи. Бедринець здатний виживати в будь-яких умовах помірного клімату.

Багаторічна ефіроолійна гола або короткоопушена трав'яниста кореневищна рослина заввишки 30-80 см. Кореневище гіллясте, багатоголове, коротке, веретеноподібне, до 1,5 см в товщину. Переходить у корінь – веретеноподібний, стрижневий, зморшкуватий, бугристий, гіллястий, зовні брудно-світло-жовтий або сірувато-жовтий, усередині жовтувато-білий з темнішими жовто-бурими крапочками, м'ясистий, товщиною до 2 см, до 20 см завдовжки, коренева шийка вкрита волокнистими залишками відмерлих листків.

Рослина має прямостояче стебло, 25-60 см заввишки, округле, тонкорібристе, розгалужене, щільне, при основі є розетка прикореневих листків. Листки, в основному, є лише у нижній частині стебла [91].

Прикореневі листки перисті або перисто-розсічені, довгочерешкові, разом з черешками завдовжки 10-20 см, з яйцеподібними або округло-яйцеподібними, тупими, великозубчастими, короткочерешковими або

сидячими частками, яких буває від 3 до 5 пар; кінцевий листочок часто трилопатевий або трироздільний.



Рис. 1.1. Бедринець ломикаменевий

Середні стеблові листки більш глибоко розсічені на вузькі частки, при основі клиноподібні, майже двічіперисті, сидячі, мають вигляд піхви [124]. Верхні листки з простою перистою або трироздільною дрібною пластинкою та ланцетоподібними або майже лінійними частками. Верхні листки з редукованою пластинкою. Квітки дрібні, п'ятипелюсткові, зібрані в 6-20 променеві складні зонтики, 5-8 см у діаметрі [124, 137, 141]. Квітки не мають обгортки та обгортчок. Чашечка має 5 зубців. Пелюстки у квіток білого кольору, рідко бувають рожеві, близько 1 мм довжиною, зовні щетинисто-волосисті, з виїмчастою верхівкою, з часткою, відігнутою всередину (рис. 1.2). Тичинок п'ять. Плід видовжено-яйцеподібний, голий; двосім'янка темно-коричневого кольору [141, 145], трохи сплюснута з боків [5, 122, 125, 145]. Плід

має 2-2,5 мм довжини та шириною 1-1,5 мм. Після дозрівання плоди розпадаються на два ребристі напівплодики грушеподібної форми. Цвіте в травні-червні, плодоносить у липні-серпні. Ближче до кінця липня-початку серпня досягають плоди, масово – в кінці серпня-вересні. Розмножується рослина насінням чи поділом куща [203]. У перший рік життя рослина утворює розетку прикореневих листків, на наступний рік цвіте і плодоносить.



Рис. 1.2. Бедринцю ломикаменевого суцвіття

Бедринець ломикаменевий росте на сухих луках, лісових галявинах, на схилах, узліссі, у соснових лісах, на кам'янистих вапнякових схилах, серед чагарників і на полянах, на занедбаних ділянках, пагорбах, у садах та на городах по всій території України [103, 124]. Зростає бедринець ломикаменевий також в горах, заходить навіть в субальпійський пояс [8]. До умов не вибагливий, морозостійкий і стійкий до посухи, любить суглинні ґрунти та велику кількість світла. Розповсюджений бедринець ломикаменевий також на Кавказі, в Сибіру, у Південно-Західній Азії, Західній Європі, Казахстані [103].

Запаси рослини значні. Рослина відтворюється у природних умовах самосівом. Заготівля бедринцю ломикаменевого можлива на Поліссі та у лісостеповій зоні України [37]. Для збереження рослин на території заготівлі

необхідно залишати 10-15 % заростей недоторканими, щоб на наступний рік утворювалися нові пагони.

Товстуха Є. С. [124] вказує, що для лікувальних потреб використовують кореневища і корені бедринцю ломикаменевого. Їх викопують за допомогою вил або лопат після цвітіння рослин у вересні-жовтні. Можна заготовляти і ранньою весною (березень-квітень). Зазвичай використовують тільки великі рослини, які мають розвинену кореневу систему. Підземні органи рослини викорчовують, промивають у проточній воді від землі та розкладають сушити під навіс при оптимальному провітрюванні. Важливо захистити рослину від прямих сонячних променів, щоб уникнути втрати корисних речовин. Сировина має виражений пряно-солодкий смак і дуже різкий запах. Зберігати її потрібно в закритому скляному посуді або у щільній паперовій тарі, а подрібнювати безпосередньо перед застосуванням [124]. Термін зберігання 3 роки.

Заговляють також плоди бедринцю ломикаменевого. Їх збирають у період масового досягання. Сушать за температури не вище 30 °С. Зберігають у скляному посуді темного кольору.

Рідше заготовляють надземну частину бедринцю – листки, траву і суцвіття [10, 125]. Збір листків і трави починають перед початком цвітіння рослини, в травні. Сушать у прохолодному приміщенні або на відкритому майданчику в тіні. Висушена сировина зберігає свій колір і легко подрібнюється в порошок. Існує ще один метод зберігання рослини, при якому листя солять.

Бедринець ломикаменевий визнаний фармакопейним у шести країнах Європи [136]. Корені бедринцю ломикаменевого офіційні в Болгарії, Данії, Німеччині, Норвегії та Швейцарії; були включені до ДФ СРСР (III і IV видання), а також до німецької та швейцарської Фармакопей. В Україні рослина неофіційна.

Бедринець ломикаменевий є недостатньо вивченою рослиною.

1.2 Хімічний склад і фармакологічна дія біологічно активних речовин бедринцю ломикаменевого

Хімічний склад бедринцю ломикаменевого є досить різноманітним. У джерелах літератури є інформація, що підземні органи рослини містять до 0,7 % ефірної олії – терпеноїди: бісаболол, саксазулен, азулен, поліацетиленові сполуки, ароматичні сполуки: пропілбензол, фенольні сполуки (ізоєвгенол, псевдоевгенол), до 0,42 % кумаринів (в основному, умбеліферон) і фурукумаринів (пімпінелін, ізопімпінелін, сфондин, бергаптен, ізобергаптен, ксантотоксин), дубильні речовини, жирні олії, флавоноїди, смоли, фенолкарбонові кислоти (фумарова, хінна, кофейна), сапоніни, цукри, пектини, амінокислоти, бензойну та оцтову кислоти, гіркоти, камедь, вітаміни, мікроелементи [8].

Вищенаведений хімічний склад бедринцю ломикаменевого дає можливість зробити припущення про наявність у даного виду протимікробної, сечогінної, відхаркувальної, анагетичної, в'язучої, потогінної, літолітичної, антисептичної, заспокійливої дії, що підтверджується даними літератури [37, 93, 145, 126].

Представником кумаринів, який міститься у бедринці ломикаменевого є умбеліферон (рис. 1.3), який проявляє антиаритмічну і спазмолітину дію.

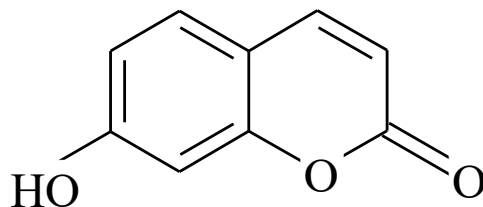


Рис. 1.3. Умбеліферон (7 - гідроксикумарин)

Ефірна олія, одержана з підземних органів бедринцю ломикаменевого, золотаво-жовтого кольору з неприємним запахом. Її вміст у підземних органах складає, згідно деяких джерел літератури, 0,02-0,4 %, у плодах – 1,6-3,0 % [8,

180]. Ефірна олія з надземної частини бедринцю ломикаменевого в залежності від місця зростання рослин може мати блакитно-зелене, трав'янисто-зелене або світло-зелене забарвлення, вміст її складає 0,06-0,07 % [122, 180]. У складі ефірної олії бедринцю ломикаменевого виділяють α -бісаболол (рис. 1.4), завдяки якому він проявляє протизапальну, антибактеріальну і заспокійливу дію [127].

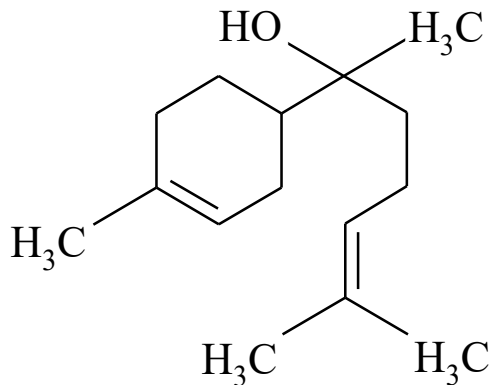
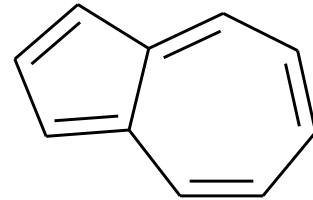
Рис. 1.4. α -Бісаболол

Рис. 1.5. Азулен

Азулен (рис. 1.5) циклічний ненасичений вуглеводень, компонент ефірної олії, який проявляє бактеріостатичну, антибактеріальну та протизапальну дію.

За даними джерел літератури, з бедринцю ломикаменевого виділяють не лише прості кумарини (умбеліферон), а і фурукумарини псораленового ряду – ксантотоксин (рис. 1.6), бергаптен (рис. 1.7), ізопмпінелін (рис. 1.8) та ангеліцинового ряду (сфондин, ізобергаптен, пмпінелін).

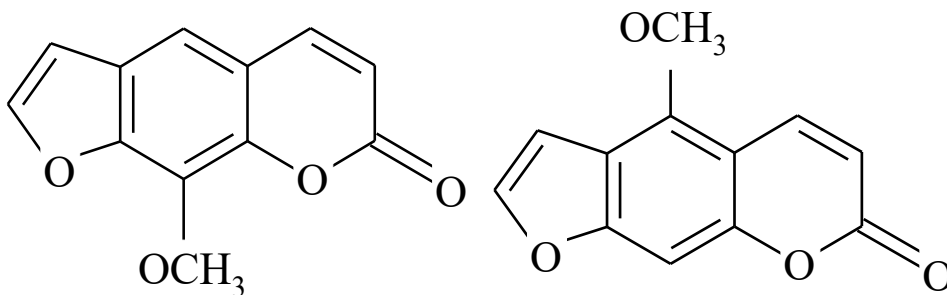


Рис. 1.6. Ксантотоксин (8-метоксипсорален) Рис. 1.7. Бергаптен (5-метоксипсорален)

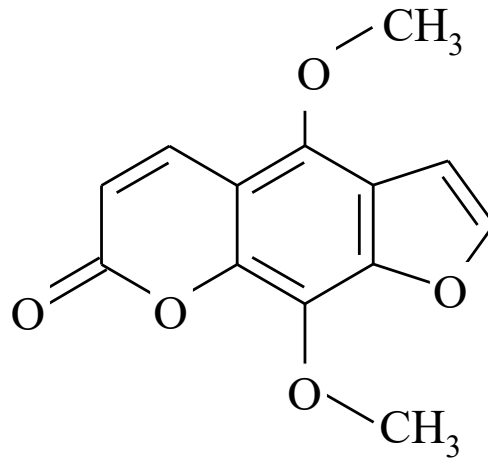


Рис. 1.8. Ізопімпінілін (5, 8-метоксиангеліцин)

Фурукумарини псораленового ряду проявляють противиразкову, заспокійливу та гіпотензивну дію, ангеліцинового ряду – спазмолітину та заспокійливу дію.

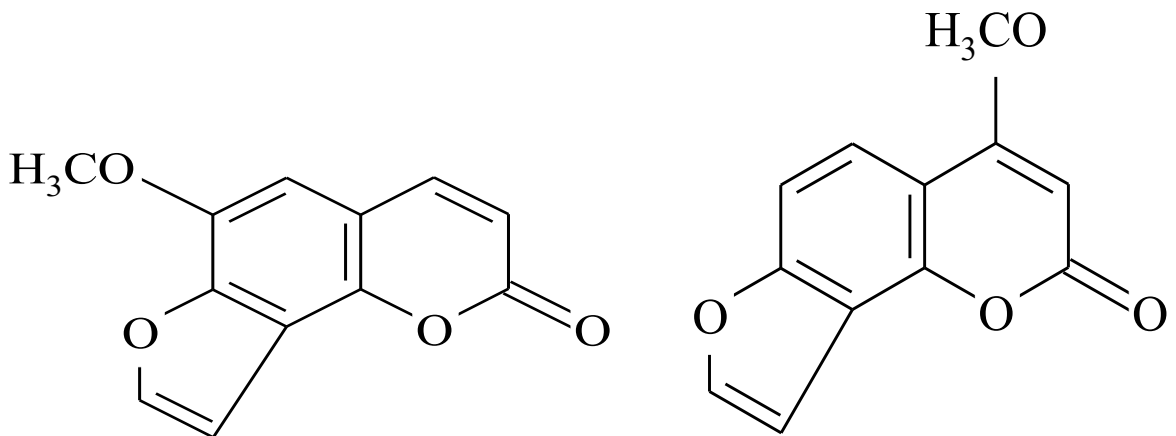


Рис. 1.9. Сфондин (6-метоксиангеліцин) Рис. 1.10. Ізобергаптен (5-метоксиангеліцин)

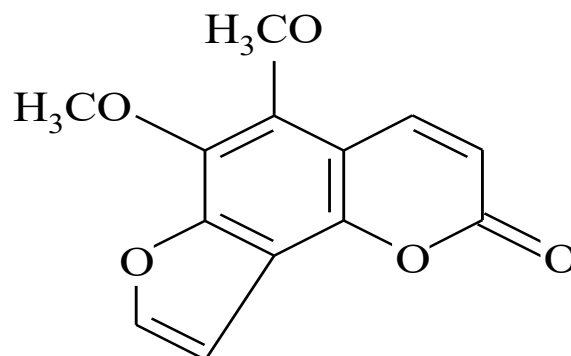


Рис. 1.11. Пімпінілін (5, 6-метоксиангеліцин)

У багатьох джерелах літератури є дані про те, що рослина містить сапоніни, пектини, камеді та фуурокумарини, похідні яких мають сильну спазмолітичну дію (знімають спазм гладких м'язів, кровоносних судин, жовчних шляхів, сечоводів), тому їх використовують при жовчнокам'яній і сечокам'яній хворобах [37, 136]. Наявність сапонінів, ефірної олії та дубильних речовин є показником до застосування препаратів бедринцю як відхаркувальних, в'язучих, потогінних засобів при простудних захворюваннях, катарі верхніх дихальних шляхів, бронхіті, катарі кишечника [37].

У стеблах і листках рослини міститься до 11 % білку, 2,6 % жирів, 32 % клітковини, 8,5 % золи, 0,2 % ефірної олії, а також виявлено солі калію і кальцію. У листках у період цвітіння наявні аскорбінова кислота (0,07 %) і каротин.

У суцвіттях бедринцю ломикаменевого виявлено флавоноїди, у плодах – 29 % жирної олії, до складу якої входить петрозелінова, пальмітинова, стеаринова, олеїнова, лінолева, ліноленова кислоти; фенольні сполуки, кумарини [8, 145]; ефірну олію, вміст якої становить 3 %, до 0,17 % кумаринів, феноли, флавоноїди – кемпферол, глікозиди кверцетину та ізорамнетину [8, 93].

У джерелах польської літератури є інформація, що бедринець ломикаменевий містить 0,5 % ефірної олії, фенолкарбонові кислоти, де переважає хлорогенова кислота [203].

Плоди бедринцю ломикаменевого містить жирну олію (до 29 %), у складі якої кислоти: пальмітинова, стеаринова, олеїнова та її ізомер, петрозелінова, лінолева, ліноленова; фенольні сполуки, кумарини.

Дослідженням бедринцю ломикаменевого займалися польські науковці, які встановили, що даний вид бедринцю є високополіморфним, його таксономічні групи можна встановити лише за фітохімічними показниками. Ними було визначено хімічний склад ефірних олій досліджуваних таксонів і встановлено, що вони відрізняються як за якісним складом, так і за кількісним вмістом компонентів ефірних олій. Було визначено 48 компонентів ефірної олії.

Характерними складовими усіх ефірних олій були псевдоізоевгенольні похідні, сесквітерпеноїди та сесквітерпенові вуглеводні [175].

Grys A. et al. [163] методом газової хроматографії в ефірній олії *Pimpinella saxifraga* ідентифіковано 60 компонентів. Встановлено кількісний вміст ефірної олії – 0,4 %.

У науковій праці Latowski K. et al. [158] показано, що на території Польщі зростає два види роду Бедринець – *P. nigra* та *P. saxifraga*, які різняться між собою як за морфологічними ознаками, так і за хімічним складом. Авторами було встановлено, що загальний вміст ефірної олії в досліджених зразках коренів коливався від 0,44 % до 1,76 %. Домінуючим компонентом досліджуваних ефірних олій був міоцен, вміст якого становив 32-39 %. У роботі також зазначено, що кількісний вміст ефірної олії в коренях *P. saxifraga* s., заготовленої в Туреччині, був значно нижчий, ніж у польських видів, і становив 0,17 % [165].

Російськими вченими [38], які вивчали вміст БАР рослин, що зростають у лісостеповій зоні Західного Сибіру, встановлено наявність та кількісний вміст флавоноїдів у *P. saxifraga*. Визначено, що їх вміст становив 4,6 %.

1.3 Застосування бедринцю ломикаменевого у народній і науковій медицині, гомеопатії та інших галузях народного господарства

Перші згадки про бедринець датуються 1588 роком, вже тоді були описані його лікарські властивості.

Знали бедринець ще древні греки. У ті давні часи цю рослину використовували як універсальні ліки, як панацею проти всіх недуг і як пряну рослину вирощували на селянських городах. Рослину оспівували у народних піснях, в яких співали про її користь для здоров'я людини. Зокрема, в одній із чеських народних пісень є такі слова: «Не хворітимемо і не помиримемо, коли будемо пити пиво з горішками та їсти бедринець».

У Стародавньому Римі бедринець ломикаменевий (*Pimpinella saxifraga L.*) вирощували, як лікарську рослину і застосовували, як засіб від хвороб серця, захворювань жіночої та чоловічої статеві системи, передчасної еяколяції у чоловіків, безплідді (жіночому і чоловічому).

Корисні властивості бедринцю ломикаменевого були згадані ще в джерелах літератури XVI століття [93].

У травниках XV ст. бедринець ломикаменевий згадується як лікарський засіб при епідеміях чуми і холери [103]. Під час епідемії коренем бедринцю обкурювали людей і худобу. В Галичині під час епідемії холери у 1897 році вживали краплями спиртову або горілчану настоянку з коренів бедринцю, коренів дудника лісового і лабазника бульвистого. Також пили відвар коренів бедринцю у молоці або у вині чи горілці [144].

Застосування коренів бедринцю ломикаменевого описано в фармакопях Швейцарії, Норвегії та ін. країн Західної Європи [37, 103].

На території України бедринець ломикаменевий застосовується тільки у нетрадиційній медицині.

На сьогоднішній день є достатньо інформації щодо його застосування у народній медицині при різних патологіях. Рослина виявляє протизапальну, спазмолітичну, потогінну, болезаспокійливу, сечогінну дію. Підземні органи рослини також застосовують як гіпотензивний і лактогінний засіб [7, 67, 126, 145]. Болезаспокійливий ефект бедринцю допомагає полегшити стан хворого при виразковій хворобі та подагрі [24].

Доведено, що ефірна олія має антибактеріальну і фунгіцидну активність. Крім того, проявляє сильну судинорозширювальну дію.

Має протикашльові та відхаркувальні властивості, покращує діяльність травних залоз. Використовують настоянку та відвари всередину [136]. Широко використовують при хворобах бронхолегеневого апарату, хворобах гепатобіліарної системи.

Застосування бедринцю сприяє кращому відходженню мокротиння, є сечогінним засобом, покращує травлення [37]. Відвари бедринцю

ломикаменевого вживають як відхаркувальний засіб при тривалому кашлі, гострому катарі верхніх дихальних шляхів, фарингіті, ларингіті, трахеїті, хронічному бронхіті, пневмонії [193]. Вони є гарним засобом при ангіні, захриплості, гострих респіраторних захворюваннях, аденовірусній інфекції, бронхіальній астмі. При коклюші його вживають як заспокійливий засіб, при набряках – як сечогінний [124]. Є дані про використання бедринцю при ревматизмі та кон'юктивіті [8, 89, 183].

Також відомо, що надземна частина бедринцю завдяки наявності клітковини є хорошим засобом при запорах, а також нормалізує обмінні процеси в організмі. Ліки з бедринцю допомагають при нирковокам'яній хворобі, сольових діатезах, захворюваннях печінки, атонії кишечника, хронічному гастриті зі зниженою кислотністю, подагрі, набряках та метеоризмі [61, 67, 124, 136]. Спиртова настоянка коренів є антисептичним, болезаспокійливим та імуностимулюючим засобом [24].

Засоби з бедринцю, збуджуючи видільну функцію шлункових залоз, сприяють нормалізації функціонування травного тракту. Фармакологічна активність БАР бедринцю при лікуванні захворювань шлунково-кишкового тракту наведена в табл. 1.1 [8].

Таблиця 1.1

Фармакологічна активність біологічно активних речовин, які містяться в різних органах бедринцю ломикаменевого [8]

Клас БАР	Фармакологічна активність
1	2
Ефірна олія	спазмолітична, гіпотензивна, бронхолітична, седативна, місцевопоздразнювальна, жовчогінна, протизапальна, антисептична, антибактеріальна, протигрибкова
Кумарини	протипухлинна, гіпотензивна, протизапальна, спазмолітична, антикоагулянтна, антисептична,

1	2
Флавоноїди	Р-вітамінна, седативна, протизапальна, противиразкова, кровоспинна, спазмолітична, жовчогінна, діуретична
Сапоніни	відхаркувальна, муколітична, послаблююча, регуляція водно-сольового обміну
Дубильні речовини	в'яжуча, відволікаюча, протизапальна, антибактеріальна
Терпеноїди	місцевоподразнювальна, відхаркувальна, седативна, протиблювотна, спазмолітична, антианорексигенна, антимікробна, кровоспинна

Спиртова настоянка листків або коренів бедринцю знімає спазми жовчних шляхів, розширює кровоносні судини, покращує роботу шлунково-кишкового тракту [8].

Настій бедринцю ломикаменевого має здатність знищувати трихомонади в сечостатевої сфері, регулює прохідність маткових труб, проявляє активність при аднекситах, кольпітах, мастопатії, міомах, ерозії шийки матки. Антисептична дія пов'язана з ефірною олією, яка проявляє антибактеріальну і фунгіцидну активність [8, 110].

Діуретична дія настою бедринцю дає можливість використовувати його при асциті, хворобах сечовидільної системи [8].

Під час серцевих нападів рекомендують приймати порошок з листя бедринцю, змішаного з цукром, або застосовують суміш (порівну) зі спорошкованого кореня бедринцю, насіння ганижу, листя собачої кропиви і цукру [144]. Рекомендують рослину і як загальнозміцнювальний засіб після перенесених важких недуг, після проведених кількох курсів хіміотерапії та опромінення.

Настій підземних органів бедринцю ломикаменевого застосовують при дифтерії та раку матки. За кордоном у даний час активно вивчаються і застосовуються протипухлинні властивості бедринцю ломикаменевого. Вважають, що протипухлинна активність рослини пов'язана з наявністю в складі її БАР кумаринових сполук [8].

На Волині та Поділлі відвар коренів застосовують при лихоманці, істерії, як засіб, що покращує лактацію у матерів, які годують дітей. Також жінки п'ють відвар коренів для збудження місячних та рівночасно кладуть на живіт припарки з відвару коренів бузини [144].

Бедринець ломикаменевий, окрім України, при захворюваннях шлунково-кишкового тракту застосовують у болгарській, польській, чеській та російській народній медицині [8, 89, 183].

У болгарській народній медицині використовують рослину як засіб для лікування таких шлункових захворювань як метеоризм, порушення травлення, хронічний гастрит, ентероколіт; зовнішньо проварену сировину у вигляді кашки – як припарки [116]. У Болгарії настоянку коренів бедринцю застосовують для лікування вітиліго (дія обумовлена наявністю фурукумаринів [202]), а також як діуретичний засіб.

Ліки з бедринцю ломикаменевого застосовують і зовнішньо: при ангіні, скарлатині та ларингіті як полоскання [51]. Свіжі посічені корені або листки прикладають до рани. Свіжий сік з рослини знебарвлює пігментні плями [37, 67, 144]. Сік рослини застосовується також при лікуванні виразки дванадцятипалої кишки і шлунку; сік з листя – при обмороженнях, проти фурункулів і гнійників, при нежиті [7].

Порошок коренів бедринцю ломикаменевого використовують у народній медицині як жовчогінний засіб [51]. Крім цього, порошок з сушених коренів додають до зубних порошоків та зубних паст.

В офіційній медицині бедринець ломикаменевий практично не використовується. Є поодинокі дані про те, що настоянка з коренів входить до складу комплексних лікарських засобів, що застосовуються як відхаркувальні,

розріджуючи слиз і сприяючи відходженню мокротиння з дихальних шляхів при гострих і хронічних бронхолегеневих захворюваннях. На сьогодні бедринець входить до складу препаратів серії «Бронхікум» (100 мл сиропу містять меду 45 г, настойки трави гринделії (1:5) 0,2 мл, настойки кореня пімпінели (1:5) 0,2 мл, настойки кореня первоцвіту (1:5) 1 мл, настойки квіток шипшини (1:5) 1 мл і настоянки чебрецю (1:5) 1,2 мл), а також використовується, як компонент гомеопатичних засобів [6, 189].

У статті Волошина О. І. і співавт. [136] наведено дані про доцільність застосування бедринцю ломикаменевого при подагричній нефропатії та супутніх ураженнях гепатобіліарної системи і кишечника, бронхолегеневого апарату, які є частими супутниками у хворих на подагру.

Експериментально доведено, що ефірна олія бедринцю ломикаменевого проявляє виражену судинорозширюючу дію – при проведенні порівняльних дослідів на ізольованому вусі кролів встановлено, що його судинорозширюючий ефект переважає дію папаверину [116].

Бедринець ломикаменевий входить до легеневих і шлункових зборів.

У косметології бедринець відомий, як натуральний засіб для позбавлення від пігментних плям. Ефірну олію бедринцю додають у зубні пасти, креми, різні парфумовані олії й шампуні, вона надає їм особливий ароматизований запах.

Бедринець ломикаменевий входить до складу шлункових і легеневих зборів, які використовуються у гомеопатії.

У гомеопатичній практиці бедринець знайшов застосування для лікування головного болю, шумів у вухах, як гемостатичний засіб при носових кровотечах [6]. Його також застосовують при захворюваннях шлунково-кишкового тракту. Сік бедринця допомагає при нервових розладах, тому що має заспокійливу властивість. Ще сік застосовують при бронхіальній астмі, асциті, коклюші та запаленнях.

На пасовищах та у сіні рослину з охотою поїдають тварини [188]. Додавання бедринцю до травостою або до сіна сприяє збудженню апетиту та

підвищує надої молока у сільськогосподарських тварин [9, 37, 144]. Настоянку і відвар бедринцю ломикаменевого застосовують у ветеринарії [6].

Плоди бедринцю ломикаменевого використовуються у кулінарії, кондитерській та хлібопекарній промисловості як замітник анісу та кмину. Як прянощі використовують квітки, молоде листя, корені і плоди. Бедринцем ароматизують деякі види майонезу. Зонтики з квітками використовують під час соління огірків, каперсів, помідорів тощо [144].

Широко використовують бедринець ломикаменевий на Кавказі – плоди як замітник анісу, корені як гостру приправу до багатьох блюд. Ранньою весною народи Кавказу готують свіжі салати з молодих прикореневих листків бедринцю, які включають до лікувально-профілактичного харчового раціону. Молоде листя має гіркуватий, терпкий, пряний смак і ніжний аромат.

З бедринцем готують різні настоянки та ароматизоване пиво [9].

В італійській, французькій, іспанській кухнях він вживається й дотепер. Листя має ніжний аромат, терпкий, освіжаючий, дещо схожий на огірковий, солодкувато-пряний смак. Його додають до салатів, зокрема з капусти, кольрабі, помідорів, як окремо, так і разом з естрагоном, петрушкою, цибулею, а також до супів, соусів, майонезів, масла, сирних паст тощо. Бедринець використовують для приготування блюд з яєць і сиру [37, 80]. Корені подрібнюють і роблять пряну приправу, яка підходить для м'яса, овочів або як добавка при випічці хліба [7].

Листки бедринцю використовують як сурогат чаю (чигирський чай) [7, 37].

Як приправу до м'яса, риби, овочів та страв з яєць і сиру використовують завчасно висушене й розтерте в порошок коріння бедринцю. Аромат посилюється і стає вишуканим, якщо додати кілька крапель лимонного соку. Пікантного смаку надає оцту покладена в пляшку гілочка бедринцю ломикаменевого.

В Україні корені й молоде листя використовують при приготуванні вінегретів, салатів, супів, в якості приправи для ароматизації ковбаси, сирів, пива і безалкогольних напоїв.

Плоди застосовують при випікання булочок, хлібців, пряників. Розмелені у порошок плоди як приправу додають і до м'ясних, рибних овочевих страв, а також до супів і борщів.

Також цю рослину використовують як декоративну. Може прикрасити альпінарій, де йому слід відвести сонячне й сухе місце, найбільше віддає перевагу вологим ґрунтам. Вирощують бедринець і в горщиках на балконах та за вікнами. Однак у цьому разі треба щороку висаджувати новий саджанець. Рослина легко піддається культивуванню.

Бедринець – добрий медонос, любляють його і тварини [80].

Побічна дія бедринцю ломикаменевого. При використанні настоянки і відвару коренів слід побоюватися передозування і застосування їх у літній період, оскільки вони містять фуурокумарини, що проявляють фотосенсибілізуючу активність. Протипоказами є індивідуальна непереносимість, підвищена чутливість організму до БАР рослин родини селерові. Індивідуальна непереносимість проявляється у вигляді висипки, набряків, нежиті, утрудненого дихання. Рослина може викликати фотодерматит і контактний дерматит [103]. Протипоказами також є загострення захворювань кишечника, шлунка; серцева недостатність; камені в сечовому міхурі; гломерулонефрит.

Лікарські засоби, до складу яких входить бедринець ломикаменевий, заборонені вагітним і годуючим мамам, а також хворим з тромбозом або брадикардією [7].

Окрім бедринцю ломикаменевого, у народній медицині світу застосовують й інші види бедринцю. Серед них бедринець великий – *P. magna* L., сировина якого раніше входила до III і IV видання Фармакопеї СРСР та використовувалася поряд з сировиною бедринця ломикаменевого. В Європі використовується і в даний час бедринець чужинний (*P. peregrina* L.) і

бедринець Козельцова (*P. tragium* Vill.) аналогічно як бедринець ломикаменевий.

Бедринець Телунга – *P. theflungiana* H. Wolf. використовується в медицині Китаю при жовчно-кам'яній хворобі. У Тибеті його плоди застосовують для лікування зубу і як антигельмінтний засіб.

Плоди бедринцю ароматного – *P. aromatica* Vieb. на Кавказі використовують для лікування малярії [6].

Таким чином, аналіз і узагальнення даних літератури щодо досвіду використання бедринцю ломикаменевого показав, що рослина, в основному, застосовується у народній медицині. У клінічній практиці при лікуванні різних захворювань бедринець ломикаменевий знаходить застосування рідко, тільки як засіб для комплексної терапії респіраторних захворювань, хоча завдяки багатій фітокомпозиції біологічно активних речовин спектр показань до його застосування може бути досить широкий. Це дозволяє зробити висновок, що подальше поглиблене фармакологічне вивчення біологічно активних речовин бедринцю ломикаменевого флори України з метою створення нових фітопрепаратів різноспрямованої дії є доцільним і перспективним.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Короткі відомості про об'єкти дослідження, прилади, методи та реактиви

Об'єктами для досліджень були надземні та підземні органи бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga L.*), фармакологічне вивчення біологічно активних речовин субстанцій, одержаних з досліджуваних об'єктів. Сировину заготовляли на трав'янистих пагорбах і схилах у Гусятинському районі Тернопільської області (траву – у липні-серпні, кореневища і корені – восени після відмирання надземної частини рослини).

Дослідження виконано з використанням фітохімічних, біохімічних, фізичних, фізико-хімічних, хімічних, технологічних, макро- та мікроскопічних, мікробіологічних та фармакологічних методів та методів математичної статистики [28, 29, 32, 59].

Для проведення досліджень використовували водні, спиртово-водні та хлороформні витяжки з бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів.

Одержання водних витяжок: 30 г сухої подрібненої сировини трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого (розміри частинок 2-5 см) заливали 250 мл гарячої води очищеної Р та протягом 30 хв екстрагували у колбі зі зворотним холодильником на киплячій водяній бані. Екстрагування повторювали 3 рази. Водні витяжки об'єднували, фільтрували крізь паперовий фільтр і випаровували до 100 мл. Одержану водну витяжку використовували для виявлення полісахаридів, аміно- та органічних кислот, дубильних речовин, сапонінів.

Одержання спиртово-водних витяжок бедринцю ломикаменевого. 30 г сухої сировини заливали 250 мл 70 % етанолу Р і протягом 30 хв тричі екстрагували у колбі зі зворотним холодильником на киплячій водяній бані.

Спиртово-водні витяжки об'єднували, фільтрували крізь паперовий фільтр і випаровували до 100 мл. Одержані спиртово-водні витяжки досліджуваної сировини використовували для виявлення гідроксикоричних кислот, сапонінів і флавоноїдів.

Хлороформну витяжку одержували, використовуючи апарат Сокслета [118], і після повного видалення хлороформу досліджували наявність у досліджуваній сировині жирних кислот.

Для хроматографічного аналізу БАР використовували ПХ і ТШХ у відповідних системах розчинників, методи висхідної одновимірної хроматографії.

Фармакопейними методами визначали якісний склад та встановлювали кількісний вміст БАР [28, 118].

ТШХ проводили, використовуючи хроматографічні пластинки «Сорбфіл» (*Sorbfil plates 10x15*, Росія); ПХ – на папері *Filtrak FN №4*.

Оптичну густина досліджуваних розчинів знімали на спектрофотометрі *Lambda 25 UV (Perkin Elmer, США)*, у кюветах з товщиною шару 10 мм.

Якісний склад та кількісний вміст жирних кислот, компонентний склад летких сполук визначали на хромато-мас-спектрометричній системі *Agilent 6890N/5973 inert (Agilent Technologies USA)*.

Якісний склад та кількісний вміст індивідуальних речовин фенольної природи (флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, кумаринів) у надземних та підземних органах бедринцю ломикаменевого визначали методом ВЕРХ на рідинному хроматографі *Agilent 1200 3 D LC System Technologies (США)*.

З метою ідентифікації макро- та мікроелементів використовували атомно-абсорбційний метод аналізу. Дослідження проведено на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115 ПК.

Морфологічний аналіз сировини бедринцю ломикаменевого проводили використовуючи лупу та бінокулярний мікроскоп МБС-9. Для вивчення анатомічної будови трави і підземних органів досліджуваної рослини готували мікропрепарати зі свіжозібраної та фіксованої в суміші 96 % етанол-гліцерин-

вода очищена (1:1:1) сировини [138]. Діагностичні мікроскопічні ознаки фіксували за допомогою мікроскопу «Granum» при збільшенні $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$ разів. Фотознімки зроблено за допомогою фотоапарату Sony DSC-W80.

2.2 Виявлення та визначення кількісного вмісту біологічно активних речовин первинного синтезу

2.2.1 Визначення вуглеводів. Основна маса вуглеводів, що зустрічаються в природі, існує у вигляді полісахаридів. Полісахариди виявляли у водній витяжці з досліджуваної трави за ДФУ 2.0, монографія «Подорожника великого листа» [30].

Кількісне визначення вмісту ВРПС та ПР у досліджуваній сировині бедринцю ломикаменевого визначали гравіметричним методом [30, 35, 55, 190].

Вміст моносахаридів, похідних моносахаридів та сахарози визначали методом ГХ/МС. Використовували хроматограф Agilent 6890N/5973 inert (Agilent Technologies, USA).

Ідентифікацію цукрів досліджуваної суміші проводили шляхом порівняння часів утримання стандартних цукрів та з використанням бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби. Як внутрішній стандарт використовували розчин сорбітолу [55, 148].

Масу цукрів на 1 кг сировини в мг розраховували за формулою :

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

де S_x – площа піку шуканого цукру;

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

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

m – наважка сировини, г.

2.2.2 Виявлення амінокислот. Для визначення вмісту амінокислот використовували водні витяжки бедринцю ломикаменевого: змішували приблизно 2 мл досліджуваної витяжки і 0,1 % свіжоприготовленого розчину нінгідрину (3-4 мл), одержану суміш обережно нагрівали та охолоджували. Прояв наявності амінокислот у витяжці свідчить поява червоно-фіолетового забарвлення [71].

Хроматографічне визначення амінокислот у досліджуваному об'єкті проводили на хроматографі Agilent 1200 (Agilent technologies, USA). Колонка Zorbax AAA довжиною 150 мм, внутрішнім діаметром 4,6 мм, діаметр зерна сорбента 3 мкм. Мобільна фаза А – 40 mM Na₂HPO₄ pH 7.8; В – ACN: MeOH: water (45:45:10, v/v/v). Режим розділення градієнтний із постійною швидкістю потоку 1,5 мл/хв. Температура термостату колонки 40 °C [146].

Передколонкову дериватизацію проводили в автоматичному програмованому режимі з використанням FMOC реагенту (Agilent 5061-3337) та OPA реагенту (Agilent 5061-3335). Детекція дериватизованих амінокислот реалізовувалася за допомогою флуоресцентного детектора. Даний метод заснований на екстракції вільних амінокислот із рослинної сировини та кислотному гідролізі рослинних препаратів з наступним аналізом гідролізатів методом ВЕРХ з передколоночною дериватизацією 9-флуоренілметокси-карбоніл хлоридом (FMOC) та о-фталевим альдегідом (OPA) з наступною детекцією флуоресцентним детектором [155, 173, 174].

Підготовка проб рослинної сировини бедринцю ломикаменевого для визначення амінокислот:

- визначення вільних амінокислот: наважку перетертої до порошкоподібного стану сировини поміщали у віалу, додавали 2 мл 1М кислоти хлористоводневої *P* та витримували на ультразвуковій бані при 50 °C протягом 3 год.
- визначення загальних амінокислот: перетертої до порошкоподібного стану сировини поміщали у віалу, додавали 2 мл водного розчину 6М

кислоти хлористоводневої P та поміщали в термостат при температурі $110\text{ }^{\circ}\text{C}$. Гідроліз проводили протягом 24 год.

0,5 мл відцентрифугованого екстракту/гідролізату упарювали на роторному випаровувачі, тричі промиваючи водою очищеною P для видалення хлористоводневої кислоти. Ресуспендували в 0,5 мл води очищеної P та фільтрували крізь мембранні фільтри із регенованої целюлози з порами 0,2 мкм.

Одержання флуоресцентних похідних проводили в автоматичному програмованому режимі перед введенням проби в хроматографічну колонку. Ідентифікацію амінокислот проводили шляхом порівняння часів утримання (RT) з сумішшю стандартів амінокислот (Agilent 5061-3334).

Кількісний вміст амінокислоти розраховували за площею її хроматографічного піку, у мікрограмах на міліграм, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{C \times V_{\text{розч.}}}{m_{\text{преп.}}},$$

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

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

$m_{\text{преп.}}$ – наважка сировини, мг.

Для визначення вмісту зв'язаних амінокислот у сировині від їх загального вмісту віднімали вміст вільних амінокислот [25, 132].

2.2.3 Виявлення органічних кислот. Виявлення вільних органічних кислот проводили методом ТШХ. Використовували водну витяжку бедринцю ломикаменевого [12, 57, 191]. Дослідження проводили у системі розчинників: 95 % етанол P -концентрований розчин амоніаку (16:4,5) на хроматографічних пластинках марки «*Sorbfil*» (*Sorbfil plates 10x15*, Росія). Хроматограми після хроматографування добре висушували і піддавали обробці 0,04 % етанольним розчином бромкрезолового зеленого. При наявності органічних кислот з'являлися жовті плями на зеленому фоні. При дії на хроматограми парів

амоніаку Р протягом декількох секунд збільшувалась контрастність плям. Використовували стандартні зразки щавлевої, яблучної, бензойної, винної, бурштинової, саліцилової та лимонної кислот.

Вміст суми вільних органічних кислот проводили за методикою ДФУ 2.0 у перерахунку на лимонну кислоту [32].

Кількісний вміст суми вільних органічних кислот (X, %) у перерахунку на лимонну кислоту в абсолютно сухій сировині у відсотках обчислювали за формулою :

$$X = \frac{V \times 0,0064 \times 250 \times 100 \times 100}{m \times 10 \times (100 - W)},$$

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

0,0064 – кількість лимонної кислоти, що відповідає 1 мл 0,1 М розчину натрію гідроксиду;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

2.2.4 Дослідження жирних кислот. Якісний склад та кількісний вміст жирних кислот проводили методом ГХ/МС [84, 166, 179].

Ідентифікацію метилових естерів жирних кислот проводили з використанням бібліотеки мас-спектрів NIST 02. При додаванні розчину внутрішнього стандарту до досліджуваних зразків бедринцю ломикаменевого визначали кількісний вміст жирних кислот. Їх вміст, у відсотках, обчислювали за формулою :

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

де S_x – площа піку кислоти жирної;

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

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

m – наважка сировини, г [75, 131].

2.3 Дослідження ліпофільних речовин

Ліпофільну фракцію з трави та з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого одержували вичерпним екстрагуванням хлороформом в апараті Сокслета. Одержані хлороформні екстракти випаровували до видалення екстрагенту та зважували. Масу ліпофільної фракції розраховували як різницю між масою приймача, заповненого субстанцією, і попередньо визначеною масою порожнього приймача [118].

Розраховували вихід ліпофільної фракції (X , %) трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого у перерахунку на абсолютно суху сировину за формулою:

$$X = \frac{m_{л.ф.} \times 100 \times 100}{m_n \times (100 - w)},$$

де $m_{л.ф.}$ – маса ліпофільної фракції, г;

m_n – маса наважки сировини, г;

w – втрата в масі при висушуванні, %.

2.4 Виявлення та визначення кількісного вмісту біологічно активних речовин вторинного синтезу

2.4.1 Дослідження дубильних речовин.

Наявність дубильних речовин встановлювали у водних витяжках трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого. Виявлення дубильних речовин підтверджували за допомогою реакції з розчином ферум (III) амоній сульфату (до 2-3 мл витяжки додавали 2-3 краплі розчину ферум (III) амоній сульфату) та реакцією з 1%

розчином желатини (до 2 мл очищеної витяжки додавали краплями 1 % розчин желатини) [118].

Кількісне вміст танінів у підземних і надземних органах бедринцю ломикаменевого визначали на спектрофотометрі *Lambda 25 UV (Perkin Elmer, США)* за методикою ДФУ 2.0 [31].

Брали 0,5 г (точна наважка) досліджуваної сировини і поміщали у круглодонну колбу місткістю 250 мл та додавали 150 мл *води очищеної Р*. Нагрівали на водяній бані протягом 30 хв, охолоджували під проточною водою та кількісно переносили у мірну колбу місткістю 250 мл. Круглодонну колбу обполіскували *водою очищеною Р*, промивні води переносили в мірну колбу і доводили об'єм розчину *водою очищеною Р* до 250,0 мл. Після осідання осаду рідину фільтрували крізь фільтрувальний папір діаметром 125 мм. Перші 50 мл фільтрату відкидали.

Сума поліфенолів. 5,0 мл фільтрату доводили *водою очищеною Р* до 25,0 мл. Суміш 2,0 мл одержаного розчину, 1,0 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву Р і 10,0 мл *води очищеної Р* доводили розчином 290 г/л *натрію карбонату Р* до об'єму 25,0 мл. Оптичну густину розчину вимірювали через 30 хв за довжини хвилі 760 нм (A_1) у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як компенсаційний розчин використовували *воду очищену Р*.

Поліфеноли, що не адсорбуються шкірним порошком. До 10 мл фільтрату додавали 0,10 г ФСЗ шкірного порошку і енергійно струшували протягом 60 хв. Суміш фільтрували і доводили 5,0 мл фільтрату *водою очищеною Р* до об'єму 25,0 мл. Суміш 2,0 мл одержаного розчину, 1,0 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву Р і 10,0 мл *води очищеної Р* доводили розчином 290 г/л *натрію карбонату Р* до об'єму 25,0 мл. Оптичну густину розчину через 30 хв вимірювали за довжини хвилі 760 нм (A_2). Як компенсаційний розчин використовували *воду очищену Р*.

Стандартний розчин. 50,0 мг *пірогалолу Р* розчиняли у *воді очищеній Р* і доводили об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл (перед випробуванням). 5,0 мл одержаного розчину доводили *водою очищеною Р* до

об'єму 100,0 мл. Суміш 2,0 мл одержаного розчину, 1,0 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву Р і 10,0 мл *води очищеної Р* доводили розчином 290 г/л натрію карбонату Р до об'єму 25,0 мл. Оптичну густину розчину через 30 хв вимірювали за довжини хвилі 760 нм (A_3). Як компенсаційний розчин використовували *воду очищену Р*.

За наступною формулою обчислювали вміст танінів (X, %) у перерахунку на пірогалол:

$$X = \frac{62,5 \times (A_1 - A_2) \times m_2}{A_3 \times m_1},$$

де m_1 – маса випробовуваного зразка, г;

m_2 – маса пірогалолу, г.

Вміст суми поліфенолів (X, %) обчислювали у перерахунку на пірогалол за формулою :

$$X = \frac{62,5 \times A_1 \times m_2}{A_3 \times m_1},$$

де m_1 – маса випробовуваного зразка, г;

m_2 – маса пірогалолу, г.

Компонентний склад дубильних речовин визначали методом ВЕРХ на хроматографі Agilent 1200 3D LC System Technologies (США) [167, 194].

Методика визначення компонентів дубильних речовин: обернено-фазну хроматографію проводили, використовуючи хроматографічну колонку SupelcoDiscovery C_{18} розміром 250×4,6 мм із сорбентом (силікагель, модифікований октадецильними групами), яка має діаметр зерен 5 мкм. Як рухому фазу використовували сольвент А, до складу якого входить 0,1 % трифлуорацетатна кислота, 5 % ацетонітрил та вода очищена (до рН = 2,08), та сольвент В, до складу якого входить 0,1 % трифлуорацетатна кислота та

ацетонітрил. Режим хроматографування проводили з максимальною швидкістю подачі рухомої фази 0,1 мл/хв, максимальний робочий тиск елюента становив 400 bar (40 кПа); температура термостата колонки – 25 °С; об'єм введеної проби – 5-20 мкл, час хроматографування – 40 хв.

Для поділу сполук застосовувались такі умови: режим елюювання – градієнтна форма, ступінчаста: 0 хв 0 % «В», 8 хв 12 % «В», 10 хв 12 % «В», 15 хв 25 % «В», 20 хв 25 % «В», 25 хв 75 % «В», 28 хв 75 %, 29 хв 0 %. Час сканування становив 0,6 сек, діапазон детектування – 190-400 нм, довжина хвилі 280 і 255 нм. Ідентифікацію речовин проводили, враховуючи час утримання, визначення кількісного вмісту індивідуальних сполук – за площею піку на хроматограмі [157, 167].

Пробопідготовка рослинної сировини: 2,00 г (точна наважка) ретельно подрібненої рослинної сировини (трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого) поміщали в круглodonну колбу об'ємом 50 мл, екстрагували 25 мл бідистильованої води протягом 30 хв на киплячій водянній бані зі зворотним холодильником при перемішуванні. Після охолодження екстракту його кількісно переносили в мірну колбу об'ємом 100 мл та доводили об'єм розчину до мітки бідистильованою водою.

2.4.2 Гідроксикоричні кислоти. Гідроксикоричні кислоти визначали у спиртово-водних витяжках надземних і підземних органів бедринцю ломикаменевого. Реакція з 1 % розчином ферум (III) хлориду (поява зелено-сірого забарвлення) свідчить про наявність у сполук фенольної природи, в тому числі гідроксикоричних кислот.

Виявлення гідроксикоричних кислот проводили методом ПХ, використовували папір Filtrak FN № 4 та такі системи розчинників: 2 % розчин ацетатної кислоти та н-бутанол-ацетатна кислота-вода очищена Р (4:1:2). Після висушування хроматограму розглядали при денному та УФ-світлі до і після обробки парами амоніаку [76].

Методом спектрофотометрії у траві та кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого визначали кількісний вміст гідроксикоричних кислот [14, 70, 170].

Брали 2,0 г (точна наважка) подрібненої сировини бедринцю ломикаменевого і поміщали у колбу місткістю 200 мл. Сировину заливали 70 мл 20 % етанолу Р, колбу приєднували до зворотного холодильника і протягом 15 хв нагрівали на водяній бані. Екстракцію проводили тричі. Після цього екстракт охолоджували і фільтрували крізь паперовий фільтр, використовуючи лійку Бюхнера. Екстракт кількісно переносили у мірну колбу місткістю 250 мл і доводили об'єм розчину 20 % етанолом Р до мітки (розчин А). 1 мл розчину А вносили у мірну колбу місткістю 50 мл і 20 % етанолом Р доводили до мітки. Оптичну густина розчину вимірювали на спектрофотометрі *Lambda 25* за довжини хвилі 327 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовували 20 % етанол Р.

За даною формулою обчислювали вміст гідроксикоричних кислот (X, %) у перерахунку на хлорогенову кислоту та абсолютно суху сировину:

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

де A – оптична густина досліджуваного розчину;

250 – об'єм розчину, мл;

m – маса сировини, г;

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

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту індивідуальних гідроксикоричних кислот проводили методом ВЕРХ, використовуючи рідинний хроматограф Agilent 1200 3 D LC System Technologies (США) з діодноматричним детектором G1315C.

Для приготування рухомої фази використовували ацетонітрил марки Chromasolv gradient grade, for HPLC, > 99,9 % (Sigma-Aldrich), ортофосфатну кислоту – Chromasolv gradient grade, for HPLC > 99,9 % (Sigma-Aldrich),

бідистильовану воду, яку одержували на Simplicity SIMSV00 Water Purification System Millipore-(Merck KGaA, Darmstadt, Germany). Для екстракції гідроксикоричних кислот застосовували метанол марки Chromasolv gradient grade, for HPLC, > 99,9 % (Sigma-Aldrich). Стандартні зразки гідроксикоричних кислот (хлорогенову, кофейну, *p*-кумарову, ферулову, розмаринову) використовували виробництва Sigma Chemical Co.

Підготовка проб для аналізу: 1,0 г сировини бедринцю ломикаменевого (точна наважка) екстрагували протягом 15 хв на водяній бані зі зворотним холодильником 50 мл 60 % розчину метанолу. Екстракт фільтрували, кількісно переносили в мірну колбу місткістю 100 мл і доводили до мітки об'єм розчину 60 % метанолом. Одержаний розчин відфільтровували крізь мембранний фільтр з розміром пор 0,45 мкм.

Для поділу фенольних сполук застосовувались такі умови: градієнтне елюювання сумішшю бідистильованої води підкисленої кислотою ортофосфатною до рН = 2,85 (А) та ацетонітрилу (В): 0 хв 5 % «В», 8 хв 8 % «В», 15 хв 10 % «В», 30 хв 20 % «В», 40 хв 40 % «В», 41-42 хв 75 % «В», 43-50 хв 5 % за довжини детектування 320 і 330 нм [172].

2.4.3 Визначення флавоноїдів. Для якісного виявлення флавоноїдів у траві та кореневищах бедринцю ломикаменевого використовували спиртово-водні витяжки. Як зразок для порівняння використовували 0,1 % спиртовий розчин рутину.

Для ідентифікації флавоноїдів застосовували загальновідомі якісні реакції:

- ціанідина проба (реакція з хлоридною кислотою концентрованою та металічним магнієм);
- із 10 % розчином лугу;
- із 10 % розчином ферум (III) хлоридом;
- із 5 % спиртовим розчином алюмінію (III) хлориду [118].

Ідентифікацію флавоноїдів у досліджуваних зразках сировини проводили також з використанням методу ТШХ у системі розчинників *n*-бутанол-ацетатна кислота-вода очищена Р (4:1:2).

Спектрофотометричним методом за методикою ДФУ 2.0 визначали кількісний вміст суми флавоноїдів [32, 79].

Розраховували кількісний вміст суми флавоноїдів (X, %) у перерахунку на рутин та абсолютно суху сировину за формулою:

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

де А – оптична густина випробуваного розчину;

A₀ – оптична густина стандартного зразка рутину;

m – маса наважки сировини, г;

m₀ – маса наважки ФСЗ ДФУ рутину, г;

W – втрата в масі при висушуванні, % [117].

Методом ВЕРХ на хроматографі Agilent 1200 3D LC System Technologies (США) проводили розділення суми флавоноїдів на окремі компоненти. Хроматограф укомплектований проточним вакуумним дегазатором G1322A, чотиріканальним насосом градієнта низького тиску G13111A, автосамплером G1329A, термостатом колонки G1316A, детекторами діодноматричним G1315C та рефрактометричним G1362A. Умови хроматографування для визначення флавоноїдів: колонка SupelcoDiscovery C18 розміром 250×4,6 мм. Як сорбент використовували силікагель із діаметром зерен 5 мкм; елюенти: (А) 0,005 Н фосфорна кислота (Sigma-Aldrich), (В) ацетонітрил (Sigma-Aldrich). Хроматографування проводили при максимальній швидкості подачі рухомої фази, що становила 0,8 мл/хв, робочий тиск елюента – 156 bar; температура термостата колонки – 25 °С. Режим елюювання – градієнтний: 0 хв 12 % «В», 30 хв 25 % «В», 33 хв 25 % «В», 38 хв 30 % «В», 40 хв 40 % «В», 41 хв 80 %

«В», 49-60 хв 12 %. Час сканування – 0,6 с, діапазон детектування – 190-400 нм, довжина хвилі 255 нм і 340 нм [72, 79, 172].

Пробопідготовка. Брали 1,0 г (точна наважка) подрібненої сировини трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого і поміщали в круглодонну колбу на 50 мл, додавали 25 мл 60 % розчину метанолу, 2 мл розчину фосфорної кислоти Р і бідистильованої води (1:10) (до рН = 2,8). На киплячій водяній бані зі зворотним холодильником протягом 30 хв проводили екстрагування перемішуючи вміст проби.

Одержані екстракти бедринцю ломикаменевого фільтрували крізь фільтр одноразового використання з діаметром пор 0,45 мкм. Для хроматографування використовували 10 мкл проби. Ідентифікацію флавоноїдів проводили шляхом порівняння значень часу утримування і УФ-спектра з даними стандартами.

Розрахунок концентрації проводили градувальним методом (залежність площі хроматографічного піка від масової концентрації відповідних флаваноїдів у розчині підготовленої проби).

2.4.4 Визначення кумаринів. Виявлення кумаринів у траві та кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого проводили якісними реакціями:

- лактонна проба – до 3-5 мл спиртової витяжки додають 5 краплин 10 % спиртового розчину калію гідроксиду, нагрівають на водяній бані 5 хв (за наявності кумаринів розчин жовтіє), потім приливають 5-10 мл очищеної води Р, добре перемішують (може з'явитися каламуть або осад за рахунок ліпофільних сполук), а потім додають 10 % хлористоводневу кислоту до кислої реакції;
- реакція з лугом та діазореактивом. До 3-5 мл спиртової витяжки додають 10 краплин 10 % спиртового розчину калію гідроксиду, нагрівають на водяній бані 5-6 хв, потім додають 5 краплин свіжоприготованої діазотованої сульфанілової кислоти [118].

Кількісний вміст суми похідних кумаринів визначали спектрофотометричним методом [98]. Виділення суми кумаринів у траві та кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого проводили за допомогою екстракції спиртовими сумішами з подальшою обробкою одержаного залишку неполярним розчинником. Для аналізу брали метанольний екстракт і хлороформ у співвідношенні 15:85, потім додавали воду очищену Р і 2 % розчин натрію хлориду перемішуючи одержану суміш упродовж 2 хв, залишали до повного розділення фаз. Верхній водний шар переносили в епандорфи з додаванням води очищеної Р.

Оптичну густина одержаного розчину вимірювали на спектрофотометрі у перерахунку на псорален за довжини хвилі 290 нм. за формулою :

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

де А – оптична густина досліджуваного розчину при 290 нм;

650 – питомий показник поглинання псоралену при 290 нм;

m – маса наважки сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, % [101].

Методом ВЕРХ на рідинному хроматографі Agilent 1200 (Agilent Technologies, USA) визначали компонентний склад кумаринів. Використовували рухому фазу – 0,1 % розчин мурашиної кислоти (розчин А) та 0,1 % розчин мурашиної кислоти в ацетонітрилі (розчин В). Розділення здійснювали в градієнтному режимі: впродовж перших п'яти хвилин витримували співвідношення А до В 95 % / 5 % з наступним градієнтом до співвідношення А до В 5 % / 95 % за 10 хв, яке витримували впродовж наступних 13 хв. Для розділення використовували хроматографічну колонку Zorbax SB-C18 2,1×150 мм, 3,5 мкм (Agilent Technologies, USA), швидкість потоку крізь колонку становила 0,2 мл/хв. Детектування проводили з використанням діодно-матричного при 254 та 340 нм та флуоресцентного детекторів – довжина хвилі збудження 340

нм, довжина хвилі емісії 425 нм. Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили з використанням стандартних розчинів похідних кумаринів.

Підготовка проб для аналізу: близько 1,00 г (точна наважка) сировини бедринцю ломикаменевого екстрагувалася в 5 мл хлороформу на ультразвуковій бані при 80 °С впродовж 4 год у скляних герметичних віалах із тефлоновою кришкою. Центрифугування одержаного екстракту здійснювали при 3 тис об/хв., після чого екстракти фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм.

2.4.5 Визначення ефірної олії. Хроматографічним методом на хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973 inert (Agilent Technologies, USA) вивчали компонентний склад летких сполук трави та підземних органів бедринцю ломикаменевого [42, 73, 105, 106, 123]. Використовували колонку капілярну HP-5MS, яка мала довжину 30 м, внутрішній діаметр 0,25 мм і товщину фази 0,25 мкм.

Методом перегонки з водяною парою із використанням зворотного холодильника за температури 100 °С упродовж 3 год одержували леткі сполуки з досліджуваної сировини бедринцю ломикаменевого. Відігнані води екстрагували гептаном. У потоці азоту екстракт упарювали до 100-200 мкл [73, 140]. Аналіз компонентів летких сполук бедринцю ломикаменевого виконували в градієнтному режимі.

Починали з температури 50 °С, яку витримували впродовж 5 хв. Наступний градієнт температури – 4 °С /хв до 220 °С, градієнт 10 °С до 300 °С, який витримували впродовж 10 хв. Газ-носій-гелій, швидкість потоку крізь колонку 1,0 мл/хв. Температура випаровувача становила 300 °С, режим вводу проби з поділом потоку (split) з коефіцієнтом – 1:50, об'єм інжекції – 2 мкл.

Ідентифікацію компонентів досліджуваних проб проводили з використанням бібліотеки мас-спектрів NIST 02 (понад 174000 сполук). Індокси утримування розраховували за результатами контрольних аналізів ефірних олій з добавкою суміші нормальних алканів (C₁₀-C₁₈).

2.4.6 Визначення сапонінів. Ідентифікацію сапонінів проводили за якісними реакціями з водними витяжками із досліджуваних об'єктів [118]:

- проба піноутворення – 1,5 мл водної витяжки енергійно збовтували протягом 1 хв. При наявності сапонінів повинна утворитися стійка піна.

Реакції осадження:

- до 1 мл витяжки додавали 3-4 краплини 10 % розчину основного ацетату свинцю;
- до 1 мл витяжки додавали 3-4 краплі баритової води.

Методом спектрофотометрії на спектрофотометрі Lambda 25 UV за довжини хвилі 381 нм у перерахунку на есцин визначали кількісний вміст сапонінів [135]. Брали 2,0 г (точна наважка) подрібненої трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого, поміщали в патрон і проводили екстрагування протягом 2 год (10 зливів) хлороформом використовуючи апарат Соксклета. Хлороформні витяжки відкидали. Потім протягом 5 год (10 зливів) проводили екстракцію використовуючи 95 % етанол Р. Розчинник відганяли на водяній бані до об'єму 1-2 мл, додавали 10 мл води очищеної Р і кількісно переносили в ділільну лійку, до якої додавали 3 мл хлористоводневої кислоти та екстрагували сумішшю н-пропіловий спирт-хлороформ 2 рази (по 70 мл). Одержані витяжки фільтрували і під вакуумом відганяли розчинник. Залишок, який залишався в колбі, розчиняли в ацетатній кислоті, переносили в колбу на 25 мл, доводили до мітки ацетатною кислотою і одержували розчин А. 0,5 мл розчину А поміщали в колбу на 25 мл, доводили до мітки ацетатною кислотою і одержували розчин Б. 2 мл розчину Б, 2 мл кобальту хлориду, 2 мл сульфатної кислоти наливали у пробірку і поміщали у киплячу водяну баню на 1 год. Пробірку швидко охолоджували. Розчин порівняння і стандартний розчин готували аналогічним методом.

Стандартний розчин готували таким чином: 0,0009, 0,0018, 0,0024 г есцину поміщали у колбу на 50 мл і доводили до мітки ацетатною кислотою.

Далі готували аналогічним методом як досліджуваний розчин і розчин порівняння.

Кількісний вміст сапонінів (X , %) у перерахунку на есцин в абсолютно сухій сировині обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \times 25 \times 25 \times 100}{m \times 0,5 \times (100 - W)}$$

де A – оптична густина, яка знайдена за калібрувальним графіком;

25 – об'єм розчину А, мл;

25 – об'єм розчину Б, мл;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

2.5 Дослідження елементного складу сировини бедринцю ломикаменевого

Методом атомно-абсорбційної спектrophотометрії на атомно-абсорбційному спектrophотометрі марки С-115-М1 визначали у сировині вміст макро- і мікроелементів. Висушену і подрібнену ЛРС озолювали парами нітратної кислоти і розчиняли золу у хлористоводневій кислоті. Вміст елементів К і Na вимірювали в емісійному режимі. Для кожного із елементів будували свій калібрувальний графік в межах лінійної залежності $D \rightarrow C$ [40, 41, 82].

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

2.6 Морфолого-анатомічний аналіз лікарської рослинної сировини

Морфологічну будову сировини, вивчали використовуючи лупу та бінокулярний мікроскоп МБС-9. Для вивчення анатомічної будови бедринцю

ломикаменевого трави та кореневищ і коренів готували мікропрепарати зі свіжозібраної та фіксованої в суміші 96 % етанол-гліцерин-вода очищена (1:1:1) сировини [119, 138]. Діагностичні мікроскопічні ознаки фіксували за допомогою мікроскопу «Granum» при збільшенні $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$ разів. Фотознімки зроблено за допомогою фотоапарату Sony SC-W80.

2.7 Фармакологічні дослідження

Фармакологічні дослідження проведено згідно з правилами і вимогами «Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, Франція, 1986) [162], а також Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 26.02.2006 р. [88, 164]. Під легким ефірним наркозом шляхом декапітації виводили тварин з експерименту [33, 88].

2.7.1 Визначення гострої токсичності густих екстрактів з трави та з підземних органів бедринцю ломикаменевого на мишах. Дослідження гострої токсичності густих екстрактів з трави та з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого проводили за методом В. Б. Прозоровського [109] на 140 білих нелінійних мишах обох статей масою 27-32 г. Тварин розділяли на групи, у кожній по 7 тварин. Тваринам внутрішньошлунково вводили досліджувані екстракти в діапазоні доз 500 мг/кг, 750 мг/кг, 1000 мг/кг, 3000 мг/кг та 5000 мг/кг. Якщо об'єм екстракту перевищував 5 мл, введення проводили дробним методом протягом доби [34]. Після завершення експерименту (через 14 днів) у кожній групі визначали відсоток летальності з метою розрахунку середньої летальної дози (ЛД₅₀) [109].

Внутрішньошлункове введення через металевий зонд досліджуваних екстрактів бедринцю ломикаменевого проводили після нічного (8-12 год) голодування тварин. Під час досліджень у тварин був вільний доступ до води; до їжі їх допускали лише через 4 год після введення [34, 60].

Протягом усього експерименту проводили спостереження за виживанням тварин, споживанням ними їжі та води, а також за клінічними проявами інтоксикації (у разі їх виникнення): за загальним станом, змінами положення тіла, станом шкіри, кольором слизових оболонок та окремими симптомами (сльозоточивість, діарея, зміни кольору сечі та фекалій, сонливість, судоми). У разі загибелі тварин проводили їх розтин та здійснювали макроскопічний аналіз органів черевної порожнини з метою встановлення, що летальний вихід тварини не відбувся внаслідок маніпуляційних помилок, а також для визначення вірогідної причини загибелі.

2.7.2 Дослідження відхаркувального ефекту густих екстрактів трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого. Вплив екстрактів бедринцю ломикаменевого на секреторну функцію бронхів проводили згідно методики, яку описано у відповідних джерелах [74, 100, 161, 200].

Досліджувані густі екстракти бедринцю ломикаменевого в дозах 100 та 200 мг/кг і препарат порівняння «Геделікс» краплі (50 мл, Кревель Мойзельбах ГмбХ/Krewel Meuselbach GmbH.) із розрахунку 100 мг/кг і 200 мг/кг внутрішньошлунково вводили мишам обох статей масою 20-26 г і через 30 хв вводили внутрішньоочеревинно 500 мг/кг фенолового червоного (феноловий червоний розчиняли в 1-2 краплях диметилсульфоксиду та доводили фізіологічним розчином до необхідного об'єму). Через 30 хв тварин виводили з експерименту шляхом дислокації хребців у шийному відділі, знекровлювали шляхом розтину брюшної аорти і проводили резекцію всієї трахеї. Отриману трахею поміщали в 4 мл фізіологічного розчину і промивали протягом 30 хв, центрифугували при 8000 об/хв при кімнатній температурі протягом 10 хв, додавали 1 н. розчин натрію гідроксиду (NaOH) до супернатанту (0,1 мл 1 н. NaOH на 1 мл супернатанту) і потім на фотоелектрокалориметрі (ФЕК) вимірювали оптичну густину за довжини хвилі 546 нм. Визначення відхаркувальної активності встановлювали за концентрацією фенолового червоного.

Відхаркувальну дію досліджуваних густих екстрактів бедринцю ломикаменевого та препарату порівняння крапель «Геделікс» вивчали за їх впливом на активність моторики в'язкого епітелію. Цей показник характеризує евакуаторну здатність секрету бронхів. Дослідження відхаркувального ефекту проводили на моделі ізольованої трахеї щура. Досліджувані екстракти вводили внутрішньошлунково в дозі 200 мг/кг.

Щурів масою 280-310 г забивали кровопусканням з черевної аорти. Трахею звільняли, відсепаровували між гортанню та її біфуркацією і фіксували до пластинки розміром 9 см×3,7 см×0,3 см. Пластинку вміщували в пластиковий бокс ємністю 350 мл з 250 мл розчину Тіроде і розміщували на 1 см нижче рівня розчину. Розчин Тіроде сатурували карбогеном з підтримкою постійної температури 37 °С. Активність в'їжок визначали шляхом підрахунку часу просування макових зернят, які були розташовані на протилежному до гортані краю слизової трахеї, на відстань 5 мм. Базову активність в'їжок визначали в 5 спостереженнях з використанням збільшення (×20) [113]. Досліджувані сполуки добавляли до розчину Тіроде, де знаходилась трахея.

Статистичну обробку одержаних результатів проводили в комп'ютерній програмі «Statistica 8.0».

Для оцінки статистичної різниці у двох незалежних виборках застосовували непараметричний U-критерій Мана-Уїтні, для порівняння незалежних вибірок в різних групах застосовували метод Крускала-Уоліса.

2.7.3 Дослідження протизапальної активності густих екстрактів трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого. Визначення протизапальної дії густих екстрактів трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого в порівнянні з референс-препаратами «Геделікс» краплі та натрію диклофенак виконували на моделі експериментального запального процесу, викликаного субплантарним введенням 0,1 мл 1 % розчину карагеніну (λ -карагенін виробництва «Sigma» (США) [34] в задню кінцівку щура. Відомо, що антиексудативна активність речовин на моделі карагенінового набряку

свідчить про їх вплив на кінінову систему, гістамін та простагландини [16, 87, 133, 184]. На 3-й годині після введення (піку розвитку запального процесу) вимірювали об'єм здорової та набряклої кінцівки. Густі екстракти бедринцю та препарати порівняння вводили через 2 год після введення карагеніну внутрішньошлунково в дозі 200 мг/кг, яка виявила більш виразну відхаркувальну дію.

У дозі 8 мг/кг, яку розраховували за методом Ю. П. Риболовлева і виходили з добової дози для людини (ED_{50}), вводили референс-препарат натрію диклофенак. За ступенем зменшення набряку лапи дослідних тварин у порівнянні з тваринами контрольної групи визначали антиексудативну активність, яку виражали у відсотках.

АЕА досліджуваних густих екстрактів бедринцю ломикаменевого визначали за ступенем зменшення набряку у дослідних тварин у порівнянні з контрольними, розраховували за формулою та виражали у відсотках:

$$АЕА = \frac{\Delta V_k - \Delta V_d}{\Delta V_k} \times 100\%,$$

де АЕА - антиексудативна активність у %;

ΔV_k – середня різниця між вихідним об'ємом та об'ємом лапи з набряком в групі позитивного контролю;

ΔV_d – середня різниця між вихідним об'ємом та об'ємом лапи з набряком в дослідній групі.

2.7.4 Дослідження антимікробної активності густого екстракту з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого. Дослідження антимікробної дії густого екстракту з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого проводили на базі лабораторії мікробіологічних досліджень ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України». Використовували тест-культури 5

музейних штамів: грампозитивні мікроорганізми *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, спорову культуру *Bacillus subtilis* ATCC 6633, грамнегативну культуру *Escherichia coli* ATCC 25922 та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Антифунгальну дію з'ясовували відносно *Candida albicans* ATCC 885-653.

Бактеріостатичні властивості досліджуваних об'єктів встановлювали за результатами росту еталонних штамів мікроорганізмів у нативному водному розчині бедринцю та в розведенні 1:2 та 1:4 на м'ясопептонному бульйоні; бактерицидні – за відсутністю росту вмісту пробірок з розведенням екстракту на щільних поживних середовищах (*м'ясо-пептонний агар-МПА*) для грампозитивних мікроорганізмів *S. aureus*, *B. subtilis*, для грамнегативної культури *E. coli*, *P. aeruginosa*. *Агар Сабуро* використовували для дріжджеподібних грибів роду *Candida* (*C. albicans*) [108].

Методом дифузії в агар – методом «колодязів» визначали чутливість музейних штамів мікроорганізмів до досліджуваного густого екстракту з підземних органів бедринцю ломикаменевого [108]. Діаметр зони затримки росту тест культур вимірювали в мм, включаючи діаметр «колодязя».

Облік результатів проводили шляхом вимірювання зони пригнічення росту мікроорганізмів, включаючи діаметр лунок. Вимірювання проводили з точністю до 1 мм, при цьому орієнтувались на повну відсутність видимого росту. Діаметр зони затримки росту мікроорганізмів характеризував антимікробну активність експериментальних зразків:

- відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, та зону діаметром до 10 мм, оцінювали як нечутливість мікроорганізмів до зразка;
- зони діаметром 11-15 мм оцінювали як помірну чутливість культури до концентрації діючої протимікробної речовини, що досліджувалась;
- зони затримки росту діаметром 15-25 мм – чутливий штам мікроорганізму до досліджуваного зразка;
- зони затримки росту, діаметр яких перевищував 25 мм, свідчить про високу чутливість мікроорганізмів до досліджуваного зразка [81, 108].

Експерименти повторювали тричі, визначаючи медіану цифрового значення діаметру зони затримки росту.

Одержані результати дають можливість охарактеризувати протимікробну активність досліджуваного густого екстракту з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого, оскільки зони затримки росту мікроорганізмів утворюються внаслідок дифузії БАР у щільне живильне середовище.

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН НАДЗЕМНИХ І ПІДЗЕМНИХ ОРГАНІВ БЕДРИНЦЮ ЛОМИКАМЕНЕВОГО

За методиками, які наведено у пункті 2.2-2.5 розділу 2, вивчали БАР надземних і підземних органів бедринцю ломикаменевого.

3.1 Визначення вуглеводів

Вуглеводи відіграють важливу роль у життєдіяльності рослин, будучи з одного боку структурними, опорними речовинами (клітковина, геміцелюлоза, пектин), а з іншого, вуглеводи беруть безпосередню участь в обміні речовин (крохмаль, інουλін, цукри), при цьому вони є одними з основних джерел енергії. Основна маса вуглеводів, що зустрічаються в природі, існує у вигляді полісахаридів, які мають широкий спектр фармакологічної активності: відхаркувальну, знеболювальну, протипухлинну, проносну, гіпоглікемічну, імуномодулювальну, гіпохолестеринемічну, виражену протизапальну, протівірусну, антимікробну, загальнозміцнювальну, анаболічну, протівиразкову, ранозагоювальну [1, 38, 85, 121]. Вони також підвищують стійкість організму, знижують побічні ефекти глюкокортикоїдів, антибіотиків та цитостатиків. Усі полісахариди є адсорбентами, найактивніші з них – пектини. Крім важливого функціонального значення і специфічної фармакологічної активності, полісахариди впливають на розвиток сумарного фармакологічного ефекту препаратів, одержаних із рослинної сировини [36, 58].

Полісахариди виявляли за допомогою реакції осадження. Поява пластівчастих згустків при додаванні до екстрактів 96 % етанолу свідчила про наявність полісахаридів у досліджуваній сировині бедринцю ломикаменевого. Пластівці при відстоюванні випадали в осад.

З сировини бедринцю ломикаменевого було виділено ВРПС і ПР.

ВРПС являють собою аморфний порошок світло-коричневого кольору, що легко розчиняється у воді, розчиняється у водних розчинах кислот і лугів та не розчиняється в органічних розчинниках.

ПР – аморфний порошок кремового кольору, який досить повільно розчиняється у воді, і при нагріванні утворює гелеподібний колоїдний розчин.

Вміст полісахаридів у досліджуваній сировині визначали гравіметричним методом. Результати досліджень наведено в табл. 3.1.

Таблиця 3.1

Вміст полісахаридних фракцій у траві та кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого

Назва сировини	Фракція полісахаридів	Вміст, %, n=5
трава	ВРПС	6,95±0,25
	ПР	11,89±0,11
кореневища і корені	ВРПС	11,25±0,15
	ПР	4,41±0,31

Встановлено, що трава бедринцю ломикаменевого містила (6,95±0,25) % ВРПС. Вміст ПР у досліджуваному об'єкті становив (11,89±0,11) %, що у 1,6 рази більше ніж ВРПС.

Кореневища і корені бедринцю ломикаменевого містили ВРПС (11,25±0,15) %, ПР – (4,41±0,31) %.

Визначення цукрів у досліджуваній сировині проводили методом ГХ/МС. Результати представлено в табл. 3.2-3.3 і на рис. 3.1-3.2.

У кореневищах і коренях бедринцю виявлено 5 цукрів, ідентифіковано 2; у траві виявлено 13 цукрів, ідентифіковано 3. В обох зразках рослинної сировини ідентифіковано глюкозу (Glu) і сахарозу (Suc). У траві також виявлено фруктозу (Fru), вміст якої становив 0,68 мг/кг. Встановлено, що найбільша кількість сахарози містилася у підземних органах бедринцю ломикаменевого – 33,96 мг/кг [182].

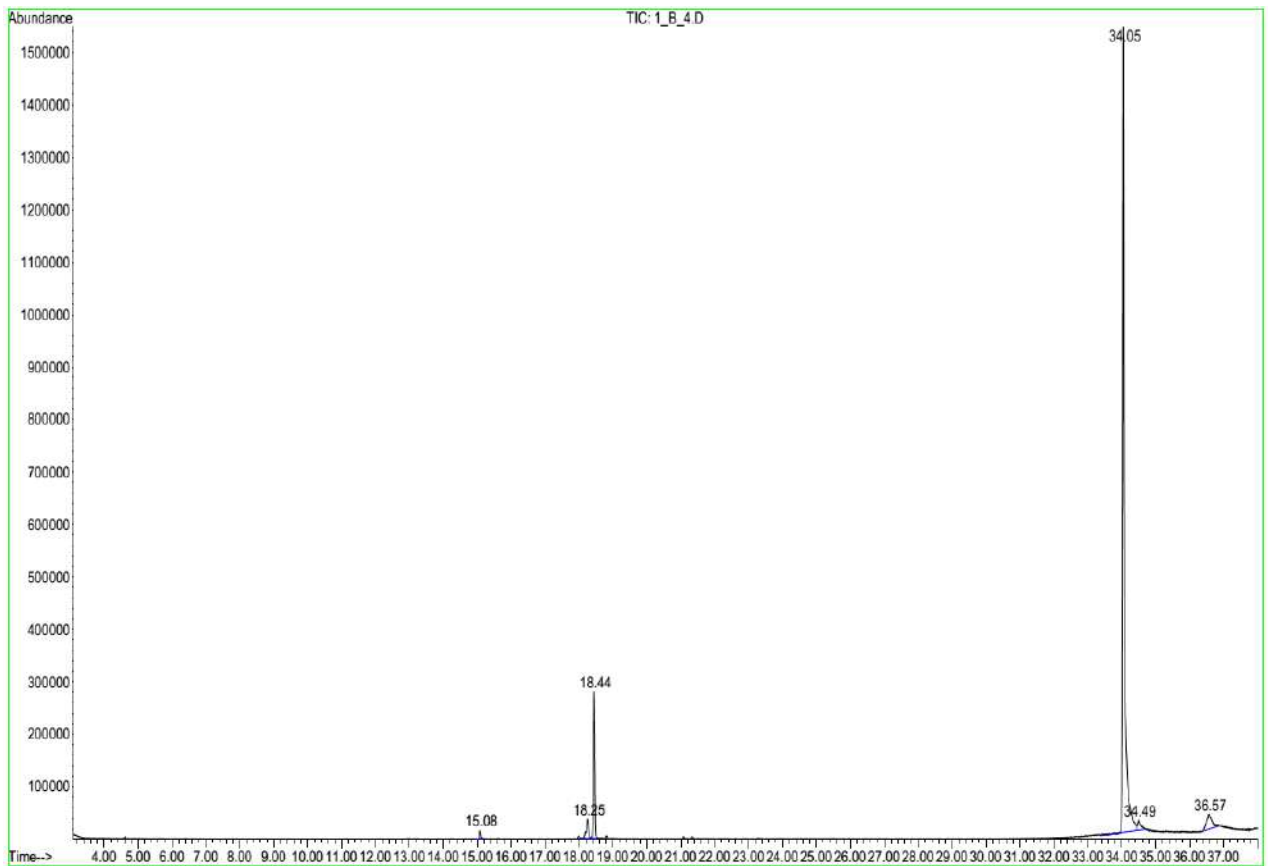


Рис. 3.1. ГХ-хроматограма цукрів підземних органів бедринцю ломикаменевого

Таблиця 3.2

Вміст цукрів у бедринцю ломикаменевого кореневищах і коренях

Час утримання, хв	Вміст цукрів (мг/кг)	Назва цукрі
15,0779	0,28	D-глюкоза
18,4439	стандарт	сорбітол
34,0455	33,96	сахароза

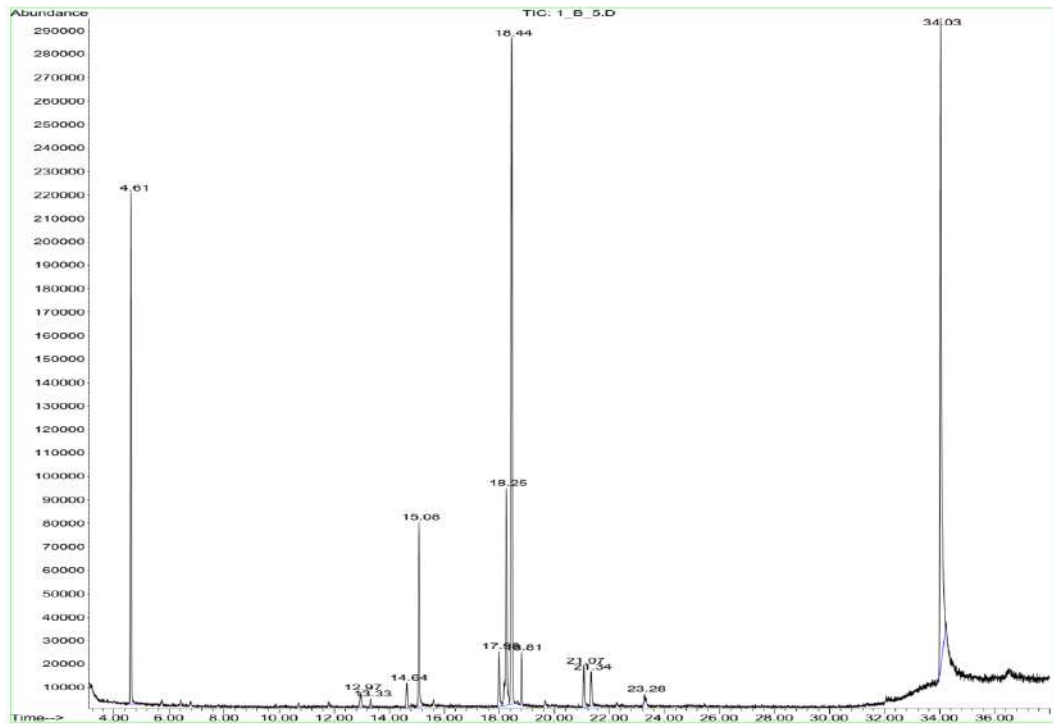


Рис. 3.2. ГХ-хроматограма цукрів бедринцю ломикаменевого трави

Таблиця 3.3

Вміст цукрів у бедринцю ломикаменевого трави

Час утримання, хв	Вміст цукрів (мг/кг)	Назва цукрі
15,0737	1,44	D-глюкоза
18,4439	стандарт	сорбітол
21,0704	0,68	D-фруктоза
34,0328	6,55	сахароза

3.2 Вивчення органічних кислот

Перспективною групою біологічно активних речовин рослинного походження є органічні кислоти. Відомо, що їх широко застосовують у фармацевтичній, косметичній, харчовій промисловості. Органічні кислоти проявляють протизапальну, антиоксидантну, гепатозахисну, протимікробну

активність, вони беруть участь в обміні речовин, сприяють зменшенню процесів нітрузування в організмі та зниженню хімічного канцерогенезу [90, 95, 192]. Органічні кислоти створюють сприятливі умови для життєдіяльності корисних мікроорганізмів у ШКТ, вони регулюють виділення жовчі та соку підшлункової залози, поліпшують апетит, знижують гнилісні процеси в організмі [12, 49, 115].

Для дослідження кислот органічних використовували водну витяжку бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів. Якісний склад визначали методом ТШХ [57]. Спостерігали появу жовтих плям органічних кислот на зеленому фоні.

Методом ТШХ було встановлено наявність щавлевої, лимонної, бурштинової, бензойної, винної та слідів саліцилової кислот у бедринцю ломикаменевого трави та щавлевої, лимонної, бурштинової, винної - в кореневищах і коренях.

Кількісний вміст вільних органічних кислот визначали за методикою ДФУ 2.0 у перерахунку на кислоту лимонну. У траві бедринцю ломикаменевого їх вміст становив $(0,37 \pm 0,02) \%$, у кореневищах і коренях – $(0,44 \pm 0,04) \%$.

Методом ГХ/МС на Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA) з органічних кислот ідентифіковано у надземних і підземних органах бедринцю щавлеву, малонову, бурштинову і лимонну кислоти. У надземних органах бедринцю виявлено левулінову кислоту [78].

3.3 Визначення жирних кислот

Жирні кислоти як насичені, так і ненасичені відіграють важливу роль у життєдіяльності організму [86]. Методом ГХ/МС проводили встановлення якісного складу та визначення кількісного вмісту жирних кислот у досліджуваній сировині бедринцю ломикаменевого.

Хроматограми наведено на рис. 3.3-3.4.

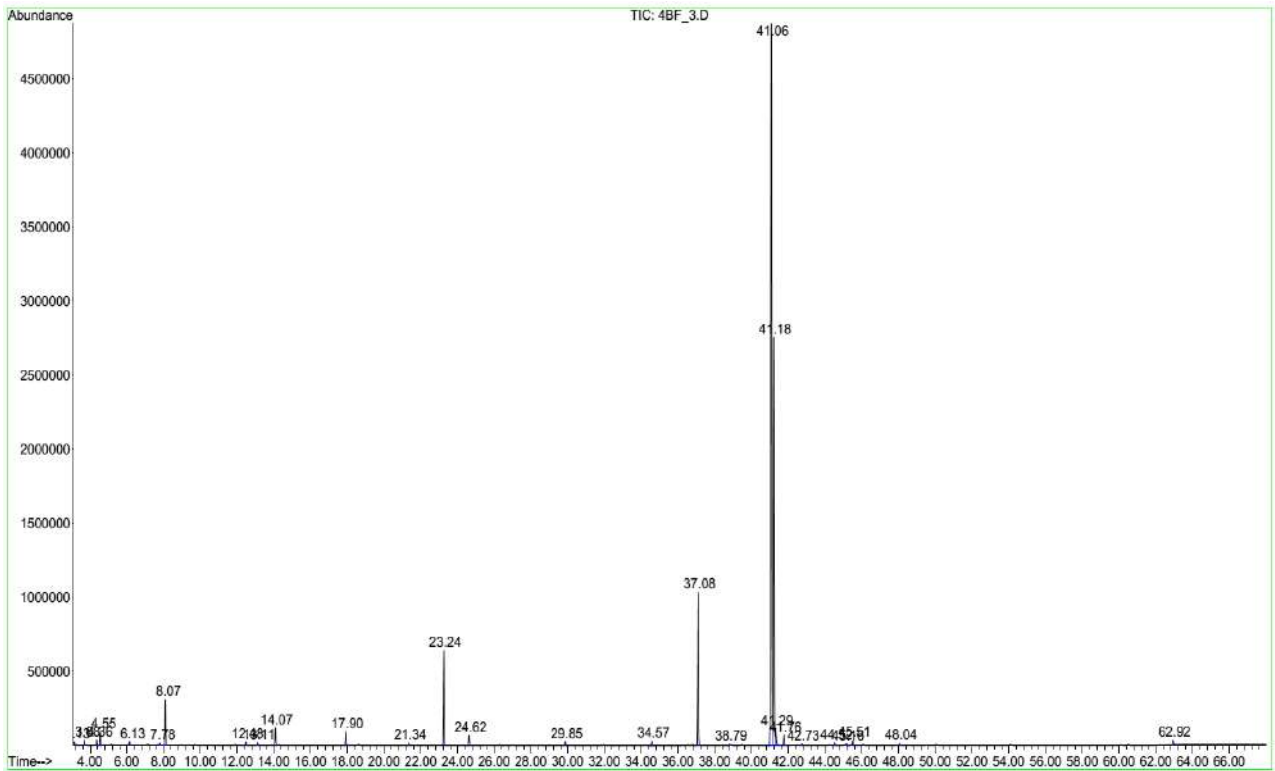


Рис. 3.3. Хроматограма ГХ-МС аналізу метилових естерів жирних кислот ломикаменевого кореневищ і коренів бедринцю

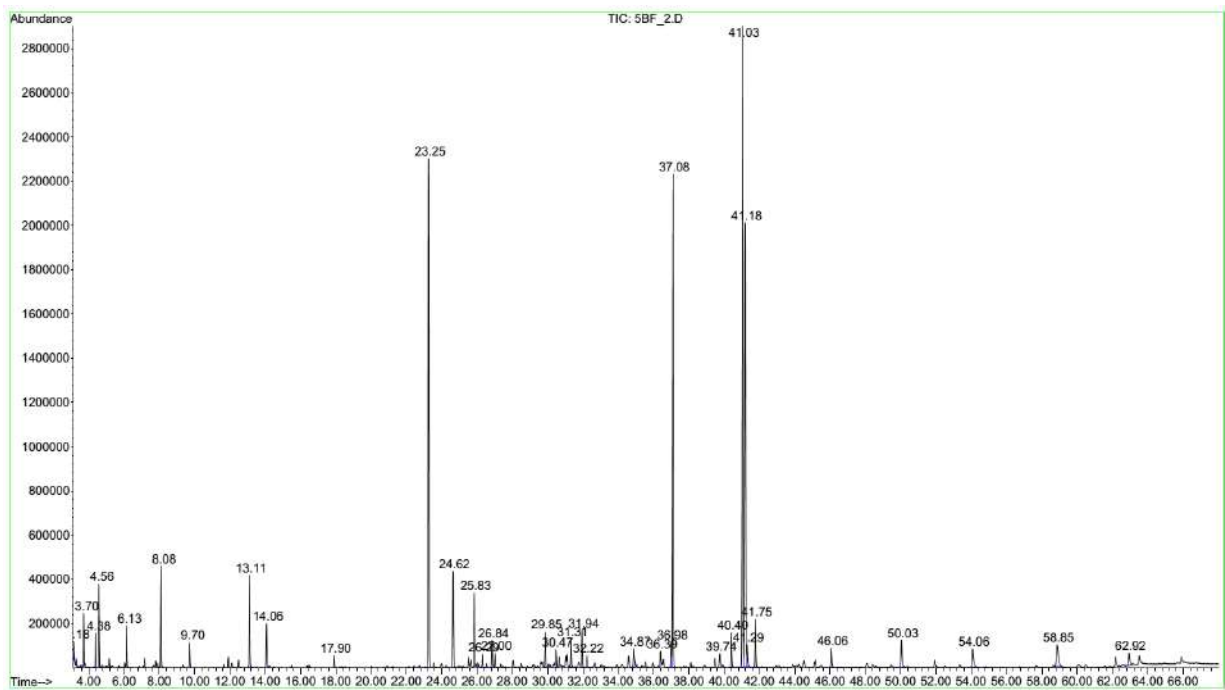


Рис. 3.4. Хроматограма ГХ-МС аналізу метилових естерів жирних кислот бедринцю ломикаменевого трави

У таблицях 3.4-3.5 представлено результати визначення вмісту ідентифікованих жирних кислот у бедринцю ломикаменевого траві та кореневищах і коренях. Аналіз проведених досліджень показав, що відсоток збігу виявлених сполук із тими, що є в бібліотеці мас-спектрів NIST 02, для бедринцю ломикаменевого траві становив 83-99 %, для кореневищ і коренів – 74-99 %.

Таблиця 3.4

**Якісний склад і кількісний вміст ідентифікованих жирних кислот
бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів**

Час утримання, хв	Назва кислоти, тривіальна (IUPAC)	Вміст, мг/кг	МС, %
6,1311	малонова	0,15	94
34,5698	пентадецилова (пентадеканова)	0,21	91
37,0793	пальмітинова (гексадеканова)	7,15	98
41,0561	лінолева (цис, цис-9,12-октадекадієнова)*	43,10	99
41,1837	олеїнова (цис-9-октадеценева)*	20,22	99
41,2954	стеаринова (октадеканова)	0,95	99
45,1606	α -ліноленова (цис, цис, цис-9,12,15-октадекатрієнова)*	0,14	74
45,5115	елаїдинова (транс-9-октадеценева)*	0,30	76
Всього		72,22	
Сума насичених жирних кислот		8,46	
Сума ненасичених жирних кислот		63,76	

Примітка. 1. МС, % – відсоток співпадіння із сполуками бібліотеки мас-спектрів NIST 02; 2. * – ненасичені жирні кислоти

**Якісний склад і кількісний вміст ідентифікованих жирних кислот
бедринцю ломикаменевого трави**

Час утримання, хв	Назва кислоти, тривіальна (IUPAC)	Вміст, мг/кг	МС, %
6,1311	малонова	0,25	94
8,077	левулінова	0,67	94
26,2865	лауринова (додеканова)	0,10	95
26,9989	азелаїнова	0,10	91
36,3881	α -ліноленова (цис, цис, цис-9,12,15- октадекатрієнова)*	0,10	91
41,28	елаїдинова (транс-9- октадеценова)*	0,24	83
37,0846	пальмітинова (гексадеканова)	4,05	98
41,0348	лінолева (цис, цис-9,12- октадекадієнова)*	5,59	99
41,1837	олеїнова (цис-9-октадеценова)*	4,43	99
46,0590	арахінова (ейкозанова)	0,16	98
50,0359	бегенова (докозанова)	0,26	99
54,0608	лігноцеринова (тетракозанова)	0,25	99
Всього		16,20	
Сума насичених жирних кислот		5,84	
Сума ненасичених жирних кислот		10,36	

Примітка. 1. МС, % – відсоток співпадіння із сполуками бібліотеки мас-спектрів NIST 02; 2. * – ненасичені кислоти жирні

У ліпофільній фракції трави бедринцю ломикаменевого ідентифіковано 12 жирних кислот: з насичених домінує пальмітинова, вміст якої становив 4,05 мг/кг; з ненасичених – лінолева – 5,59 мг/кг. У підземних органах виявлено 9 жирних кислот. З ненасичених найбільша кількість представлена лінолевою кислотою – 43,10 мг/кг, дещо менша кількість олеїнової кислоти – 20,52 мг/кг. З насичених кислот виявлено 7,15 мг/кг пальмітинової кислоти, яка, згідно з даними джерел літератури, в організмі людини необхідна для утворення власного колагену, еластину та гіалуронової кислоти [115].

Хімічний профіль жирних кислот, ідентифікованих у підземних органах і траві бедринцю ломикаменевого, відрізняється як за якісним складом, так і за кількісним вмістом жирних кислот.

У досліджуваній сировині переважають ненасичені жирні кислоти, сумарний вміст яких у траві становив 10,36 мг/кг, у підземних органах – 63,76 мг/кг (рис. 3.5).

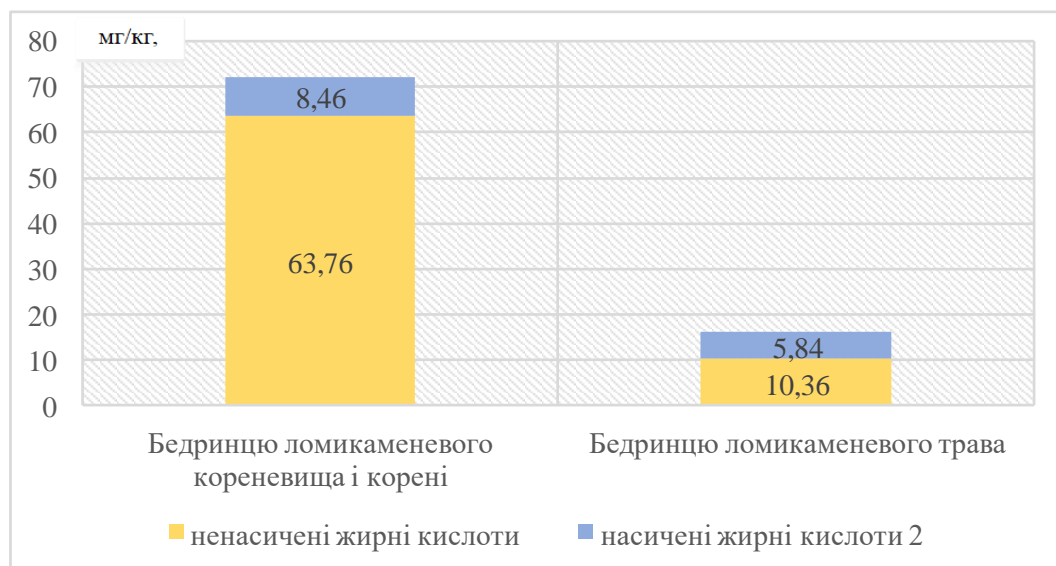


Рис. 3.5. Вміст ненасичених і насичених жирних кислот у надземних і підземних органах бедринцю ломикаменевого

За даними джерел літератури, ненасичені жирні кислоти беруть участь як структурні елементи в фосфоліпідах, ліпопротеїдах клітинних мембран; входять до складу сполучних тканин та оболонок нервових волокон; впливають

на обмін холестерину, стимулюючи його окиснення та виділення з організму, беруть участь в обміні вітамінів групи В (піридоксину та тіаміну); стимулюють захисні механізми організму (підвищують стійкість до інфекційних захворювань та дії радіації). Ненасичені жирні кислоти мають антисклеротичний та антитромботичний ефекти, є попередниками біосинтезу простагландинів, які, в свою чергу, регулюють артеріальний тиск [44, 53, 86, 181].

3.4 Дослідження ліпофільних комплексів

Ліпофільні фракції лікарської рослинної сировини містять жиророзчинні вітаміни, фенольні сполуки, жирні кислоти, хлорофіли, які виявляють різні види біологічної активності (репаративну, протизапальну, антисептичну, імуностимулюючу, протипухлинну) [23, 56, 92] в залежності від складу, кількості та структури окремих сполук. До сьогоднішнього дня вони залишаються маловивченими комплексами.

Ліпофільні фракції бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів одержували вичерпним екстрагуванням сировини хлороформом *P* в апараті Сокслета. Результати виходу ліпофільних фракцій бедринцю ломикаменевого надземних і підземних органів представлено у табл. 3.6.

Таблиця 3.6

Вихід ліпофільної фракції бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів

Назва сировини	Вихід ліпофільної фракції, %, у перерахунку на абсолютно суху сировину, n=5
Трава	7,88±0,52
Кореневища і корені	5,25±0,45

Виділена ліпофільна фракція з підземних органів бедринцю – густа масляниста однорідна маса буро-коричневого кольору з приємним специфічним запахом; не розчиняється у воді очищеній *P* та етанолі 96 % *P*, добре розчиняється у хлороформі *P*. Ліпофільна фракція трави мала зеленувато-коричневий колір, за іншими фізичними показниками не відрізнялась від ліпофільної фракції кореневищ з коренями.

3.5 Визначення амінокислот

Амінокислоти – органічні сполуки, які відіграють головну роль у житті організмів і в організмі людини в тому числі.

Ці речовини мають надзвичайно велике значення в органічному світі, з них побудовані білкові речовини клітин, які виконують транспортні, захисні, запасуючі функції в рослині [26, 134]. Амінокислоти необхідні не тільки для побудови білків, але й ряду інших БАР (вітамінів, ауксинів, флавоноїдів, алкалоїдів, стероїдних сполук, поліфенолів, пігментів) [28, 45, 156]. Із відомих сьогодні майже 300 рослинних амінокислот, 20 входять до складу структурних білків і ферментів. За даними останніх наукових досліджень, близько 30 % амінокислот від загальної концентрації органічних речовин міститься у рослинах у вільному або зв'язаному стані [3].

Амінокислоти, їх амідні та аміні мають не тільки важливе фізіологічне значення (аспарагінова кислота, аспарагін, глютамінова кислота, глютамін), а також виявляють фармакологічні властивості. У медицині їх широко застосовують для парентерального живлення, лікування захворювань травних органів, анемії, опіках, виразці шлунку, нервово-психічних і епілептичних нападах, для фармакотерапевтичної корекції порушень органів гепатобіліарної системи [3, 130, 155, 199]. Так як амінокислоти роблять істотний внесок в фармакологічну активність рослин, слід враховувати їх вміст у рослинних об'єктах [130, 156, 199].

Ідентифікацію вільних амінокислот проводили, використовуючи водну витяжку бедринцю ломикаменевого трави.

Результати досліджень показали, що при взаємодії водної витяжки досліджуваних об'єктів з розчином нінгідрину спостерігали появу синьо-фіолетового забарвлення розчину, що є свідченням того, що у сировині досліджуваного виду бедринцю наявні вільні амінокислоти.

Методом ВЕРХ визначали якісний склад та кількісний вміст вільних і зв'язаних амінокислот у досліджуваній сировині бедринцю ломикаменевого. Хроматограми досліджень представлено на рис. 3.6-3.9.

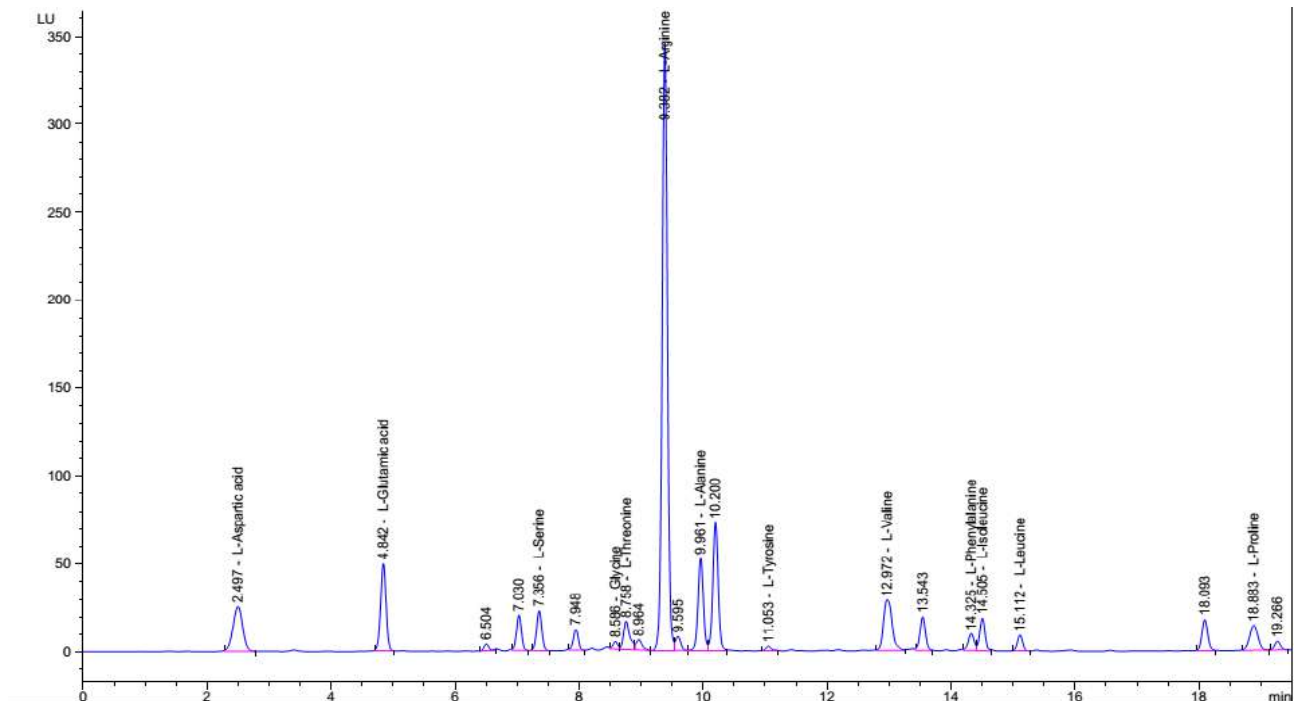


Рис. 3.6. Хроматограма (ВЕРХ) вільних амінокислот бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів

Вміст ідентифікованих амінокислот у бедринцю ломикаменевого кореневищах і коренях та у траві представлений у табл. 3.7-3.8.

Результати досліджень показали, що у підземних органах бедринцю ломикаменевого виявлено 13 вільних і 17 зв'язаних амінокислот.

У підземних органах з вільних амінокислот найбільше є аргініну (4,23 мкг/мг) і не виявлено гістидину, цистину, метіоніну і лізину. Зі зв'язаних

амінокислот у підземних органах домінують глютамінова кислота (10,20 мкг/мг) і цистин (11,96 мкг/мг), проте їх значно менше, ніж у траві бедринцю (табл. 3.7).

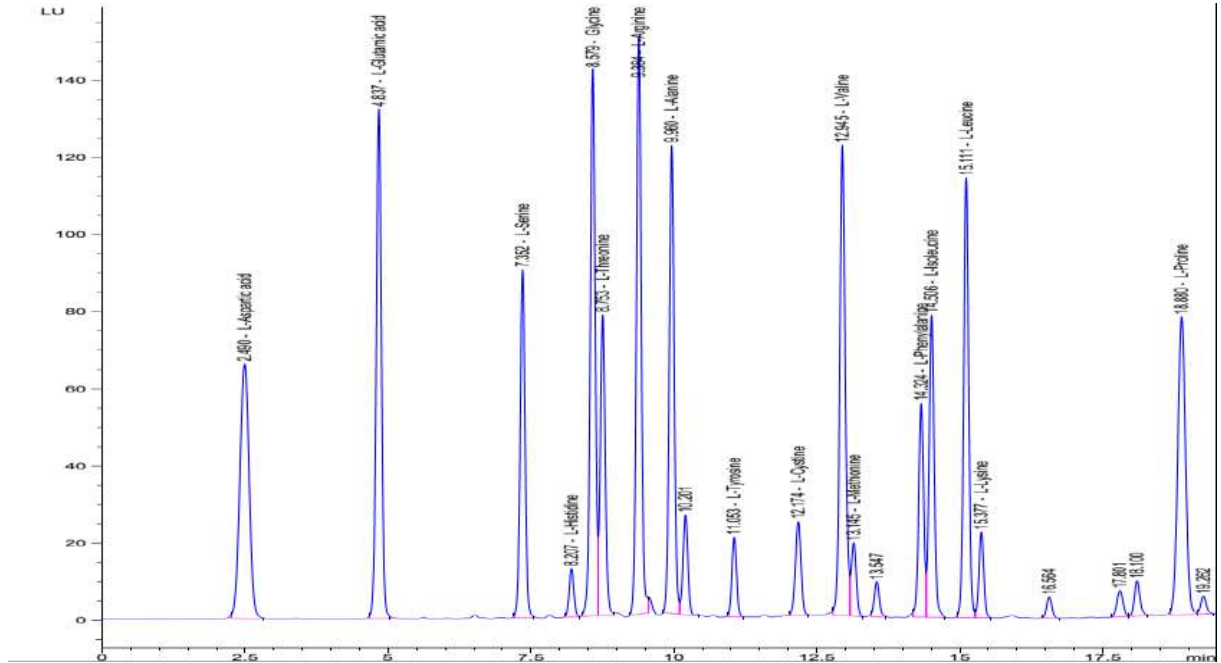


Рис. 3.7. Хроматограма (ВЕРХ) зв'язаних амінокислот бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів

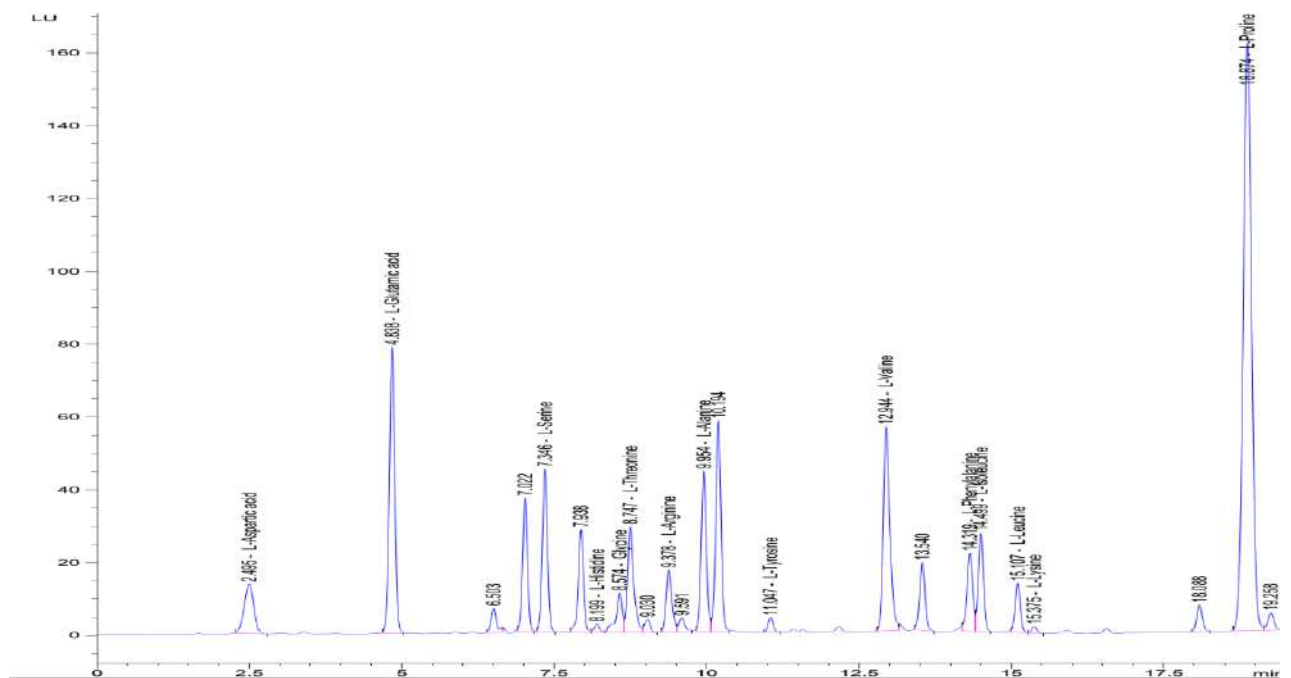


Рис. 3.8. Хроматограма (ВЕРХ) вільних амінокислот бедринцю ломикаменевого трави

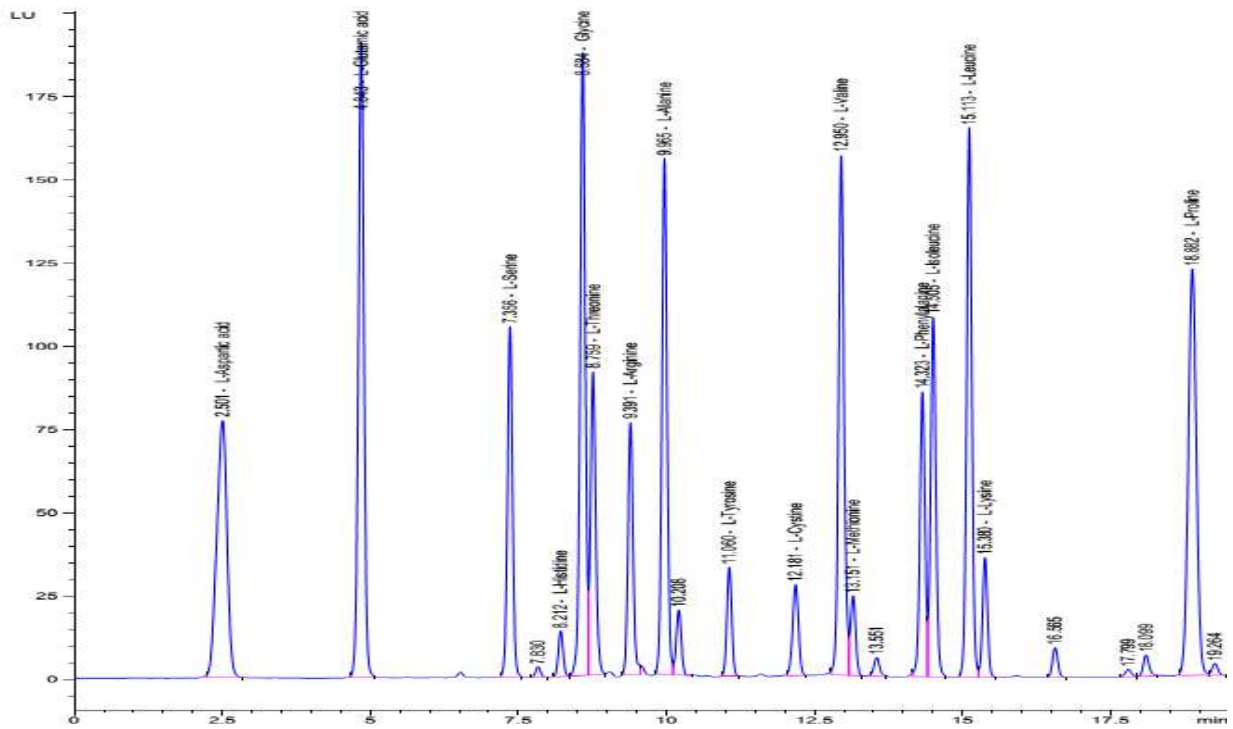


Рис. 3.9. Хроматограма (ВЕРХ) зв'язаних амінокислот бедринцю ломикаменевого трави

Таблиця 3.7

Якісний склад та кількісний вміст амінокислот бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів

Час утримування, хв	Амінокислоти	Вміст амінокислот, мкг/мг		
		сума	вільні	зв'язані
1	2	3	4	5
2,497	Аспарагінова кислота	7,35	0,54	6,81
4,842	Глутамінова кислота	11,00	0,81	10,20
7,356	Серин	3,79	0,19	3,60
8,202	Гістидин	2,02	н/в	2,02
8,586	Гліцин	4,02	0,02	4,00

1	2	3	4	5
8,758	Треонін*	3,77	0,18	3,59
9,382	Аргінін	9,23	4,23	5,00
9,961	Аланін	4,20	0,36	3,84
11,053	Тирозин	1,41	0,04	1,37
12,164	Цистин	11,96	н/в	11,96
12,972	Валін*	3,90	0,26	3,64
13,126	Метіонін*	0,98	н/в	0,98
14,325	Фенілаланін*	3,31	0,12	3,19
14,505	Ізолейцин*	3,55	0,16	3,39
15,112	Лейцин*	5,16	0,08	5,08
15,366	Лізін*	5,66	н/в	5,66
18,883	Пролін	3,63	0,13	3,50

Примітка. 1. * – незамінні амінокислоти; 2. н/в – не виявлено

У бедринцю ломикаменевого траві встановлена наявність 17 зв'язаних амінокислот та 15 вільних (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

Якісний склад та кількісний вміст амінокислот бедринцю ломикаменевого траві

Час утримування, хв	Амінокислоти	Вміст амінокислот, мкг/мг		
		сума	вільні	зв'язані
1	2	3	4	5
2,495	Аспарагінова к-та	98,34	0,30	98,04
4,842	Глутамінова к-та	175,37	1,34	174,03

1	2	3	4	5
7,356	Серин	47,34	0,39	46,95
8,202	Гістидин	23,34	0,09	23,25
8,586	Гліцин	57,06	0,08	56,98
8,758	Треонін*	48,12	0,34	47,78
9,382	Аргінін	50,72	0,25	50,47
9,961	Аланін	57,66	0,32	57,34
11,053	Тирозин	24,16	0,06	24,10
12,164	Цистин	144,05	н/в	144,05
12,972	Валін*	52,28	0,42	51,85
13,126	Метіонін*	13,37	н/в	13,37
14,325	Фенілаланін*	54,76	0,28	54,47
14,505	Ізолейцин*	52,40	0,25	52,15
15,112	Лейцин*	80,19	0,13	80,06
15,366	Лізін*	97,76	0,09	97,66
18,883	Пролін	62,15	1,60	60,54

Примітка. 1. * – незамінні амінокислоти; 2. н/в – не виявлено

З вільних амінокислот у траві бедринцю кількісно переважають пролін (1,60 мкг/мг) і глутамінова кислота (1,34 мкг/мг); не виявлено заміної амінокислоти цистину і незамінної метіоніну. Зі зв'язаних амінокислот у траві бедринцю домінують глутамінова кислота (174,03 мкг/мг) і цистин (144,05 мкг/мг).

Пролін є головним компонентом колагену; сприяє загоєнню ран, опіків, виразок; захищає стінки судин; зміцнює сухожилля, зв'язки та серцевий м'яз; поліпшує структуру шкіри; підтримує нормальний стан сполучних тканин печінки, нирок, склери ока, судин [2]. Глутамінова кислота бере участь у

білковому обміні, підтримує дихання клітин головного мозку, кислотно-лужний гомеостаз крові та тканин [63]. Вона є попередником синтезу орнітину і проліну, сприяє тимчасовому знешкодженню аміаку з утворенням нетоксичного глутаміну [128, 130].

3.6 Визначення гідроксикоричних кислот

Гідроксикоричні кислоти – важливі БАР фенольної природи, що широко розповсюджені в рослинному світі, і проявляють, за даними літератури, різні види фармакологічної активності.

p-Кумарова кислота характеризується високими антиоксидантними властивостями. Фармакологічна дія кофейної кислоти також обумовлена її високою антиоксидантною активністю. Вона проявляє гальмівну дію на процеси ПОЛ у мембранах, сприяє інгібуванню синтезу простагландинів та лейкотрієнів, які каталізуються циклооксигеназою та ліпооксигеназою [128].

Ферулова кислота також має здатність гальмувати процеси перекисного окиснення ліпідів, підсилює біоантиоксидантні процеси у серцевому м'язі, проявляє виражену стреспротекторну дію. Вона проявляє антиаритмічну, протизапальну, антиалергічну, антиагрегантну, протипухлинну, детоксикаційну, гепатопротекторну, бактерицидну та противірусну активність [39, 102, 128, 151].

Хлорогенова кислота виявляє капіляррозміцнювальну, жовчогінну, сечогінну, протизапальну, антибактеріальну, антивірусну дію; є потужним функціональним інгібітором мікросомальних глюкозо-6-фосфат транслоказ, які застосовують для хіміопрофілактики онкологічних захворювань [22, 185]. Хлорогенова кислота має здатність нормалізувати ліпідний обмін і рівень глюкози [18, 153].

З метою ідентифікації гідроксикоричних кислот використовували спиртово-водні витяжки досліджуваної сировини бедринцю ломикаменевого.

Метами ПХ з використанням 2 % розчину ацетатної кислоти у спиртово-водній витяжці з трави було ідентифіковано хлорогенову, неохлаорогенову і розмаринову кислоти, у підземних органах – хлорогенову і неохлаорогенову [77]. В УФ-світлі гідроксикоричні кислоти проявлялися у вигляді плям блакитного кольору, інтенсивність яких посилювалася під впливом парів амоніаку.

Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на абсолютно суху сировину і на хлорогенову кислоту становив у бедринцю ломикаменевого трави ($4,62 \pm 0,05$) % і ($1,52 \pm 0,03$) % у кореневищах і коренях [21].

Результати визначення індивідуальних гідроксикоричних кислот бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів методом ВЕРХ представлено на рис. 3.10-3.11 та у табл. 3.9.

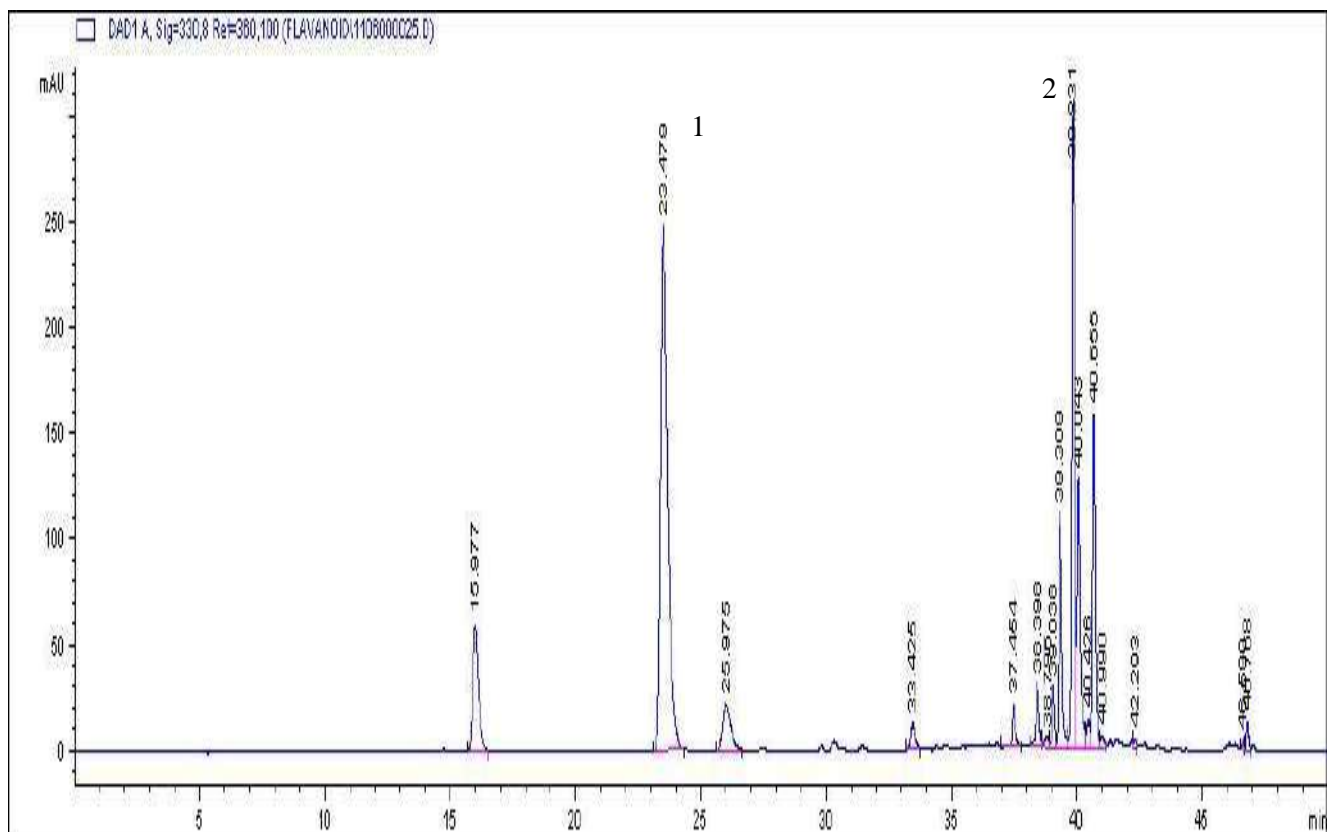


Рис. 3.10. Хроматограма (ВЕРХ) водно-спиртової витяжки бедринцю ломикаменевого при $\lambda = 330$ нм: 1 – хлорогенова кислота, 2 – розмаринова кислота

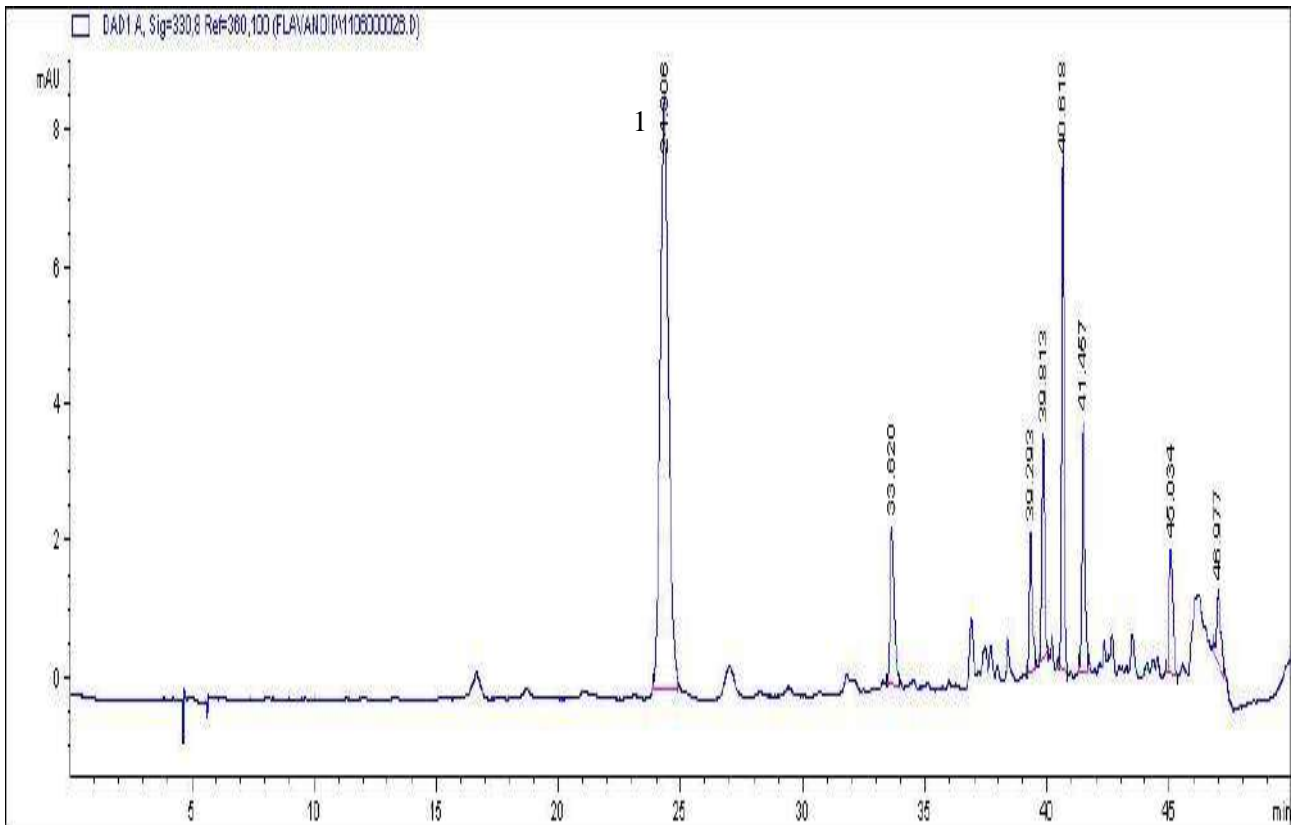


Рис. 3.11. Хроматограма (ВЕРХ) водно-спиртової витяжки підземних органів бедринцю ломикаменевого при $\lambda = 330$ нм 1 – хлорогенова кислота.

Таблиця 3.9

Результати визначення вмісту індивідуальних гідроксикоричних кислот у сировині бедринцю ломикаменевого (ВЕРХ)

БАР	УФ-спектр λ max, нм	RT, хв	Кількісний вміст, %	
			трава	кореневища і корені
Хлорогенова кислота	330	23.479	3,13	0,34
		24.306		
Розмаринова кислота	330	39.309	0,11	н/в

Примітка. н/в – не визначено

Методом ВЕРХ у бедринцю ломикаменевого траві було виявлено, ідентифіковано та встановлено кількісний вміст хлорогенової та розмаринової кислот, у підземних органах – хлорогенової. Домінуючою у траві та підземних органах бедринцю ломикаменевого є хлорогенова кислота, вміст якої становив 3,13 % і 0,34 % відповідно.

3.7 Визначення флавоноїдів

Флавоноїди – одна з найпоширеніших груп природних фенольних сполук, які мають виражену біологічну активність і широко використовуються медичній практиці [13, 111, 128]. Вони проявляють антиоксидантну дію, здатні інгібувати процес перекисного окиснення ліпідів біологічних мембран, разом з аскорбіною кислотою беруть участь у синтезі сполучної тканини, проявляють капіляррозміцнювальну, протизапальну, гепатопротекторну, діуретичну, протипухлинну, жовчогінну, противиразкову і спазмолітичну дію [4, 54, 147, 159, 187, 195, 197].

Наявність у досліджуваній сировині бедринцю ломикаменевого флавоноїдів підтверджена загальноприйнятими якісними реакціями.

Рожево-червоне забарвлення продуктів ціанідинової реакції свідчило про наявність у бедринцю ломикаменевого траві флавоноїдів. У результаті реакції спиртово-водних витяжок бедринцю із ферум (III) хлоридом з'являлося темно-зелене забарвлення. Реакції з лугом (10 % спиртово-водним розчином калій гідроксиду) і з 10 % розчином плюмбум ацетату також давали позитивний результат (розд. 2), що підтверджує наявність флавоноїдів у досліджуваній траві. У підземних органах флавоноїдів не виявлено.

У системі розчинників н-бутанол-кислота ацетатна-вода очищена Р (4:1:2) методом ТШХ встановлено якісний склад флавоноїдів у бедринцю ломикаменевого траві. Спостерігали появу плям на хроматограмах жовтого та жовто-коричневого кольору, інтенсивність яких посилювалась під дією парів амоніаку.

У результаті хроматографічного визначення у бедринцю ломикаменевого трави встановлено наявність ізокверцитрину, рутину, лютеоліну і гіперозиду.

Результати визначення індивідуальних флавоноїдів у бедринцю ломикаменевого трави методом ВЕРХ наведено на рис. 3.12 і в табл. 3.10.

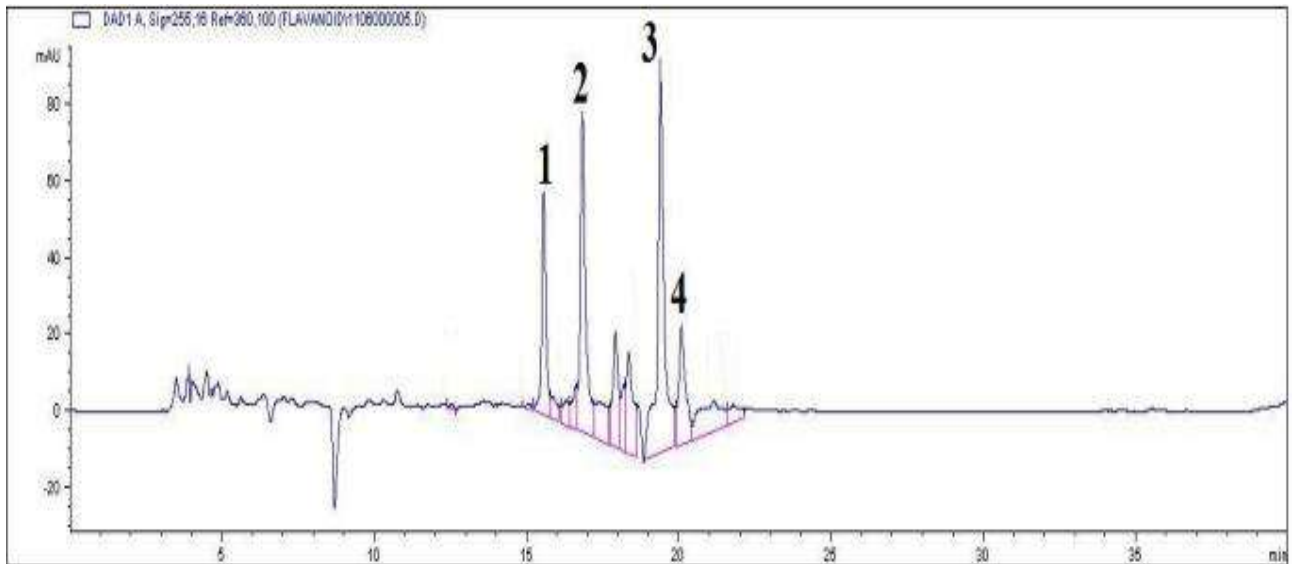


Рис. 3.12. ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів бедринцю ломикаменевого трави при $\lambda = 255$ нм: 1 – рутин; 2 – гіперозид; 3 – лютеолін; 4 – ізокверцитрин

У досліджуваній сировині найбільше виявлено рутину (0,44 %) і лютеоліну (0,28 %), найменше – ізокверцитрину (0,09 %) [186]. Наукові джерела літератури містять інформацію, що рутин (вітамін Р) має виражену капілярзміцнювальну дію. Він, як й інші флавоноїди, підвищує еластичність кровоносних судин, знешкоджує важкі метали, має протипухлинну та протирадіаційну дію, нетоксичний і не спричинює побічних ефектів. Встановлено, що рутин має здатність впливати на секреторну й антитоксичну функції печінки, покращує жовчовиділення, виявляє гепатопротекторну активність, захищаючи печінкову паренхіму від негативного впливу тетрахлорметану, вуглецю, бензолу, хлороформу, етанолу та інших токсичних сполук [46, 114].

Лютеолін вважається однією із найефективніших антиканцерогенних речовин, виявляє протипухлинну активність при онкологічних захворюваннях

прямої кишки [176, 177]. Він має також виражений протизапальний та нейропротекторний ефекти, які вивчали *in vitro* та *in vivo* [178].

Таблиця 3.10

**Результати визначення вмісту індивідуальних флавоноїдів бедринцю
ломикаменевого трави**

Назва речовини	УФ-спектр λ max, нм	Час утримання, хв	Кількісний вміст, %
Рутин	255	15,545	0,44
Лютеолін	255	19,393	0,28
Гіперозид	255	16,815	0,19
Ізокверцитрин (кверцетин-3-D- глікозид)	255	20,069	0,09

Кількісний вміст суми флавоноїдів, визначених спектрофотометричним методом у перерахунку на рутин, у бедринцю ломикаменевого трави становив $(2,19 \pm 0,05)$ %.

3.8 Визначення дубильних речовин

Найпоширенішою та вивченою групою БАР рослин, які широко використовують у медичній практиці, є дубильні речовини.

З джерел наукової літератури відомо, що дубильні речовини мають три основні напрямки біологічної дії на організм ссавців. По-перше, вони безпосередньо впливають на клітинні та судинно-тканинні мембрани, гладком'язові клітини, на ферментні білки та нуклеїнові кислоти. По-друге, вони мають вплив на обмін адреналіну, аскорбінової кислоти та ацетилхоліну. По-третє, дубильні речовини впливають на провідні системи нейрогуморальної та нейроендокринної регуляції в організмі [128].

Дубильні речовини в організмі людини чинять місцеву дію на слизову оболонку травного тракту, на моторику, секреторну та засвоювальну функції. Вони відомі вираженими протизапальними, протимікробними, кровоспинними, спазмолітичними, антиоксидантними властивостями [64, 120].

Дану групу сполук у водних витяжках із бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів виявляли за допомогою загальновідомих якісних реакцій: з розчином ферум (III) амоній сульфату з'являлося темно-синє забарвлення (наявність дубильних речовин, які гідролізуються); поява білої каламуті у результаті реакції з 1 % розчином желатини та білого аморфного осаду у результаті реакції з 1 % розчином хініну гідрохлориду свідчила про наявність дубильних речовин.

Дані про кількісний вміст дубильних речовин у досліджуваній сировині наведено у табл. 3.11.

Таблиця 3.11

**Резьтати визначення кількісного вмісту дубильних речовин у сировині
бедринцю ломикаменевого**

Сировина	Вміст дубильних речовин, %	
	таніни	поліфеноли
Трава	2,04±0,05	4,85±0,01
Кореневища і корені	1,86±0,02	3,72±0,21

За результатом ВЕРХ-аналізу у досліджуваній сировині бедринцю ломикаменевого ідентифіковано вільні галову та елагову кислоти. Їх вміст у траві рослини становив – 0,07 % галової кислоти та 0,03 % елагової у траві та по 0,03 % обох кислот у підземних органах [96].

Компонентний склад дубильних речовин у бедринцю ломикаменевого траві та кореневищах і коренях, визначений методом ВЕРХ, наведено на рис. 3.13-3.14.

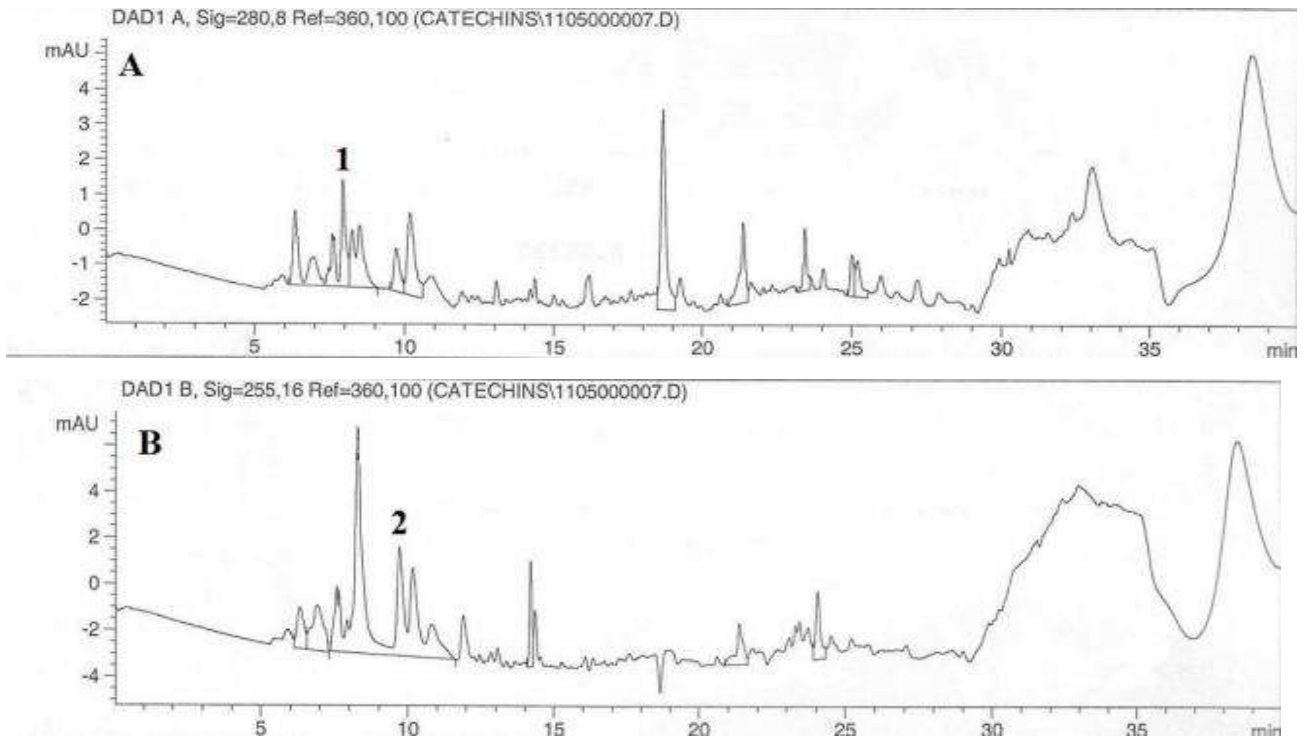


Рис. 3.13. ВЕРХ-хроматограма дубильних речовин бедринцю ломикаменевого трави при А) $\lambda = 280$ нм: 1 – галова кислота; В) $\lambda = 255$ нм: 2 – елагова кислота

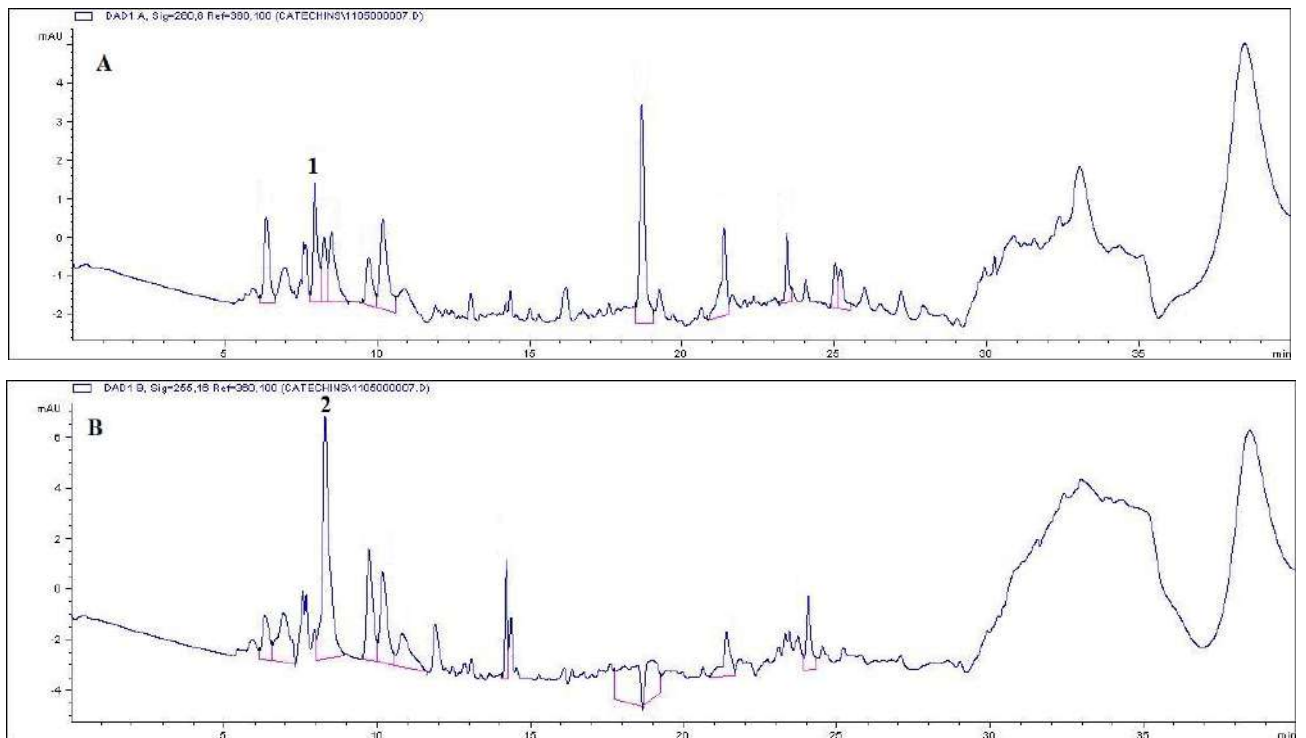


Рис. 3.14. ВЕРХ-хроматограма дубильних речовин бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів при А) $\lambda = 280$ нм: 1 – галова кислота; В) $\lambda = 255$ нм: 2 – елагова кислота

3.9 Визначення кумаринів

Природні кумарини широко поширені в рослинному світі, особливо серед представників родини *Ariaceae*, *Fabaceae*. Кумарини також виявлено в продуктах життєдіяльності мікроорганізмів [83].

У даний час число виділених природних кумаринів становить більше 200 сполук. Доведено, що структурні фрагменти кумаринів входять до складу молекул антибіотиків, фітонцидів і поліфенольних сполук [66, 129]. На сьогоднішній день досліджено біологічну активність деяких індивідуальних сполук похідних кумарину, виділених з рослин роду *Ariaceae*. Відомо, що фотосенсибілізуючу активність проявляють такі фурукумарини як псорален, бергаптен, ізопімпінелін. Прості кумарини умбеліферон і дикумарин виявляють антимікробну та антикоагулюючу активності, відповідно [52, 62].

Позитивна лактонна проба та реакція з лугом та діазореактивом (розчин забарвлюється у світло-вишневий колір) свідчили про наявність кумаринів у досліджуваних спиртових витяжках із сировини бедринцю ломикаменевого.

Методом ВЕРХ у бедринцю ломикаменевого траві було ідентифіковано та встановлено кількісний вміст скополетину та псоралену, у підземних органах – скополетину, псоралену та бергаптену. ВЕРХ-хроматограми кумаринів траві та кореневищ і коренів досліджуваного об'єкту наведено на рис. 3.15-3.16. Результати визначення компонентного складу кумаринів бедринцю ломикаменевого наведено у табл. 3.12.

Методом ВЕРХ у траві бедринцю ломикаменевому виявлено, ідентифіковано та встановлено кількісний вміст скополетину (0,001 %) та псоралену (0,0002 %); у кореневищах і коренях – скополетину (0,009 %), псоралену (0,007 %) та бергаптену (0,008 %) [98, 99].

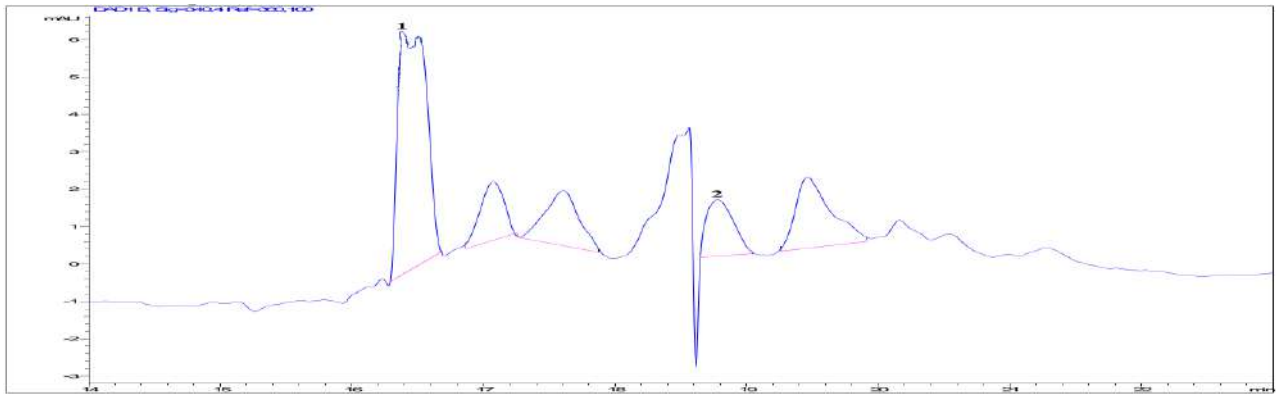


Рис. 3.15. ВЕРХ-хроматограма кумаринів у траві *Pimpinella saxifraga* L., при $\lambda = 340$ нм: 1 – скополетин, 2 – псорален

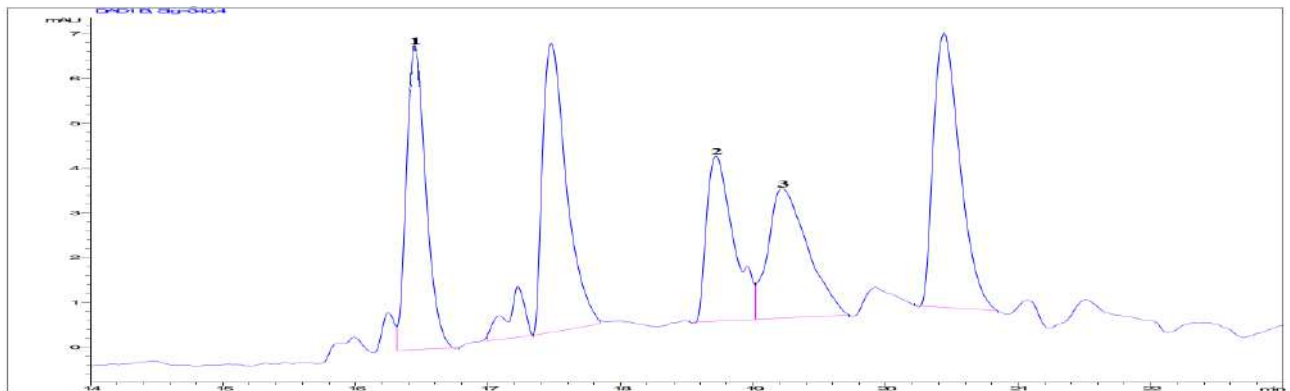


Рис. 3.16. ВЕРХ-хроматограма кумаринів у підземних органах *Pimpinella saxifraga* L., при $\lambda = 340$ нм: 1 – скополетин, 2 – псорален, 3 – бергаптен

Таблиця 3.12

**Кількісний вміст індивідуальних кумаринів у бедринця ломикаменевого
траві та кореневищах і коренях**

БАР	УФ-спектр λ тах, нм	Час утримування, хв	Кількісний вміст у траві, %	Кількісний вміст у кореневищах і коренях, %
скополетин	340	16,45	0,001	0,009
псорален	340	18,72	0,0002	0,007
бергаптен	340	19,22	н/в	0,008

Примітка. н/в – не виявлено

Визначення суми похідних кумаринів у бедринцю ломикаменевого траві та кореневищах і коренях проводили спектрофотометричним методом за довжини хвилі 290 нм, у перерахунку на псорален.

Результати кількісного вмісту у досліджуваних об'єктах наведено у табл. 3.13.

Таблиця 3.13

Кількісний вміст суми кумаринів у сировині *Pimpinella saxifraga* L.

Сировина	Кількісний вміст, % в перерахунку на абсолютно суху сировину (m=5)
Трава	1,81±0,002
Кореневища і корені	3,64±0,01

Примітка. Вірогідність похибки $P < 0,05$

Результати досліджень показали, що у кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого кількісний вміст суми похідних кумаринів був майже у 2 рази більшим, ніж у траві досліджуваного об'єкту [98].

3.10 Визначення летких сполук

Ефірні олії у медичній практиці застосовуються дуже широко. Вони позитивно впливають як на фізичний стан організму, так і на психічну рівновагу людини; є природними антиоксидантами, здатні сповільнювати процес старіння організму. Ефірні олії використовують з лікувальною метою при неврозах, безсонні, бронхітах і ряді інших захворювань. Відомо також, що ефірні олії мають бактерицидну, антисептичну, протизапальну, адаптогенну, антидепресивну, дезінфікуючу, ранозагоювальну та інші фармакологічні властивості [20, 112, 149, 154].

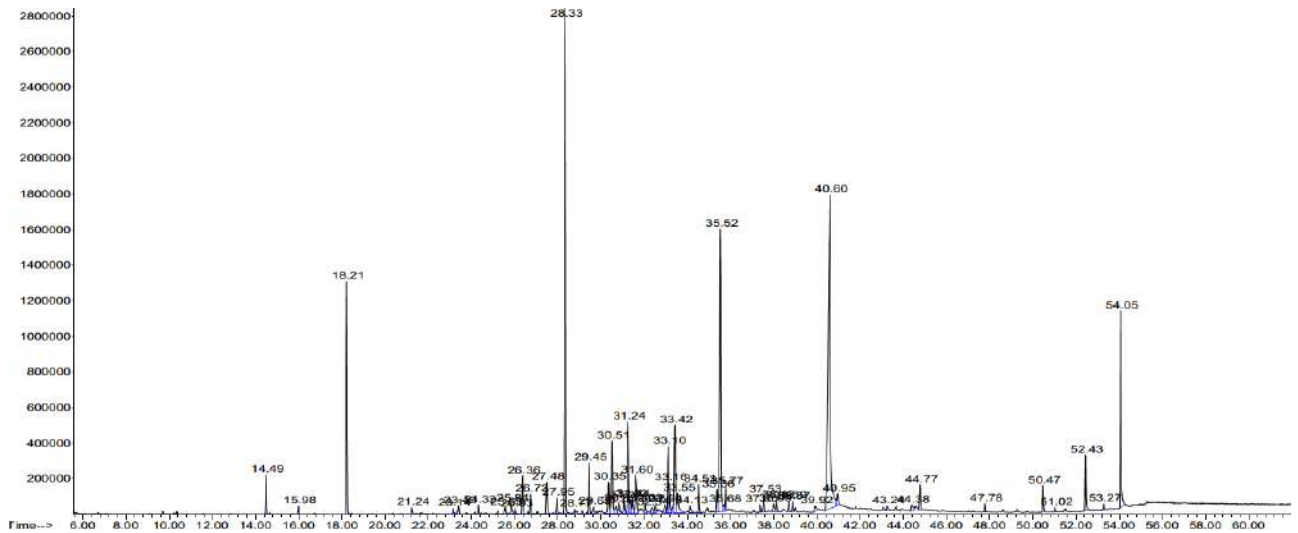


Рис. 3.17. ГХ-хроматограма летких сполук бедрицю ломикаменевого трави

Методом ГХ/МС встановлено компонентний склад летких сполук у бедрицю ломикаменевого траві та кореневищах і коренях. Результати дослідження летких сполук у досліджуваній сировині представлено на рис. 3.17-3.18 і в табл. 3.14-3.15.

Таблиця 3.14

Вміст летких сполук у бедрицю ломикаменевого траві

Час утримання, хв	Назва компонента леткої сполуки	МС, %
1	2	3
14,48	ундекан	94
18,20	4-(2-бутеніл)-1,2-диметил бензен	90
23,40	1-метилпента-1,3-диеніл бензен	87
25,55	β-каріофілен	89
26,02	1,6-диметилнафтален	97
26,36	1,1,3-триметил-1H-інден	90

1	2	3
26,73	β -фарнезен	94
27,48	гермакрен-D	99
27,95	біциклогермакрен	93
28,33	β -бісаболен	99
29,45	1,3-диметилнафтален	95
30,35	декагідро-1,1,7-триметил-4-метилен-1H-циклопроп[е]азулен-7-ол	99
30,51	каріофілен оксид	93
31,24	α -бергамотол	90
32,94	2-алілфенол	80
33,10	2-(2-піридил) циклогексанол	90
37,53	6,10,14-триметил-2-пентадеканон	91
37,99	пентадеканова кислота	93
38,87	[4-метокси-2-(3-метилоксиран-2-іл) феніл] 2-метилбутаноат	89
40,59	<i>n</i> -гексадеканова кислота	99
44,38	ейкозен-3	86
47,78	пентадекан	95
50,47	хенейкозан	91
51,02	біс (2-етилгексил) фталат	80
52,43	гептакозан	99
54,05	нонакозан	99

Примітка. МС, % – відсоток співпадіння зі сполуками бібліотеки мас-спектрів NIST 02

Встановлено, що співпадіння виявлених сполук у досліджуваній сировині бедринцю ломикаменевого (у відсотках) із тими, які є в бібліотеці мас-спектрів NIST 02, становив 80-99 %.

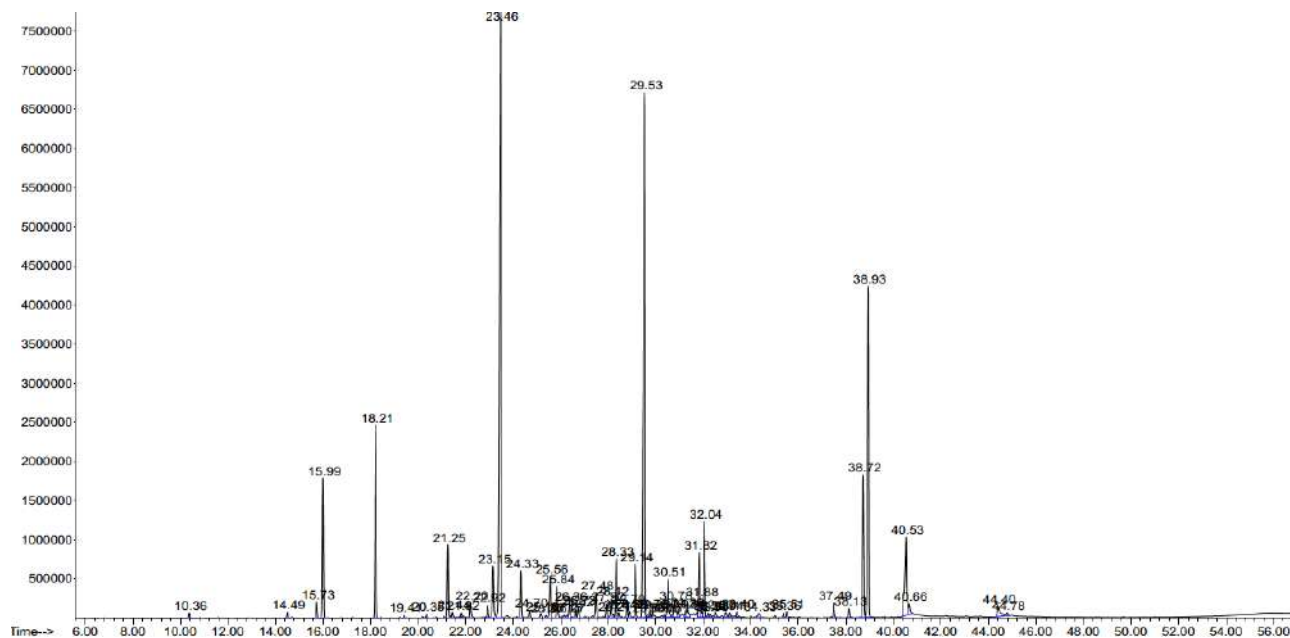


Рис. 3.18. Хроматограма летких сполук бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів

У результаті проведених досліджень у бедринцю ломикаменевого трави виявлено 59 компонентів летких сполук, з яких 26 ідентифіковано (табл. 3.14). Основними компонентами є гермакрен-D, β -бісаболен, гептакозан, нонакозан (відсоток співпадання 99 %).

У траві досліджуваного об'єкту виявлено сесквітерпеновий спирт – α -бергамотол (відсоток співпадання 90 %), який може бути маркерною сполукою легкої фракції трави бедринцю ломикаменевого.

У кореневищах і коренях *Pimpinella saxifraga* L. виявлено 65 компонентів летких сполук, з них ідентифіковано 27 (табл. 3.15). Основними сполуками є каріофілен, *n*-гексадеканова кислота та 9,12-октадекадієнова кислота (відсоток співпадання 99 %); гермакрен-D та β -гурьюнен (відсоток співпадання 98 %) [97].

**Вміст летких сполук у бедринцю ломикаменевого кореневищах і
коренях**

Час утримання, хв	Назва компонента леткої сполуки	МС, %
1	2	3
10,37	2-пентил-фуран	91
14,49	ундекан	97
15,99	1-метил-5,6-дивініл-1-циклогексен	87
18,22	2,3 диметил-4-феніл-2-бутен	89
19,41	метилтимол	90
21,44	транс 2,4-декадієналь	90
21,82	4-(2-бутеніл)-1,2-диметил бензен	93
23,15	1-метилпента-2,4-диеніл бензен	90
23,46	1-метилпента-1,3-диеніл бензен	93
24,69	2,4-диізопропіл-1-метил-1-вініл циклогексан	91
25,16	3,4-диметил циннолін	90
25,37	1-етеніл-3-метилен-5-(1-пропеніліден)- циклогексан	90
25,56	каріофілен	99
26,36	1,1,3-триметил-1Н-інден	91
26,62	α -каріофілен	96
26,73	β -фарнезен	93
27,48	гермакрен-D	98
27,92	α -зингіберен	94
28,33	β -бісаболен	94
28,79	β -сесквіфеландрен	93

1	2	3
29,53	1,3-диметилнафтален	95
30,93	β -гурьюнен	98
31,82	алло-аромадендрен	89
33,11	2-(2-піридил) циклогексанол	92
34,33	7-метил-4-(1-метилетиліден) біцикло [5.3.1] ундец-1-ен-8-ол	86
42,53	<i>n</i> -гексадеканова кислота	99
44,39	9,12-октадекадієнова кислота	99

Примітка. МС, % – відсоток співпадіння із сполуками бібліотеки мас-спектрів NIST 02

При порівнянні компонентного складу летких сполук трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого слід відмітити, що спільними компонентами підземних і надземних органів рослини є β -фарнезен, гермакрен-D, β -бісаболен, 1,3-диметилнафтален та *n*-гексадеканова кислота.

3.11 Визначення сапонінів

Сапоніни – вторинні метаболіти вищих рослин, що мають широкий діапазон біологічної активності, і є натуральними поверхневоактивними речовинами, що знайшло застосування у харчовій, косметичній і фармацевтичній промисловості.

Слід зазначити, що хоча окремі рослини, які містять сапоніни, вже сьогодні використовуються у фармацевтичній промисловості як вихідна рослинна сировина для синтезу лікарських засобів (стероїдні гормони, адаптогени тощо), до цього часу залишаються недостатньо з'ясованими

біохімічні властивості сапонінів, механізми їх біологічної активності, роль цих сполук у життєвому циклі рослин [43].

Сировина, яка містить сапоніни, застосовується у медичній практиці як стимулюючий, тонізуючий, седативний, протизапальний, відхаркувальний, діуретичний, проносний засіб, а також засіб, який регулює мінеральний обмін в організмі людини [94]. З джерел наукової літератури відомо, що сапоніни також проявляють адаптогенну, антисклеротичну і гіпоглікемічну активність [11].

За допомогою якісних реакцій (розділ 2, підрозділ 2.4.6) було встановлено наявність сапонінів у сировині бедринцю ломикаменевого.

Результати досліджень показали, що бедринець ломикаменевої містить незначну кількість сапонінів. У траві міститься $(0,99 \pm 0,02)$ % сапонінів у перерахунку на есцин; у кореневищах і коренях – $(1,89 \pm 0,12)$ %.

3.12 Вивчення елементного складу

Мінеральні речовини відіграють величезну фізіологічну роль в організмі людини і тварин. Вони необхідні для забезпечення процесів дихання, росту, обміну речовин, утворення крові, кровообігу, діяльності центральної нервової системи, впливають на ферментативні процеси (входять до складу або активують до трьохсот ферментів) [104]. Макро- і мікроелементи є складовою частиною клітин і тканин та обумовлюють їх структуру. Макроелементи кальцій, фосфор, калій, натрій та магній життєво необхідні для підтримки гомеостазу внутрішнього середовища. Мікроелементи беруть участь у синтезі нуклеїнових кислот, забезпечують взаємозв'язок між продукцією протеїнів і передачею генетичної інформації. Відомо, що рослини мають здатність накопичувати макро- та мікроелементи, тому їх можна рекомендувати з метою профілактики та для лікування багатьох захворювань [15, 47, 65, 104, 139, 142].

Методом ААС було встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст мінеральних елементів у бедринцю ломикаменевого траві та кореневищ і коренів. Результати дослідження наведено у таблиці 3.16 [69].

Таблиця 3.16

Елементний склад бедринцю ломикаменевого траві та кореневищ і коренів (мг/кг)

Елемент	Сировина, мг/кг	
	Трава	Кореневища і корені
Кальцій	8788	1539
Калій	12929	8095
Натрій	472	1019
Магній	2930	1125
Ферум	151	181
Фосфор	1845	804
Селен	0,87	1,41
Цинк	13,6	6,9
Купрум	10,1	1,5
Хром	0,33	0,55
Нікол	0,34	0,51
Манган	28,5	14,9
Кадмій	0,04	0,04
Плюмбум	0,42	0,60
Кобальт	0,28	0,35

Примітка. н/в – не визначено

Мінеральні речовини, які вибірково накопичують рослини, можуть впливати на їх фармакологічну дію: підвищувати або знижувати всмоктуваність, резорбтивні властивості, бути синергістами або антагоністами, а також зменшувати чи посилювати токсичну дію [152].

У бедринцю ломикаменевого траві та кореневищах і коренях виявлено по 15 елементів – по 5 макро- (K, Ca, Mg, Na, P) та по 10 мікроелементів (Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Se, Cr, Co, Pb, Cd). Домінуючими є такі макроелементи: калій (12929 мг/кг і 8095 мг/кг повітряно-сухої сировини), кальцій (8788 мг/кг і 1539 мг/кг) і магній (2930 мг/кг і 1125 мг/кг) відповідно у траві та кореневищах і коренях.

Серед мікроелементів у досліджуваних об'єктах домінує ферум – 151 мг/кг і 181 мг/кг відповідно. Трава містила 0,87 мг/кг селену, кореневища і корені – 1,41 мг/кг. Відомо, що даний мікроелемент є в сітківці ока та має вплив на зір. Також селен необхідний для функції потових залоз, нормального протікання вагітності, підвищення імунітету [69, 196].

Кількісний вміст важких металів у бедринцю ломикаменевого траві та кореневищах і коренях відповідає вимогам ДФУ [83].

ВИСНОВКИ

1. У бедринцю ломикаменевого траві та кореневищах і коренях при використанні фітохімічних методів аналізу встановлено наявність флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, кумаринів, танінів, вуглеводів, амінокислот, органічних і жирних кислот, сапонінів, які забезпечують їх фармакологічну активність.

2. Досліджено полісахаридні комплекси бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів, виділено фракції водорозчинних полісахаридів та пектинових речовин, кількісний вміст яких становив $(6,95 \pm 0,25)$ %, $(11,25 \pm 0,15)$ % і $(11,89 \pm 0,11)$ %, $(4,41 \pm 0,31)$ % відповідно. Методом ГХ/МС визначено якісний склад і кількісний вміст моноцукрів та сахарози. У

кореневищах і коренях бедринцю виявлено 5 цукрів, ідентифіковано 2; у траві виявлено 13 цукрів, ідентифіковано 3. В обох зразках рослинної сировини ідентифіковано глюкозу і сахарозу.

3. Визначено кількісний вміст суми органічних кислот, який у бедринцю ломикаменевого траві та кореневищах і коренях становив $(0,37 \pm 0,02)$ % і $(0,44 \pm 0,04)$ % відповідно. З жирних кислот у бедринцю ломикаменевого траві та кореневищах і коренях вміст ненасичених переважав над насиченими. У ліпофільній фракції бедринцю ломикаменевого трави ідентифіковано 12 жирних кислот: з насичених домінувала пальмітинова – 4,05 мг/кг; з ненасичених – ліолева – 5,59 мг/кг. У підземних органах виявлено 8 жирних кислот: з насичених кислот домінувала пальмітинова кислота – 7,15 мг/кг; з ненасичених – ліолева кислота – 43,10 мг/кг. Одержано ліпофільну фракцію бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів, вихід якої становив $(7,88 \pm 0,52)$ % та $(5,25 \pm 0,45)$ % відповідно.

4. Встановлено амінокислотний склад бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів. У підземних органах бедринцю ломикаменевого визначено 13 вільних і 17 зв'язаних амінокислот, у траві – 17 зв'язаних амінокислот та 15 вільних. У підземних органах з вільних амінокислот домінувала аргінін (4,23 мкг/мг), зі зв'язаних – глютамінова кислота (10,20 мкг/мг) і цистин (11,96 мкг/мг); у траві – з вільних амінокислот кількісно переважали пролін (1,60 мкг/мг) і глютамінова кислота (1,34 мкг/мг); зі зв'язаних – глютамінова кислота (174,03 мкг/мг) і цистин (144,05 мкг/мг).

5. Визначено у бедринцю ломикаменевого траві та кореневищах і коренях кількісний вміст сполук фенольної природи: суми кислот гідроксикоричних, суми кумаринів, суми танінів, поліфенолів і суми флавоноїдів, який становив у траві $(4,62 \pm 0,05)$ %, $(1,81 \pm 0,01)$ %, $(2,04 \pm 0,05)$ %, $(4,85 \pm 0,01)$ % і $(2,19 \pm 0,05)$ %; у підземних органах – $(1,52 \pm 0,03)$ %, $(3,64 \pm 0,01)$ %, $(1,86 \pm 0,02)$ % і $(3,72 \pm 0,21)$ % відповідно. Методом ВЕРХ у бедринцю ломикаменевого траві було виявлено, ідентифіковано та встановлено кількісний вміст хлорогенової і розмаринової кислот, у підземних органах – хлорогенової; у траві з флавоноїдів

ідентифіковано рутин, лютеолін, гіперозид, ізокверцитрин; з кумаринів – скополетин і псорален у траві, скополетин, псорален і бергаптен у підземних органах. З дубильних речовин у сировині бедринцю ломикаменевого виявлено вільні галову та елагову кислоти.

6. Методом хромато-мас-спектрометрії встановлено якісний склад летких сполук сировини бедринцю ломикаменевого. У траві виявлено 59 компонентів летких сполук, з яких 26 ідентифіковано. Основними компонентами є гермакрен-D, β -бісаболен, гептакозан, нонакозан (відсоток співпадання 99 %). У кореневищах і коренях виявлено 65 компонентів летких сполук, з них ідентифіковано 27. Основними сполуками є каріофілен, *n*-гексадеканова кислота та 9,12-октадекадієнова кислота (відсоток співпадання 99 %); гермакрен-D та β -гурьюнен (відсоток співпадання 98 %).

7. Встановлено наявність сапонінів тритерпенової природи та визначено спектрофотометричним методом їх кількісний вміст, який становив у траві бедринцю ломикаменевого $(0,99 \pm 0,02)$ % у перерахунку на есцин; у кореневищах і коренях – $(1,89 \pm 0,12)$ %.

8. У бедринцю ломикаменевого траві та кореневищах і коренях виявлено по 15 елементів – по 5 макро- (K, Ca, Mg, Na, P) та по 10 мікроелементів (Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Se, Cr, Co, Pb, Cd). Домінуючими є калій (12929 мг/кг і 8095 мг/кг), кальцій (8788 мг/кг і 1539 мг/кг) і магній (2930 мг/кг і 1125 мг/кг) відповідно у траві та кореневищах і коренях.

За матеріалами розділу опубліковано роботи [21, 69, 77, 78, 96, 97, 97, 99].

РОЗДІЛ 4

МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНИЙ АНАЛІЗ БЕДРИНЦЮ ЛОМИКАМЕНЕВОГО
(*PIMPINELLA SAXIFRAGA* L.) ТА ВИЗНАЧЕННЯ ЧИСЛОВИХ ПОКАЗНИКІВ
СИРОВИНИ

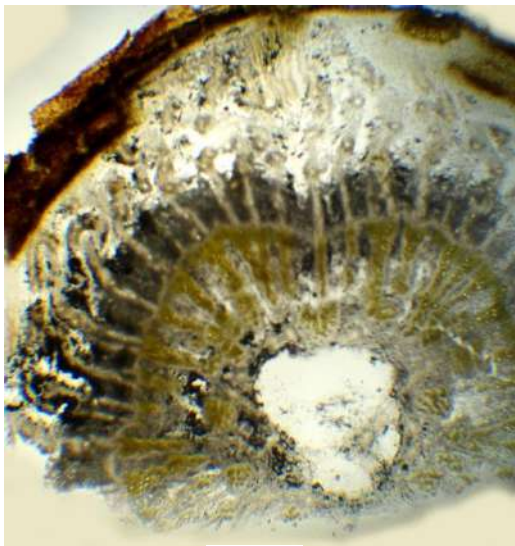
4.1 Морфолого-анатомічне вивчення підземних органів бедринцю ломикаменевого

Макроскопічні ознаки бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів. Веретеноподібні, поздовжньо-зморшкуваті кореневища до 5 см завдовжки, товщиною від 2 до 5 мм. Корені циліндричної форми, 5-20 см завдовжки, до 1 мм у діаметрі. Зовні сірувато-бурого кольору, злам нерівний, жовтувато-білого кольору з жовто-бурими крапками. Запах сильний, ароматний, подразнюючий. Смак гострий, солодкувато-гіркий (рис. 4.1).

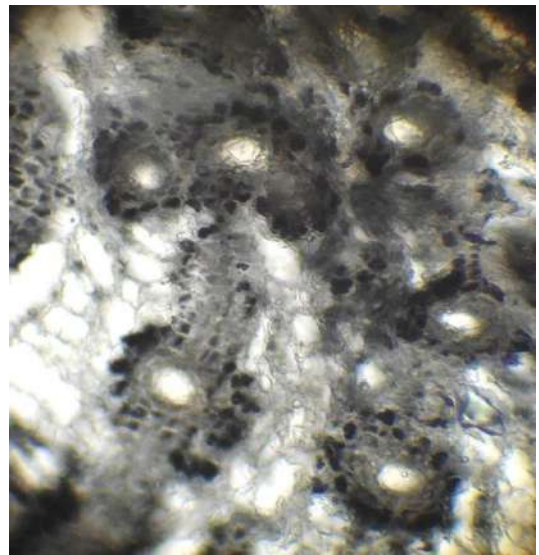


Рис. 4.1. Підземні органи бедринцю ломикаменевого

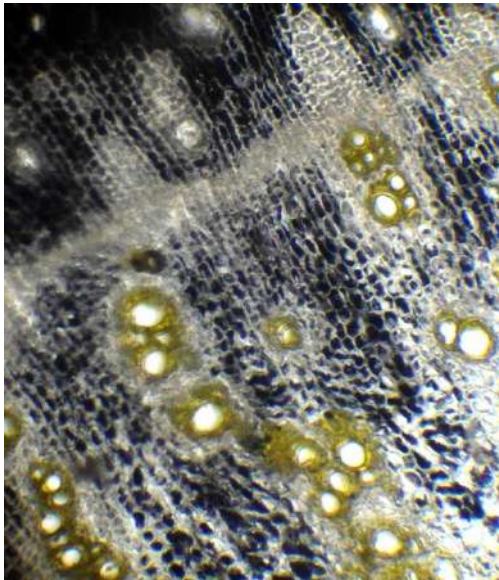
Мікроскопічні ознаки бедринцю ломикаменевого кореневищ. Кореневище вкрите товстим шаром перидерми (рис. 4.2.1). Корова паренхіма добре розвинена, складається з великих паренхімних клітин, що підстеляють покривну тканину і нижче розташовані дрібні клітини – елементи флоєми. Шар флоєми добре виражений, при додаванні розчину Люголя флоємна паренхіма забарвлюється у темно-синій колір, що доводить накопичення крохмалю (рис. 4.2.2). Флоєма розділяється рівномірно широкими серцевинними променями.



1



2



3

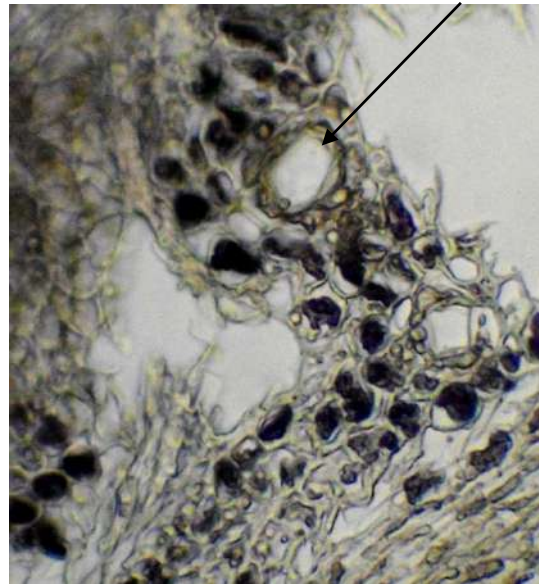


Рис. 4.2. Кореневище бедринцю: 1 – загальний вид, 2 – запасуюча кора паренхіма зі схизогенними вмістищами, 3 – фрагмент центрального циліндру

У верхній частині корової паренхіми містяться видовжені повітряні порожнини. У коровій паренхімі зустрічаються чисельні невеликі схизогенні вмістища округлої форми (рис. 4.2.2), паренхімні клітини, що оточують їх, містять крохмаль. Центральний циліндр чітко відокремлений шаром камбію (рис. 4.2.3). Судини розташовуються видовженими ланцюжками. Деревинна паренхіма накопичує крохмаль. У центрі кореневища чітко виражена порожнина.

4.2 Морфолого-анатомічне вивчення бедринцю ломикаменевого трави

Макроскопічні ознаки бедринцю ломикаменевого трави

Стебла тонкорестисті, розгалужені, короткоопушені. Листки перисті, довгочерешкові, край зубчастопилчастий. Квітки дрібні, п'ятипелюсткові, зібрані в складні зонтичні суцвіття. Плоди – дрібні яйцеподібні двосім'янки. Листкова пластинка зверху зелена, знизу – світло-зелена, квітки білі. Запах слабкий, приємний. Смак пряний, гіркуватий.

Мікроскопічний аналіз бедринцю ломикаменевого трави

Стебло. Стебло на поперечному розрізі округле, багаторестисте у верхній (рис. 4.3.1) та середній частині, з округлими широкими 8 ребрами, у нижній частині рестистість майже невиражена (рис. 4.3.3). Епідерма стебла дрібноклітинна, оболонки клітин прямостінні, слабо потовщені (рис. 4.3.1-4.3.2). Продихи овальні, великі, нечасті. Продиховий апарат аномоцитного та анізоцитного типів (рис. 4.3.2 а, б). Епідерма опушена нерівномірно. У верхній частині стебла опушені значно менше, ніж у середній і нижній. Трихоми розташовуються поодинокі між ребрами і групами по ребрах (рис. 4.3.1-4.3.3., а-в).

Криючі трихоми, що вкривають стебло бедринця довгі, зігнуті, багатоклітинні з невеликою базальною клітиною і видовженими основними клітинами (рис. 4.4. а), конічні 2-клітинні короткі (рис. 4.4. б), довгі 3-клітинні прямостоячі з видовженою апікальною клітиною (рис. 4.4. в).

Анатомічна будова стебла у нижній, середній та верхній частинах стебла перехідного типу (рис. 4.4.1, 4.4.3). У верхній частині епідерму підстеляє добре виражений шар кутової коленхіми (рис. 4.4.2, а). Між ділянками коленхіми розташовується 3-4-шарова хлоренхіми (рис. 4.4.2, б).

Нижче розташована 1-2-шарова коропа паренхіма, клітини якої великі тонкостінні. Внутрішній шар коропа паренхіми – ендодерма виражена. У коропа паренхімі навпроти ребер розташовані схізогенні вмістища округлої форми (рис. 4.2-4.3, в).

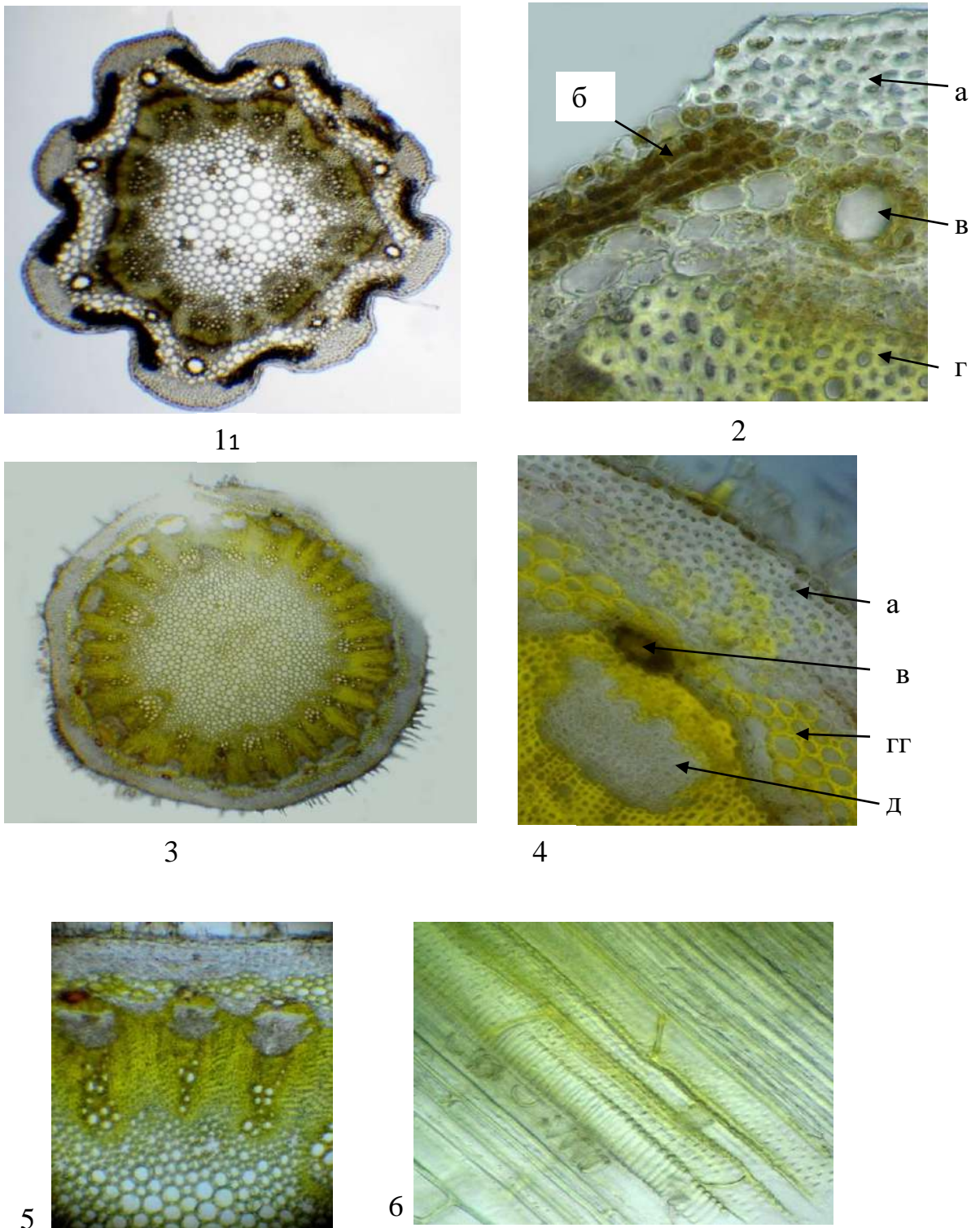
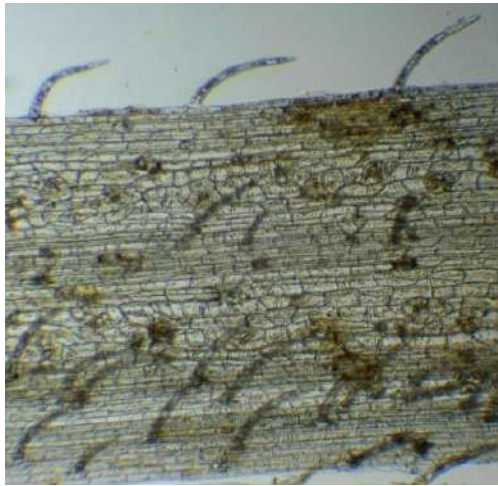


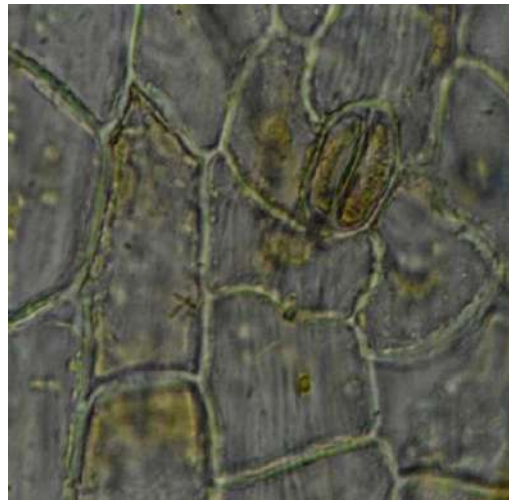
Рис. 4.3. Стебло бедринця. 1 – верхня частина, 2 – фрагмент корової паренхіма (а – кутова коленхіма, б – хлоренхіма, в – схизогенне вмістище, г – склеренхіма), 3 – нижня частина, 4 – фрагмент центрального циліндру (а – кутова коленхіма, в – схизогенне вмістище, г – склеренхіма, д – флоема), 5 – нижня частина, 6 – кільчасті, спіральні, пористі судини.



1



2а



а



в

Рис. 4.4. Епідерма стебла бедринця. 1 – загальний вид, 2 – тип продихового апарату: а – анізоцитний, б – аномоцитний, 3 – трихоми: а – довгий багатоклітинний волосок, б – 2-клітинний короткий волосок, в – 3-клітинний волосок

Судинно-провідні пучки центрального осьового циліндру видовженої форми, овальні майже однакової форми, між якими містяться дрібні вузькі пучки (рис. 4.4.1). Флоема дрібноклітинна, шар камбію виражений, тонкий, у ксилемі переважає склерифіковані клітини лібриформу, що щільним шаром підстиляють клітини камбію. Судини ксилеми широкопростіві, не чисельні, розташовані безпорядно (рис. 4.4.1). Судини кільчасті, спіральні, пористі (рис. 4.4.6). Серцевинні промені широкі, оболонки клітин склерифіковані. Перимедулярна зона представлена паренхімними невеликими клітинами, з тонкими оболонками. Серцевина представлена паренхімними клітинами, причому, більші за розмірами містяться у центрі.

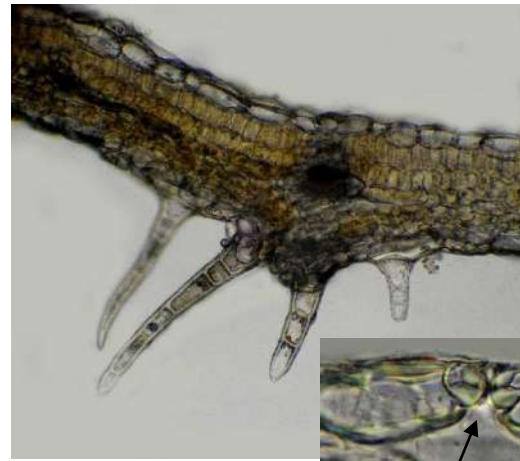
Анатомічна будова стебла у нижній частині (рис. 4.4.3) відрізняється за кількома ознаками: ребристість майже не виражена, епідерма більше опушена, коленхіма кутово-пластинчаста розташовується ширшим шаром (рис. 4.4.4, а), частково оболонки клітин коленхіми та корової паренхіми склерифікуються (рис. 4.4.4, г), схизогенні вмістища мають видовжену форму (рис. 4.4.4, в), флоема добре розвинена і розташовується широкою ділянкою (рис. 4.4.4, д), судини ксилеми широкопросвіті, більш виражені, розташовуються ланцюжками, склерифікація клітин серцевинних променів більш виражена, під провідними півками також виражений шар склеренхіми, серцевина добре виражена, клітини більш-менш однакового діаметру.

Листок дорзивентрального типу будови (рис. 4.5.2). Палісадний мезофіл 2-рядний, губчастий – 4-рядний. Клітини палісадного мезофілу невеликі, слабо виражені, за формою циліндричні або овальні, клітини другого внутрішнього шару розташовані нещільно. Клітини губчастого мезофілу дрібні, округлі, або видовжені горизонтально. Продихи на нижній епідермі виступаючі (рис. 4.5.2, а).

Головна жилка округла зі слабо виступаючою верхньою частиною і значно виступаючою нижньою (рис. 4.5.1). Епідерму підстеляє шаром добре розвиненої кутової коленхіми. Епідерму підстеляє шар добре розвиненої кутової коленхіми.

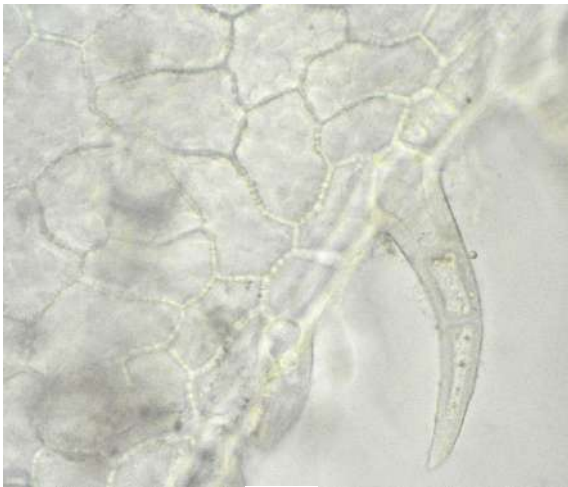


1

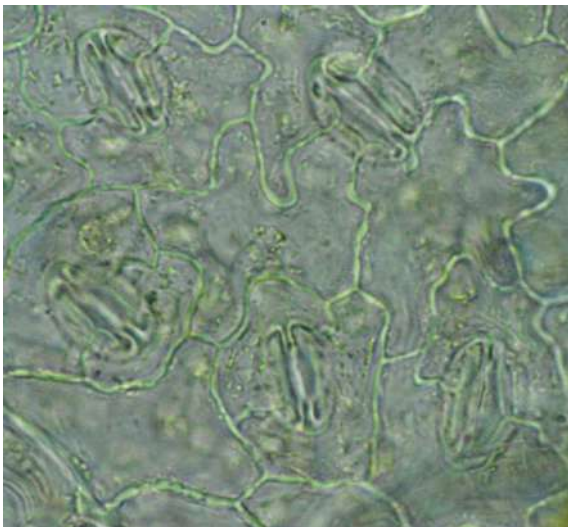


2

a



4



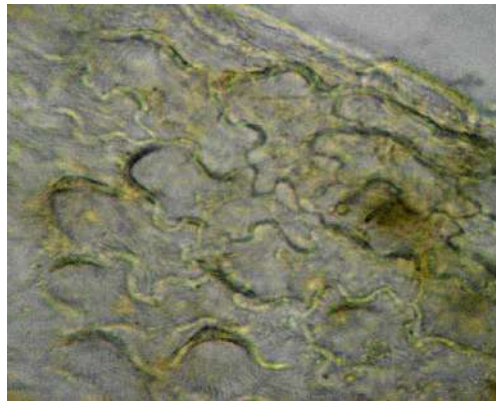
5



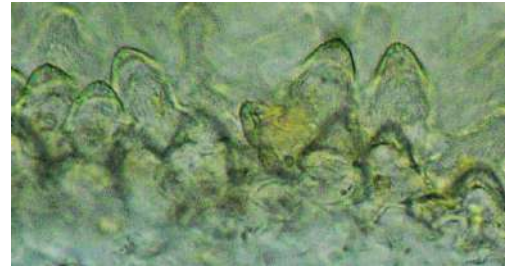
6

Рис. 4.5. Листок бедринця. 1 – головна жилка, 2 – поперечний розріз листка, а – продих, 3 – верхня епідерма, 4 – епідерма над жилкою, 5 – нижня епідерма, 6 – опушення над жилкою.

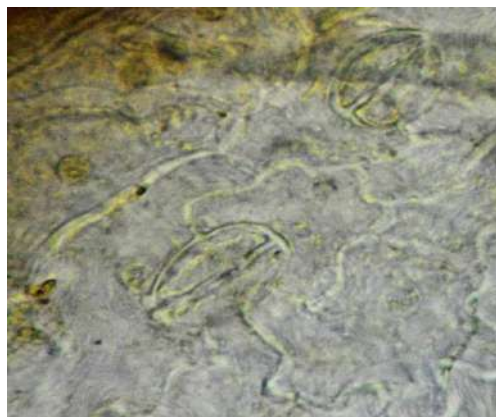
У центрі головної жилки міститься великий провідний пучок овальної форми з добре вираженими флоемою і ксилемою. З обох боків провідного пучка флоему і ксилему оточує склеренхіма. Клітини паренхіми середні за розмірами.



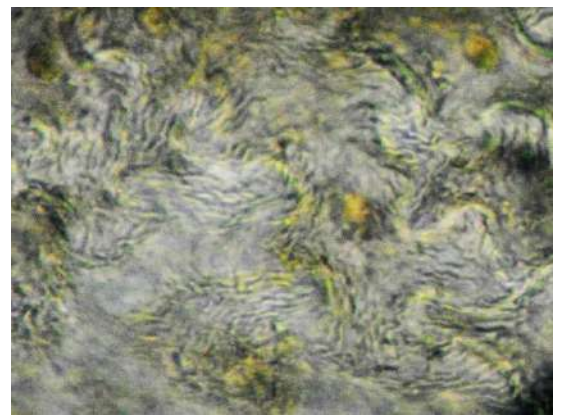
1



2



3



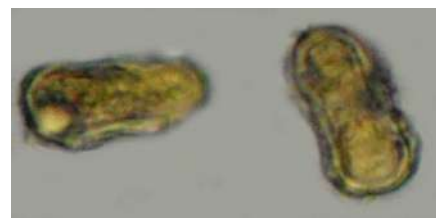
4



5a



5б



6

Рис. 4.6. Пелюстка. 1 – верхня епідерма, 2 – сосочкоподібні вирости, 3 – нижня епідерма, 4 – складчаста кутикула, 5 – трихоми: а – 3-клітинний волосок, б – 1- та 4-клітинний волосок, 6 – пилок.

Верхня епідерма представлена паренхімними клітинами різної форми – від багатокуткових до ізодіаметричної форми (рис. 4.5.3). Оболонки клітин слабо, чотковидно потовщені, з вираженими прямими порами. Між жилками клітини мають центричне розташування, ближче до жилки вони витягнуті, орієнтування вздовж жилок. Клітини нижньої епідерми над жилками (рис. 4.5.4) витягнуті, прямокутні, з потовщеним оболонками. Між жилками клітини паренхімні, тонкостінні, з сильно звивистими оболонками (рис. 4.5.5). Продихів багато, вони великі, овальної форми. Тип продихового апарату парацитний і аномоцитний.

Листок опушений нерівномірно (рис. 4.5.2). Більше трихом з нижнього боку, розташовані, в основному, групами вздовж жилок. За типом трихоми криючі 1-6-клітинні, товстостінні, бородавчасті, з закругленими верхівками.

Верхня епідерма пелюсток представлена паренхімними звивистостінними клітинами (рис. 4.6.1), що мали сосочкоподібні вирости конічної форми (рис. 4.6.2). На верхівках сосочків слабо виділяється складчаста кутикула. Клітини нижньої епідерми паренхімні, зі слабо звивистими тонкими оболонками, з великою кількістю продихів парацитного і аномоцитного типу (рис. 4.6.3). Нижня епідерма вкрита шаром складчастої кутикули (рис. 4.6.4).

На верхній і нижній епідермі рідко зустрічаються криючі 1-3-клітинні трихоми з загостреними верхівками (рис. 4.6.5, а-б). Пилок видовженої форми, з потовщеною оболонкою, за формою нагадує цифру 8 [4].

4.3 Визначення числових показників бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів

З метою встановлення доброякісності ЛРС визначали її числові показники відповідно до вимог нормативної документації – ДФУ 2.0. Визначали втрату в масі при висушуванні, вміст золи загальної та золи, нерозчинної у 10 % розчині хлористоводневої кислоти та вміст екстрактивних речовин [31, 107, 118].

Результати досліджень показали, що втрата в масі при висушуванні у серіях бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів становила не більше 7,8 %; вміст загальної золи у серіях трави становив не менше 4,0 %, кореневищ і коренів – не менше 6 %; вміст золи, нерозчинної у 10 % розчині хлористоводневої кислоти, у серіях бедринцю ломикаменевого трави становив не менше 1,0 %, у серіях кореневищ і коренів – не менше 2,6 %; екстрактивних речовин – не менше 25,0 % в обох досліджуваних об'єктах.

ВИСНОВКИ

1. Вивчено морфолого-анатомічні ознаки бедринцю ломикаменевого та визначено основні морфологічні та структурні анатомічні діагностичні ознаки кореневища, стебла, квітки та листка.

2. Визначено основні числові показники бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів, які будуть використані при стандартизації лікарської сировини при розробці МКЯ «Бедринцю ломикаменевого трава» та «Бедринцю ломикаменевого кореневища і корені» (дод. В.1-В.10).

За матеріалами розділу опубліковано роботи [68].

РОЗДІЛ 5

ОДЕРЖАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СУБСТАНЦІЙ З НАДЗЕМНИХ І ПІДЗЕМНИХ ОРГАНІВ БЕДРИНЦЮ ЛОМИКАМЕНЕВОГО ТА ВИВЧЕННЯ ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ

5.1 Одержання та хімічний аналіз субстанцій з надземних і підземних органів бедринцю ломикаменевого

Враховуючи, що фітопрепарати мають значні переваги перед синтетичними, які полягають у полівалентності їх впливу на організм, мають високий профіль безпеки, особливо при тривалому застосуванні, економічну доступність, високу довіру більшості пацієнтів, застосування бедринцю ломикаменевого у народній медицині, а також відсутність препаратів вітчизняного виробництва на фармацевтичному ринку України, вважаємо доцільним одержання біологічно активних субстанцій з сировини досліджуваної рослини.

Одержання густого екстракту з надземних органів бедринцю ломикаменевого. Для вибору екстрагента для одержання субстанції з надземних органів бедринцю ломикаменевого було проаналізовано екстракти, виготовлені різними способами.

Екстрагування проводили гарячою водою очищеною (80 °С) та водно-спиртовою сумішшю 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %. Технологічний етап екстрагування проводили методом мацерації з періодичним перемішуванням, причому, подрібнену рослинну сировину попередньо замочували достатньою кількістю екстрагенту протягом 4 год, а потім переносили у мацераційний бак, заливали екстрагентом у співвідношенні 1:10 і настоювали при кімнатній температурі протягом 24 год при періодичному перемішуванні.

Через 24 год витяжку фільтрували, згущували та упарювали на вакуумному випаровувачі за температури 60-70 °С до густого, вміст вологи становив – 17,19 %.

Методом спектрофотометрії визначали в кожній із одержаних субстанцій бедринцю ломикаменевого кількісний вміст сапонінів, суми флавоноїдів, суми гідроксикоричних кислот, суми кумаринів, гравіметричним методом – екстрактивних речовин (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

Результати визначення вмісту основних груп біологічно активних речовин у досліджуваних екстрактах з надземних органів бедринцю ломикаменевого

БАР, %	60 % етанол	70 % етанол	75% етанол	80 % етанол	85 % етанол	90% етанол
Сума гідроксикоричних кислот	2,17 ±0,02	2,53 ±0,05	2,77 ±0,02	2,57 ±0,03	4,31 ±0,04	3,51 ±0,05
Сума флавоноїдів	3,73 ±0,02	3,84 ±0,02	4,18 ±0,05	4,26 ±0,07	4,95 ±0,02	4,97 ±0,05
Сума кумаринів	1,87 ±0,05	1,86 ±0,05	1,88 ±0,15	2,10 ±0,06	2,12 ±0,15	2,06 ±0,05
Сапоніни	1,01 ±0,04	1,12 ±0,05	1,02 ±0,01	2,10 ±0,06	1,22 ±0,07	1,06 ±0,05
Екстрактивні речовини	47,09 ±1,15	46,18 ±3,17	42,99 ±4,00	47,09 ±3,15	46,18 ±3,55	42,99 ±2,45

Встановлено, що для одержання фітосубстанції з трави бедринцю ломикаменевого з найбільш повним вилученням екстрактивних речовин, сапонінів, суми флавоноїдів, суми кислот гідроксикоричних та суми кумаринів

оптимальним є використання як екстрагента етанолу 85 % та екстрагування подрібненої рослинної сировини у співвідношенні «сировина:екстрагент» 1:10, що є необхідним і достатнім для здійснення процесу екстракції, методом мацерації з періодичним перемішуванням. Настоявання при кімнатній температурі сприяє збереженню термолабільних екстрактивних речовин та дозволяє уникнути додаткових витрат енергоносіїв.

Методика одержання густого екстракту з надземних органів бедринцю ломикаменевого. Подрібнену до розміру частинок, які проходять крізь сито з діаметром отвору № 11200 (з максимальним допуском для отвору 0,77 мм), рослинну сировину (бедринцю ломикаменевого траву) змочують достатньою кількістю (200 мл) етанолу 85 %, залишають на 4 год при кімнатній температурі для набухання. Потім сировину заливають етанолом 85 % у співвідношенні 1:10, настоюють протягом 24 год при кімнатній температурі, періодично перемішуючи. Спиртову витяжку зливають, шрот віджимають. Витяжку, одержану настоюванням протягом доби, фільтрують, згущують та упарюють на вакуумному випаровувачі за температури 60-70 °С до стану густої витяжки з вмістом вологи 17,19 %.

Отриманий екстракт – густа однорідна в'язка маса коричнево-зеленуватого кольору, гіркувато-солодкувата на смак, зі своєрідним запахом.

Одержання густого екстракту з бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів. Для вибору екстрагента з метою одержання субстанції з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого було проаналізовано екстракти, виготовлені 8 способами.

У ході попередніх досліджень екстрагування проводили водно-спиртовими розчинами 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %. Спектрофотометричним методом визначали в кожній із одержаних субстанцій бедринцю ломикаменевого кількісний вміст сапонінів, суми флавоноїдів, суми гідроксикоричних кислот, суми кумаринів, а також гравіметричним методом – екстрактивних речовин (табл. 5.2).

**Результати визначення вмісту основних груп біологічно активних речовин
у досліджуваних екстрактах з підземних органів бедринцю
ломикаменевого**

БАР, %	60 %	65 %	70 %	75%	80 %	85 %	90 %
	етанол	етанол	етанол	етанол	етанол	етанол	етанол
Сума гідроксикоричних кислот	1,85 ±0,02	1,98 ±0,01	2,17 ±0,02	2,48 ±0,03	2,55 ±0,01	2,97 ±0,02	2,50 ±0,04
Сума флавоноїдів	1,79 ±0,02	1,86 ±0,01	1,94 ±0,03	1,95 ±0,02	1,90 ±0,01	1,98 ±0,01	1,95 ±0,01
Сума кумаринів	3,23 ±0,02	3,96 ±0,03	4,49 ±0,04	5,02 ±0,03	5,07 ±0,03	5,23 ±0,02	5,24 ±0,03
Сапоніни	2,02 ±0,03	2,56 ±0,04	2,57 ±0,02	2,55 ±0,03	3,16 ±0,02	3,10 ±0,02	1,67 ±0,01
Екстрактивні речовини	47,15 ±1,01	47,09 ±3,11	46,18 ±2,99	42,99 ±3,56	47,09 ±4,01	46,18 ±1,34	42,54 ±2,01

Встановлено, що для одержання фітосубстанції з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого з найбільш повним вилученням екстрактивних речовин, суми флавоноїдів, суми кислот гідроксикоричних, сапонінів і суми кумаринів оптимальним є використання як екстрагента етанолу 85 % у співвідношенні «сировина:екстрагент» 1:8 методом мацерації з примусовою подачею екстрагента. Попередніми фітохімічними дослідженнями підземних органів бедринцю ломикаменевого було встановлено, що кореневища і корені

містять значну кількість БАР: органічних та жирних кислот, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, ефірної олії, полісахаридів, сапонінів, кумаринів, а також макро- і мікроелементи, які можуть здійснювати вплив на організм людини, а одержана рослинна субстанція у вигляді згущеної витяжки є перспективною для застосування як засіб з відхаркувальною і протизапальною активністю [21, 98, 99, 182].

Методика одержання густого екстракту з бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів.

Подрібнену суху рослинну сировину бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів попередньо подрібнюють до розміру часточок до 3 мм, замочують достатньою кількістю екстрагенту 85 % етанолом протягом 4 годин, чим стимулюють процес екстрагування та сприяють ефективному вилученню екстрактивних речовин із сировини. Потім набухлу сировину переносять у мацераційний бак, заливають частиною екстрагенту 85 % етанолом, настоюють впродовж однієї доби при постійному перемішуванні. Одержану спиртову витяжку зливають. Процес екстрагування здійснюють 3 рази, щоразу заливаючи свіжою порцією екстрагенту. Готові витяжки об'єднують, відфільтровують і випаровують у роторному вакуумному випаровувачі (втрата в масі при висушуванні – 20,28 %).

Густий екстракт бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів – масляниста маса зеленувато-бурого кольору, гіркувато-солодкувата на смак, зі специфічним запахом.

5.2 Вивчення гострої токсичності густих екстрактів з трави та з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого

Результати дослідження гострої токсичності досліджуваних екстрактів бедринцю ломикаменевого при внутрішньошлунковому введенні представлено в таблиці 5.3.

Результати спостереження за тваринами, які проводили протягом двох тижнів після введення досліджуваних екстрактів показали, що за даний період не було зареєстровано жодного випадку летальності тварин у експериментальних групах.

При введенні високих доз екстрактів (5000 мг/кг), на початку спостереження тварини виглядали млявими, їх рухова активність була незначно знижена, однак споживання їжі та води не змінювались. При дослідженні низьких та середніх доз видимих ознак впливу на зовнішній вигляд, апетит чи поведінку мишей зареєстровано не було.

Таблиця 5.3

Дослідження гострої токсичності екстрактів бедринцю ломикаменевого при внутрішньошлунковому введенні мишам

Екстракти	Шлях введення	Доза, мг/кг (за діючою речовиною)	Кількість загиблих тварин/загальна кількість тварин у групі	
			Самці	Самки
БЕГК, БЕГТ	внутрішньо шлунковий	500	0/7	0/7
БЕГК, БЕГТ	внутрішньо шлунковий	750	0/7	0/7
БЕГК, БЕГТ	внутрішньо шлунковий	1000	0/7	0/7
БЕГК, БЕГТ	внутрішньо шлунковий	3000	0/7	0/7
БЕГК, БЕГТ	внутрішньо шлунковий	5000	0/7	0/7

Враховуючи, що при введенні високих доз екстрактів не спостерігали летальності у тварин, можна вважати, що значення ЛД₅₀ при ентеральному

введенні обох екстрактів перевищує максимальну дозу, яку використовували в експерименті, тобто у мишей $LD_{50} > 5000$ мг/кг. Отже, досліджувані екстракти за класифікацією К. К. Сидорова можна віднести до V класу токсичності – практично нешкідливі речовини [34].

5.3 Дослідження відхаркувального ефекту густих екстрактів з трави та з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого

Показником, який характеризує відхаркувальні властивості досліджуваного екстракту, є визначення його впливу на секреторну функцію бронхів. Результати досліджень наведено у таблиці 5.4.

Таблиця 5.4

Вплив густих екстрактів бедринцю ломикаменевого на секреторну функцію бронхів

Групи тварин (n=5)	Доза, мг/кг	Оптична густина, од. опт. щіл.	Здатність секретувати мокроту, %
Контроль		0,171±0,037#	100%
БЕГТ	100 мг/кг	0,341±0,049*#	98,9%
БЕГТ	200 мг/кг	0,391±0,020*#	128,1%
БЕГК	100 мг/кг	0,383±0,018*#	123,2%
БЕГК	200 мг/кг	0,419±0,010*	144,5%
«Геделікс» краплі	100 мг/кг	0,408±0,043*	137,8%
«Геделікс» краплі	200 мг/кг	0,447±0,028*	161,0%

Примітка. 1. * – достовірні відмінності ($p < 0,05$) відносно контролю;
2. # – достовірні відмінності ($p < 0,05$) відносно «Геделікс» краплі

Результати досліджень показали, що БЕГК має високу здатність секретувати мокроту, яка не значно поступалася здатності препарату

порівняння «Геделікс» краплі (екстракт плюща) – 144,5 % і 161,0 % відповідно. Кращі результати показали усі досліджувані екстракти у дозі 200 мг/кг. Менше вираженою активністю секретувати мокроту характеризував БЕГТ.

Відхаркувальна дія досліджуваних екстрактів та препаратів порівняння вивчали за їх впливом на активність моторики війчастого епітелію. Цей показник характеризує евакуаторну спроможність секрету бронхів.

Дослідження відхаркувального ефекту проводили на моделі ізольованої трахеї щура. Результати досліджень представлено у табл. 5.5.

Таблиця 5.5

Вплив густих екстрактів бедринцю ломикаменевого на час просування макових зернят по війчастому епітелію трахеї щурів

Групи тварин (n=5)	Доза, мг на 250 мл інкубаційної суміші	Час просування макового зернятка по війчастому епітелію трахеї щура, хв
Контроль (розчин Тіроде)		23,3±0,59
БЕГТ	200	18,8±0,23*# (19,24 %)
БЕГК	200	15,9±0,97* (31,87 %)
«Геделікс» краплі	200	13,8±0,58* (40,89 %)

Примітка. 1. * – достовірні відмінності ($p < 0,05$) відносно контролю;
2. # – достовірні відмінності ($p < 0,05$) відносно крапель «Геделікс»

Встановлено, що обидва екстракти проявляли найкращу відхаркуючу дію у дозі 200 мг/кг, де показали спроможність збільшувати секреторну функцію бронхів. Дана доза була вибрана для встановлення моторної функції епітелію дихальних шляхів. Обидва екстракти також показали спроможність впливати на активність моторики війчастого епітелію бронхів.

Результати досліджень показали, що відхаркувальна активність БЕГК перевищувала у 1,7 раза аналогічну активність екстракту, одержаного з трави рослини. За величиною відхаркувальної дії БЕГК в дозі 200 мг/кг дещо

поступаються референс-препарату – «Геделікс» краплям, 31,87 % і 40,89 %, відповідно.

5.4 Протизапальна активність густих екстрактів з надземних і підземних органів бедринцю ломикаменевого на моделі карагенінового набряку у щурів

Визначення протизапальної дії екстрактів, що досліджувались, у порівнянні препаратами порівняння рослинним відхаркувальним засобом «Геделікс» краплями та синтетичним нестероїдним протизапальним засобом натрію диклофенаком виконано на моделі експериментального запального процесу, викликаного субплантарним введенням 0,1 мл 1 % розчину карагеніну в задню кінцівку щура.

Досліджувані екстракти та препарати порівняння вводили через 2 год після введення карагеніну внутрішньошлунково в дозі 200 мг/кг, яка виявила більш виразну відхаркувальну дію.

Відомо, що антиексудативна активність речовини на моделі карагенінового набряку пов'язана з впливом на кінінову систему, гістамін та простагландини [16, 87, 133, 184].

Результати дослідження наведено в табл. 5.6.

Таблиця 5.6

Вплив досліджуваних екстрактів бедринцю ломикаменевого на об'єм лапки щурів на моделі карагенінового набряку ($M \pm m$, $n=5$)

Препарат	Доза мг/кг	Об'єм набряклої кінцівки (мм ³)	Об'єм здорової кінцівки (мм ³)	Різниця об'єму (мм ³)	АЕА, %
1	2	3	4	5	6
КП (1 % розчин карагеніну)	-	880,1±35,5*	462,8±27,0	417,3±8,58	0

1	2	3	4	5	6
БЕГТ	200 мг/кг	724,7±85,7*	398,8±26,3	325,8±83,8#	21,9%
БЕГК	200 мг/кг	932,3±36,6*	552,1±44,5	380,3±65,3	8,9%
«Геделікс» краплі	200 мг/кг	793,4±46,4*	421,3±11,8	372,1±42,4	10,8%
Натрію диклофенак	8 мг/кг	540,6±28,7	400,4±24,3	140,2±26,4#	66,4%

Примітка. 1. * – достовірна різниця ($p < 0,05$) між здоровою та набряклою кінцівками; 2. # – достовірна різниця ($p < 0,05$) відносно КП

Результати досліджень показали, що кращу протизапальну активність проявляла субстанція з трави бедринцю ломикаменевого (21,9 %).

За антифлогогенною дією цей екстракт у 3 рази поступався активності натрію диклофенаку (66,4 %), тоді як активність густого екстракту з підземних органів була у 7,5 рази менша, а «Геделікс» крапель у 6,1 рази менша.

Встановлено, що за протизапальною активністю БЕГТ переважає такий, що одержаний з кореневищ і коренів рослини.

5.5 Визначення антимікробної активності густого екстракту з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого

При роботі із БЕГК одержано результати, які свідчили про те, що нативний зразок даного екстракту по відношенню до усіх досліджуваних тест-штамів проявив бактерицидну активність. БЕГК у розведенні 1:2 та 1:4 проявляв бактерицидну та бактериостатичну дію відносно *S. aureus*, *B. subtilis*, *C. albicans*. Антимікробна дія по відношенню до *E. coli* та *P. aeruginosa* не виявлена.

Результати досліджень наведено у табл. 5.7 і на рис. 5.1.

Дослідження антимікробної активності бедринцю ломикаменевого екстракту густого кореневищ і коренів методом серійних розведень

Еталонні штами мікроорганізмів	Нативний зразок	Розведення	
		1:2	1:4
БЕГК			
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	бактерицидна	бактерицидна	бактеріостатична
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	бактерицидна	бактерицидна	бактерицидна
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	бактерицидна	не проявило дії	не проявило дії
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	бактерицидна	не проявило дії	не проявило дії
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	бактерицидна	бактеріостатична	бактеріостатична

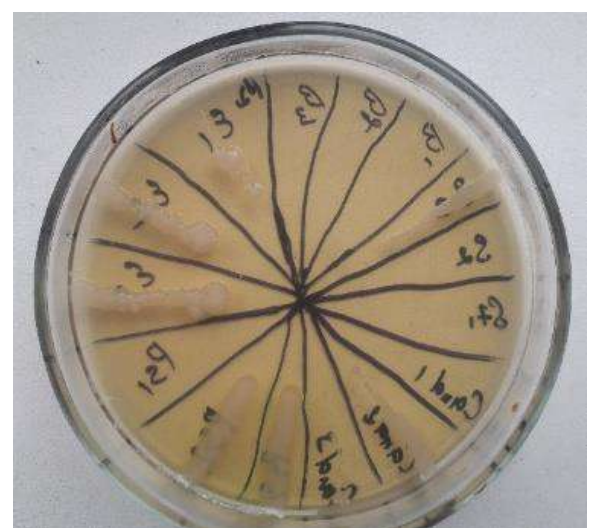
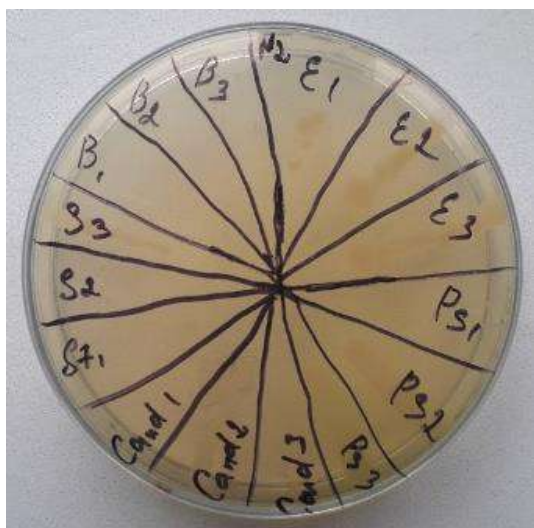


Рис. 5.1. Результати визначення чутливості тест-штамів до біологічно активних речовин бедринцю ломикаменевого екстракту густого кореневищ і коренів

Антимікробну активність нативного БЕГК також вивчали у дослідях *in vitro* методом дифузії в агар – метод “колодязів” [17, 27].

Результати досліджень наведено на рис. 5.2-5.3 та у табл. 5.8.

Таблиця 5.8

Дослідження антимікробної активності бедринцю ломикаменевого підземних органів екстракту густого методом дифузії в агар – метод «колодязів»

Зразок	Культури мікроорганізмів				
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653
	Діаметри зон затримки росту, мм				
БЕГК	25,0±0,5	21,1±0,6	18,0±0,7	15,2±0,8	20,3±0,7

Встановлено, що грампозитивні бактеріальні штами *S. aureus*, *C. albicans*, *B. subtilis*, є достатньо чутливими до БЕГК (діаметри зони пригнічення росту культур склали від 20,3±0,7 мм до 25,0±0,5 мм).



Рис. 5.2 Результати визначення чутливості біологічно активних речовин бедринцю ломикаменевого екстракту густого до *Staphylococcus aureus*



Рис. 5.3 Результати визначення чутливості біологічно активних бедринцю ломикаменевого екстракту густого до *Bacillus subtilis*

Грамнегативні культури *P. aeruginosa* та *E. coli* проявили також значну чутливість до БЕГК (діаметри зони пригнічення росту культур склали від $15,2 \pm 0,8$ мм до $18,0 \pm 0,7$ мм) [19].

Таким чином, наведене нами підтверджує, що БЕГК має достатньо виражену антимікробну активність, яку забезпечують наявні у досліджуваному екстракті сполуки фенольної природи (дубильні речовини, флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, кумарини) та ефірна олія.

ВИСНОВКИ

1. Одержано густі екстракти з бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів та визначено у них кількісний вміст суми флавоноїдів, суми фенольних сполук, суми кислот гідроксикоричних, суми кумаринів, суми сапонінів.

2. Досліджено гостру токсичність густих екстрактів з трави та з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого. Досліджувані екстракти віднесено за класифікацією К. К. Сидорова до V класу токсичності сполук (практично нешкідливі речовини, $LD_{50} \geq 5000$ мг/кг).

3. Вивчено відхаркувальну дію густих екстрактів з трави та з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого за впливом на рухову активність війчастого епітелію та секреторну функцію бронхів. Найбільша відхаркувальна активність екстрактів спостерігалася у групі тварин, яким вводили екстракти у дозі 200 мг/кг. Встановлено, що за даним ефектом активність бедринцю ломикаменевого екстракту густого кореневищ і коренів дещо поступалася активності референс-препарату «Геделікс» краплям (31,87 % і 40,89 %, відповідно).

3. На моделі карагенінового набряку у щурів доведено протизапальну активність густих екстрактів з трави та з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого. Вираженіша протизапальна активність спостерігалася у тварин, яким вводили густий екстракт з трави бедринцю ломикаменевого і становила 21,9 %.

4. Експериментально встановлено, що екстракт бедринцю ломикаменевого підземних органів проявляє виражену антибактеріальну активність. Більш виражену антимікробну активність він проявляв по відношенню до грампозитивної мікрофлори (*S. aureus*, *C. albicans*, *B. subtilis*), тому є перспективним для створення лікарського засобу з антимікробними властивостями.

За матеріалами розділу опубліковано роботи [19].

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та вирішення наукових завдань, що виявляється у комплексному фармакогностичному дослідженні трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого

1. Уперше проведено комплексне фармакогностичне вивчення бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів. У результаті досліджень у траві та кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого виявлено: органічні та жирні кислоти, вуглеводи, амінокислоти, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, кумарини, дубильні речовини, сапоніни, ефірні олії.

2. Встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст амінокислот і полісахаридів у надземних і підземних органах бедринцю ломикаменевого. У траві виявлено 17 зв'язаних амінокислот та 15 вільних; у підземних органах – 13 вільних і 17 зв'язаних амінокислот. З вільних амінокислот у траві бедринцю ломикаменевого кількісно переважають пролін і глютамінова кислота; не виявлено цистину і метіоніну. У підземних органах з вільних амінокислот найбільше є аргініну, не виявлено гістидину, цистину, метіоніну і лізину. Зі зв'язаних амінокислот у траві і підземних органах домінують глютамінова кислота і цистин. Результати дослідження полісахаридного комплексу трави бедринцю ломикаменевого показали, що вміст водорозчинних полісахаридів у траві становив 6,95 %, у кореневищах і коренях – 11,25 %; пектинових речовин – 11,89 % і 4,41 % відповідно. Методом ГХ/МС виявлено 13 цукрів, ідентифіковано 3 у траві та виявлено 5 цукрів, ідентифіковано 2 у підземних органах.

3. Вперше встановлено компонентний склад та визначено кількісний вміст органічних і жирних кислот у траві та підземних органах бедринцю ломикаменевого. Методом ТШХ виявлено наявність щавлевої, лимонної, бурштинової, бензойної, винної та слідів саліцилової кислот у траві та щавлевої, лимонної, бурштинової, винної кореневищах і коренях. Визначено кількісний вміст суми вільних кислот органічних у бедринцю ломикаменевого

траві, що становило 0,37 %, у кореневищах і коренях – 0,44 %. Встановлено, що у ліпофільному екстракті трави і кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого кількісно переважала лінолева кислота, вміст якої становив 5,59 мг/кг і 43,10 мг/кг відповідно. З насичених жирних кислот в обох об'єктах домінує пальмітинова – 4,05 мг/кг і 7,15 мг/кг відповідно.

4. Спектрофотометричним методом встановлено кількісний вміст сполук фенольної природи у бедринцю ломикаменевого трави і кореневищах і коренях: флавоноїдів – 2,19 %, гідроксикоричних кислот – 4,62 % і 1,52 %, суми кумаринів – 1,81 % і 3,64 %, танінів – 2,04 % і 1,86 %, поліфенолів – 4,85 і 3,72 %. Методом ВЕРХ вперше ідентифіковано та встановлено кількісний вміст у досліджуваних об'єктах вільних кислот галової і елагової; гідроксикоричних кислот (хлорогенової і розмаринової), флавоноїдів (рутину, гіперозиду, ізокверцитрину, лютеоліну), кумаринів (скополетину, проралені, бергаптену). У підземних органах не виявлено флавоноїдів. У бедринцю ломикаменевого трави та кореневищах і коренях встановлено наявність та визначено кількісний вміст сапонінів – 0,99 % і 1,89 % відповідно.

5. Методом газової хромато-мас-спектрометрії досліджено якісний склад летких сполук бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів. У траві виявлено 59 компонентів, ідентифіковано 26. У кореневищах і коренях ідентифіковано 27 компонентів з 65 виявлених. Основними компонентами бедринцю ломикаменевого трави є гермакрен-D, β -бісаболен, гептакозан, нонакозан; кореневищ і коренів – каріофілен, гермакрен-D та β -гурьюнен. Встановлено маркерну сполуку легкої фракції з трави бедринцю ломикаменевого – α -бергамотол.

6. Методом ААС визначено елементний склад бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів. Виявлено по 15 елементів: по 5 макро- (К, Са, Na, Mg, P) та по 10 (Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Се, Cr, Со, Pb, Cd) мікроелементів. Встановлено значне накопичення калію, кальцію і магнію.

7. Визначено основні діагностичні морфолого-анатомічні ознаки бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів. Розроблено проекти

МКЯ на нову ЛРС «Бедринцю ломикаменевого трава» і «Бедринцю ломикаменевого кореневища і корені».

8. Розроблено технологію одержання густих екстрактів з бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів, проведено їхню стандартизацію. Розроблено проекти МКЯ «Бедринцю ломикаменевого трави екстракт густий» та «Бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів екстракт густий». Проведено фармакологічні дослідження густих екстрактів з трави та з кореневищ і коренів, встановлено наявність відхаркувальної, протизапальної та антимікробної активності.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абудейх З. Х. Изучение количественного и качественного состава полисахаридов в *Chamaenerion angustifolium* в разных фазах вегетации и разных органах. *Фітотерапія. Часопис*. 2011. № 3. С. 66-68.
2. Аминокислоты глазами химиков, фармацевтов, биологов : в 2-х т. Том 1 / Сырвая А. О., Шаповал Л. Г., Макаров В. А. Х. : «Щедра садиба плюс», 2014. 228 с.
3. 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.
4. Анисимова М. М., Куркин В. А., Ежков В. Н. Качественный и количественный анализ флавоноидов гречихи посевной. *Изв. Самарского научного центра Российской академии наук*. 2010. Т. 12, № 1 (8). С. 2-11-2014.
5. Атлас: учебное пособие: в 3-х томах. М.: ГЭОТАРМедицина, 2010. Т 3. 488 с.
6. Бедренец камнеломковый. *Нефармакопейние лікарські рослини, що входять до складу БАД*. URL: <http://obad.ru/badinfo/pro-bady/nefarmakopeinye-lekarstvennyye-rasteniya-vkhodyashchie-v-sostav-bad> (Дата звернення: 25.01.2020).
7. Бедренец-камнеломка – «дикий анис. Бедренец. URL: <https://assz.ru/bedrenec-kamnelomka-dikii-anis-bedrenec/> (Дата звернення: 29.01.2020).
8. Бедринец камнеломковый – перспективный источник для создания новых фитопрепаратов разнонаправленного действия / Д. В. Семенив, Ю. В. Столетов, Т. А. Куценко. *Innovative approaches to the development of science. Part 2*. Dublin, Ireland. 2018. P. 111-115.
9. Бедринець ломикаменевий Вікіпедія. URL: <https://uk.wikipedia.org/wiki> (Дата звернення: 28.01.2020) .

10. Безкоровайна О. І., Терещенкова І. І. Лікарські трави в медицині: монографія. Х.: Факт, 2002. 480 с.
11. Белай І. М. Дослідження протиатеросклеротичного ефекту рослинних засобів, що містять сапоніни, в експерименті. *Вісник наукових досліджень*. 1999. № 2. С. 45-47.
12. Бензель І. Л., Дармограй Р. Є., Бензель Л. В. Дослідження вмісту аскорбінової кислоти та вільних органічних кислот у фітосубстанціях бадану товстолистого. *Фармац. журн.* 2010. № 2. С. 98-101.
13. Бубенчиков Р. А. Спектрофотометрический метод определения содержания суммы флавоноидов в надземной части *Viola*. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Естественные науки*. 2011. № 9-2. С. 192-195.
14. Бурлака І. С., Кисличенко В. С. Дослідження гідроксикоричних кислот *Calamagrostis epigeios* (L.) ROTH. *Вісник фармації*. 2013. № 1(73). С. 51-53.
15. Вельма В. В., Кисличенко В. С. Мінеральний склад коренеплодів петрушки кореневої. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2016. Вип. 26. С. 312-316.
16. Вивчення антиексудативної активності ліофілизованого екстракту з трави хамерію вузьколистого / О. М. Олещук, Г. І. Фещенко, С. М. Марчишин, О. Ю. Кошова. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 1. С. 55-60.
17. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: метод. реком / Ю. Л. Волянський, І. С. Гриценко, В. П. Ширококов та ін. Київ, 2004. 38 с.
18. Вивчення фенольних речовин у траві маруни дівочої методом тонкошарової хроматографії та високоефективної рідинної хроматографії / К. Р. Гордей, Т. М. Гонтова, А. Г. Сербін та ін. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 3 (60). С. 64-70.

19. Визначення антимікробної активності бедринцю ломикаменевого екстракту густого / Е. А. Паращук, Н. І. Ткачук, С. М. Марчишин, Г. Р. Козир *Фармацевтичний часопис*. 2019. № 1. С. 104-110.
20. Вітренко О.М., Рацук М.Є., Сарібекова Д.Г. Дослідження можливості використання ефірних олій в якості консервантів у складі крему для рук *Вісник КНУТД*. 2017. № 2 (108). С. 127-133.
21. Вміст кислот гідроксикоричних у траві та кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga L.*) / Е. А. Паращук, С. М. Марчишин, М. В. Кирилів, І. Р. Бекус. *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20, № 3. С. 90-95.
22. Войцехівська О. В., Ситар О. В., Таран Н. Ю. Фенольні сполуки: різноманіття, біологічна активність, перспективи застосування. *Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія Біологія*. 2015. Вип. 1 (34). С. 104-119.
23. Гарник Т.П., Вихтинская И.Л., Исакова Т.И. Обзор официального и перспективного лекарственного растительного сырья. *Фитотерапия в Украине*. 1998. № 1. С. 10-11.
24. Губанов И. А. Иллюстрированный определитель растений Средней России. В 3 т. М.: Т-во науч. изд. КМК, Ин-т технолог. Иссл., 2003. Т. 2. с. 644.
25. Гусак Л., Григоренко І. Вміст амінокислот у траві чистецю Зібольда. *XX Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених: матеріали XX конгр., 25-27 квіт. 2016 р. Т., «Укрмедкнига», 2016. С. 336.*
26. Делян Є. П. Амінокислотний склад надземних органів рослин роду *Sonchus*. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2016. № 1 (47). С. 102-106.
27. Державна Фармакопея України / ДП «Науковоекспертний фармакопейний центр». 1-е вид. Харків: РІРЕГ, 2011. Доповнення 4. 536 с.
28. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид., 1 допов. Х.: РІГЕР, 2004. 494 с.
29. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків: Державне

підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. 724 с.

30. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 2-е вид., Т. 3. Х.: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2014. 732 с.

31. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид., Т. 1. Х.: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. 1128 с.

32. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид., 1 допов. Х.: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.

33. Добреля Н., Шатиркіна Т. Використання лабораторних тварин у до клінічних фармакологічних дослідженнях: стан та перспективи. *Вісник фармакології та фармацевції*. 2006. С. 35-40.

34. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / За ред. члена-кор. АМН України О. В. Стефанова. К.: Авіценна, 2001. 528 с.

35. Дослідження вмісту полісахаридів у плодах хурми віргінської (*Diospyros virginiana* L.) / О. Ю. Коновалова, Т. В. Джан, Т. К. Шураєва та ін. *Фармацевтичний журнал*. 2011. № 3. С. 101-104.

36. Дослідження вуглеводів кореневищ і коренів та трави родовика лікарського (*Sanguisorba officinalis* L.) / В. В. Кудря, С. М. Марчишин, І. С. Дахим, О. В. Зарічанська. *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20. № 1. С. 93-98.

37. 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.

38. Дученко М. А. Дослідження полісахаридів листя гледичії колючої. *Український біофармацевтичний журнал*. 2014. № 3 (32). С. 64-66.

39. Дьяков А. А., Перфилова В. Н., Тюренков И. Н. Противоаритмическое действие феруловой кислоты. *Вестник аритмологии*. 2005. № 39. С. 49-52.
40. Елементний склад квіток та листків хризантеми садової багаторічної (*Chrysanthemum × hortorum Bailey*) / С. М. Марчишин, О. В. Полонець, М. С. Гарник, О. Л. Демидяк. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. № 5 (52). С. 46-49.
41. Елементний склад листків настурції великої / Г. Р. Козир, С. М. Марчишин, О. О. Баєв, Ю. І. Шафранська. *Фармацевтичний часопис*. 2010. № 1 (10). С. 10-12.
42. Ефремов Е. А., Ефремов А. А. Компонентный состав и физико-химические характеристики эфирного масла весенней лапки пихты сибирской. *Химия растительного сырья*. 2013. № 4. С. 71-75.
43. Єжель І. Гемолітична активність сапонінів *Rhododendron luteum Sweet*. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка*. 2012. № 31. С. 39-41.
44. Жири у виробництві харчової продукції: монографія / Л. З. Шильман, І. В. Сімакова та ін. Під заг. ред. Л. З. Шильмана. Суми: Університетська книга, 2016. 278 с.
45. Западнюк В. І., Кураш Л. П., Заїка М. І. Амінокислоти в медицині. К.: Здоров'я. 1982. 200 с.
46. Земцова Г. Н., Бандюкова В. А. Флавоноиды как лекарственные препараты. *Фармация*. 1982. № 3. С. 68-70.
47. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Дослідження макро- і мікроелементного складу сировини *Elsholtzia stauntonii* та *Elsholtzia ciliata*. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 1. С. 63-66.
48. Зоценко Л. О., Цуркан О. О. Амінокислотний склад надземних органів *Elsholtzia stauntonii* Benth. *Зб. наук. прац. співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2017. Т. 28. С. 51-57.
49. Идентификация органических кислот методом ТСХ в извлечениях из растительных объектов / О. В. Тринеева, И. И. Сафонова, Е. Ф. Сафонова, А. И.

Сливкин. *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2013. Т.13. Вып. 6. С. 896-901.

50. Изучение флоры лесостепной зоны Западной Сибири как источника биологически активных соединений / Г. И. Высочина, Т. А. Кукушкина, О. В. Коцупий. *Сибирский экологический журнал*. 2011. № 2. С. 273-284.

51. Ильина Т. А. большая иллюстрированная энциклопедия лекарственных растений. М. : Эксмо, 2008. С. 19.

52. Иманлыб Г. А., Серкерев С. В. Кумариновые производные корней *Angelica sachokiana* (KARJAG) M. PIMEN. ET V. TIKHOMIROV. *Химия растительного сырья*. 2015. № 4. С. 165-168.

53. Іжевська О. П. Дослідження ліпідів шроту насіння льону та перспектива використання його у м'ясних стравах. *Науковий вісник ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького. Серія: Харчові технології*. 2019. Т. 21, № 91. С. 9-13.

54. Ільїнська Н. І., Гонтова Т. М. Дослідження флавоноїдів у траві деяких сортів рослин роду Жоржина. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. № 2 (49). С. 50-52.

55. Кацуба І. К., Новосел О. М., Кисличенко В. С. Дослідження полісахаридів мати-й-мачухи. *Український медичний альманах*. 2013. Том 16, № 4. С. 25-27.

56. Ковалев С. В. Химическое исследование липофильной фракции травы люцерны серповидной. *Запорожский медицинский журнал*. 2013. № 3 (78). С. 94-97.

57. Козачок С. С., Марчишин С. М., Виноградов Б. О. Якісний склад та кількісний вміст органічних кислот у зборі антиалергічному. *Фармацевтичний часопис*. 2012. № 4. С. 67-72.

58. Курта С. А. Природні вуглеводи та полісахариди: навч. посіб. Івано-Франківськ, 2013. 100 с.

59. Кучер М. М., Галькевич І. Й. Газорідинна хроматографія в аналізі ліків та отрут. Т.1. Теоретичні основи методу. Львів: ЛНМУ, 2011. 236 с.

60. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В. В. Меньшикова. М.: Медицина, 1987. 368 с.
61. Лікарські рослини і фітотерапія (фітотерапевтична рецептура): навч. посіб. / Л. В. Бензель, Р. Є. Дармаграй, П. В. Олійник, І. Л. Бензель. К.: ВСВ «Медицина», 2010. 400 с.
62. Ложкин А. В., Саканян Е. И. Природные кумарины: методы выделения и анализа (обзор). *Химико-фармацевтический журнал*. 2006. Т. 40, № 6. С. 47-56.
63. Лысиков Ю. А. Аминокислоты в питании человека. *Экспериментал. и клинич. гастроэнтеролог*. 2012. № 2. С. 88-105.
64. Мазулін О. В., Баланчук Т. І., Мазулін Г. В. Дослідження вмісту дубильних речовин у траві видів роду будяк (*Carduus L.*). *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2017. Вип. 28. С. 79-86.
65. Макро- та мікроелементи (обмін, патологія та методи визначення): монографія / М. В. Погорелов, В. І. Бумейстер, Г. Ф. Ткач та ін. Суми: Вид-во СумДУ, 2010. 147 с.
66. Максютіна Н. П., Комиссаренко Н. Ф., Прокопенко А. П. *Растительные лекарственные средства*. 1085. 280 с.
67. Мамчур Ф. І. Справочник по фитотерапии.: Довідник з фітотерапії. 2-е изд., перераб. и доп. К.: Здоров'я, 1986. 280 с.
68. Марчишин С. М., Гонтова Т. М., Панасюк Е. А. Морфолого-анатомічне дослідження бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga L.*). *Фармацевтичний часопис*. 2015. № 2. С 9-16.
69. Марчишин С. М., Панасюк Е. А., Демидяк О. Л. Дослідження елементного складу бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga L.*). *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю (10-11 листопада 2016 р.). Тернопіль : ТДМУ, 2016. С. 62.
70. Марчишин С. М., Стойко Л. І., Дахим І. С. Визначення якісного складу та кількісного вмісту кислот гідроксикоричних у тирличу хрещатого траві (*Gentiana cruciata L.*). *Фармацевтичний журнал*. 2016. № 3-4. С. 76-84.

71. Марчишин С. М., Гудзь Н. А. Вміст амінокислот у листках стевиї. *Науково технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю (10-11 листопада 2016 р.). Тернопіль : ТДМУ, 2016. С. 59.

72. Марчишин С. М., Гусак Л. В., Бердей Т. С. Дослідження флавоноїдів у траві та кореневих бульбах чистецю Зібольда (*Stachys sieboldii* MIQ.). *Фітотерапія. Часопис*. 2017. №1. С. 27-30.

73. Марчишин С. М., Гусак Л. В., Демидяк О. Л. Визначення летких сполук чистецю Зібольда (*Stachys sieboldii* MIQ.). *Фітотерапія. Часопис*. 2017. № 3. С. 64-67.

74. Марчишин С. М., Дахим І. С., Гарник М. С. Дослідження відхаркувальної активності густого екстракту стокроток. *Фармацевтичний часопис*. 2014. № 3 (31). С. 82–84.

75. Марчишин С. М., Козачок С. С., Зарічанська О. В. Вміст карбонових кислот у підземних і надземних органах лілійника буро-жовтого і лілійника гібридного. *Фармацевтичний часопис*. 2015. № 2. С. 53-58.

76. Марчишин С. М., Міщенко Л. Т., Гусак Л. В. Визначення якісного складу та кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у траві чистецю Зібольда (*Stachys Sieboldii* Miq.). *Актуальні питання експериментальної і клінічної біохімії та фармакології*: тези матер. Всеукраїнської наук.-практ. конф. *Медицина хімія*. 2014. Т.16, № 3. С. 136.

77. Марчишин С. М., Панасюк Е. А. Визначення вмісту гідроксикоричних кислот у траві та підземних органах бедринцю ломикаменевого. *Хімія природних сполук*: матер. IV Всеукраїнської науково-практ. конференції з міжнародною участю, 21-22 квітня 2016 р. Тернопіль : «Укрмедкнига», 2016. С. 142..

78. Марчишин С. М., Панасюк Е. А. Дослідження карбонових кислот у надземних і підземних органах бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.). *Фармація XXI століття : тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України (Харків, 13-16 вересня, 2016 р.): у 2 т. Т. 1 / М-во охорони

здоров'я України, Нац. фармац. ун-т; кол.: В. П. Черних (голова) та ін.; С. Ю. Данильченко та ін. Харків: НФаУ, 2016. С. 112.

79. Марчишин С. М., Стойко Л. І., Мосула Л. М. Визначення флавоноїдів тирличу хрещатого трави (*Gentiana cruciata* L.). *Фітотерапія. Часопис*. 2018. № 2. С. 58-61.

80. Марчишин С. М., Сушко Н. О. Лікарські рослини Тернопільщини. Тернопіль: Навчальна книга – Богдан, 2007. 49 - 50.

81. Маслій Ю. С., Рубан О. А., Стрілець О. П. Мікробіологічне обґрунтування вибору АФІ та їх концентрацій у складі стоматологічного гелю. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. № 1 (48). С. 58-63.

82. Методы биохимических исследований растений / А. И. Ермаков, В. В. Арисимович, Н. П. Ярошенко; под ред. А. И. Ермакова. 3-е изд., перераб. и доп. Л.: Агропромиздат, 1987. 430 с.

83. Микаилова Н. Х., Серкерев С. В. Новые компоненты смолы корней *Bilacunaria microcarpa* (M. ВІЕВ.) PIMENOV & V.N. ТІКНОМ. *Химия растительного сырья*. 2014. № 4. С. 215-218.

84. Михалюк О. Б. Дослідження ліпофільної фракції листків і плодів лимонника китайського. *Український біофармацевтичний журнал*. 2013. № 5. С. 45-49.

85. Москаленко А. М., Попова Н. В. Дослідження вуглеводів безсмертника приквіткового (*Helichrysum bracteatum*). *Український біофармацевтичний журнал*. 2018. № 3 (56). С. 53-59.

86. Москаленко А. М., Попова Н. В. Дослідження складу жирних кислот безсмертника приквіткового (*Helichrysum bracteatum*). *Український біофармацевтичний журнал*. 2018. № 4 (57). С. 64-68.

87. Мохамад Махмуд Ассаф Фармакологічне дослідження протиабрюкової активності екстрактів листя та кореня лопуха / Мохамад Махмуд Ассаф, К. Г. Щокіна, С. М. Дроговоз, Л. В. Демимедвідь. *Запорожский медицинский журнал*. 2011. Т. 13, № 3. С. 25-27.

88. Настанова МОЗ України «Лікарські засоби. Належна лабораторна практика: СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2008». Київ, 2009. 27 с.

89. Носов А. М. Лекарственные растения. М.: ЭКСМО-Пресс, 2000. 350 с.

90. Определение аскорбиновой кислоты и органических кислот в желудочных сборах различных производителей Украины / В. С. Кисличенко, А. И. Федосов, А. А. Кисличенко, Е. Н. Новосел. *Фармацевтический журнал*. 2015. № 2. С. 12-15.

91. Определитель высших растений Украины / Д. Н. Доброчаева, М. И. Котов, Ю. Н. Прокудин. 2-е изд., стереот. К.: Фитосоциоцентр, 1999. 548 с.

92. Оптимізація технології екстракції ліпофільних комплексів з лікарської рослинної сировини. 1. Вибір екстрагенту / С. В. Гарна, П. П. Ветров, О. І. Русинов, В. А. Георгіянц. *Запорозький медичинський журнал*. 2011. Т. 12, № 3. С. 92-94.

93. Опыт и перспективы применения бедренца камнеломкового в медицине / В. А. Уланова, Т. А. Куценко, Г. В. Белик, Ю. В. Столетов. SCIENCE AND LIFE: Proceedings of articles the international scientific conference. Czech Republic, Karlovy Vary - Ukraine, Kyiv, 30 November 2017 / Editors prof. I. P. Klimov, I. V. Ignatko, V. B. Mantusov. Electron. txt. d. Czech Republic, Karlovy Vary: Skleněný Můstek. P. 336-339.

94. Особенности выделения сапонинов из корнеплодов растения *Beta vulgaris* L. / Т. А. Брежнева, С. А. Атаманова, А. И. Сливкин. *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2004. № 1. С. 152-155.

95. Панасенко О. І., Горяча Л. М., Гуцол В. В. Дослідження органічних кислот у сировині амброзії полинолистої. *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20. № 1. С. 16-20.

96. Панасюк Е. А. Вміст дубильних речовин у траві і підземних органах бедринцю ломикаменевого. *XIX Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених*, ТДМУ. 27-29 квітня 2015р.: матеріали конгресу. Тернопіль : Укрмедкнига, 2015. С. 360.

97. Паращук Е. А., Марчишин С. М., Слободянюк Л. В. Дослідження летких компонентів бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga L.*). *Медицина та клінічна хімія*. 2018. № 4. С 107-113.

98. Паращук Е. А., Марчишин С. М., Слободянюк Л. В. Дослідження похідних кумаринів бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga L.*). *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 1. С. 66-70.

99. Паращук Е.А. Визначення вмісту біологічно активних речовин вторинного синтезу у траві та підземних органах бедринцю ломикаменевого *Хімія природних сполук*: матер. V Всеукраїнської науково-практичної конф. з міжнародною участю (м. Тернопіль, 30-31 травня 2019 р.). Тернопіль: ТДМУ, 2019. С. 46-47.

100. Патент РФ 2461388С1 Экстракт *Coptidis rhizoma* и его новое применение в лечении респираторного заболевания / Д. Аух, Ким Чанг-Хван, Хан Чанг-Кьюн. 2009. URL: <http://www.freepatent.ru/images/patents/21/2461388/patent-2461388.pdf> (Дата звернення: 26.01.2020)

101. Перспективи застосування чубушника як лікарської рослини / В. Д. Іщенко, С. М. Костенко, В. М. Костенко, Ю. В. Тимошик. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького*. 2016. № 3 (70). С.123-127.

102. Перфилова В. Н., Дьяков А. В., Тюренков И. Н. Кардиопротективное действие феруловой кислоты при стрессорном повреждении сердца. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2005. № 5.

103. Повний атлас лікарських рослин / укладач І. С. Алексеев. Київ: ТОВ “Видавництво Глорія”, 2018. С. 20.

104. Полякова В. А., Макурина О. Н. Изменение основных морфометрических и некоторых биохимических показателей высшего наземного растения подорожника большого (*Plantago major*) в зависимости от степени загрязнения почв города Самары тяжелыми металлами. *В мире научных открытий*. 2010. №5 (11), Ч. 1. С. 53-57.

105. Попик А. І., Кисличенко В. С., Король В. В. Дослідження компонентного складу ефірної олії бузку звичайного сорту Красуня Москви. *Український біофармацевтичний журнал*. 2014. № 1. С. 52-54.

106. Попик А. І., Кисличенко В. С., Король В. В. Хромато-мас-спектрометричне дослідження ефірної олії *Syringa vulgaris* L. *Медична хімія*. 2011. Т. 13, № 3. С. 47-50.

107. Практикум з ідентифікації лікарської рослинної сировини : навч. посіб. / В. М. Ковальов, С. М. Марчишин, О. П. Хворост та ін.; За ред. В. М. Ковальова, С. М. Марчишин. Тернопіль : ТДМУ, 2014. С. 184-185.

108. Практична мікробіологія / за ред. Широбоков В. П., Климнюк С. І. Вінниця: Нова книга, 2018. С. 78-81.

109. Прозоровский В. Б. Практическое пособие по ускоренному определению средних эффективных доз и концентрации биологически активных веществ. СПб, 1992. 42 с.

110. Руденко А. В., Никонова Н. А., Геведзе Л. А. Изучение антибактериальной активности некоторых лекарственных растений. 1-я респ. конф. по мед. ботанике. Киев, 1984. С. 166-167.

111. Саламаха В. В., Протункевич О. О., Присяжнюк К. О. Розробка методів виділення рутину і кверцетину із квіток софори японської. *Праці Одеського політехнічного університету*. 2012. Вип. 1 (38). С. 286-290.

112. Селлар В. Энциклопедия эфирных масел // Пер. с англ. М.: ФАИР-ПРЕСС, 2004. 672 с.

113. Сернов Л. Н., Гацура В. В. Элементы экспериментальной фармакологии. М., 2000. С. 79

114. Смірнов О., Косик О. Флавоноїди рутин і кверцетин. Біосинтез, будова, функції. *Вісник Львівського університету*. Серія біологічна. 2011. Вип. 56. С. 3-11.

115. Смойловська Г. П. Дослідження якісного складу та кількісного вмісту карбонових кислот у листі *Urtica dioica* L. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2015. № 3 (19). С. 48-51.

116. Современная фитотерапия / Под ред. В. Петкова. София: *Медицина и физкультура*, 1988. С. 231-232.
117. Содержание флавоноидов в витаминных сборах / Жилкина В. Ю., Марахова А. И., Сорокина А. А., Сергунова Е. В. *Фармация*. 2018. № 67 (1). С. 14-18.
118. Солодовниченко Н. М., Журавльов М. С., Ковальов В. Н. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати: Посіб. з фармакогнозії з основами біохімії лікар. рослин / Харків: Вид-во НФАУ. Золоті сторінки, 2001. 408 с.
119. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы / Р. П. Барыкина, Т. Д. Веселова, А. Г. Девятови. М. : Изд-во МГУ, 2004. 312 с.
120. Сравнение химико-аналитических методов определения танинов и антиоксидантной активности растительного сырья / Е. И. Рябинина, Е. Е. Зотова, Е. Н. Ветрова. *Аналитика и контроль*. 2011. Т. 15, № 2. С. 202-204.
121. Суцук Н. А., Кисличенко В. С., Кузнєцова В. Ю. Дослідження полісахаридних комплексів та органічних кислот листя та пагонів смородини чорної. *Український медичний альманах*. 2011. Т. 14, № 6. С. 188-190.
122. Ткачев А. В., Прокушева Д. Л., Домрачев Д. В. Дикорастущие эфирномасличные растения Южной Сибири. Издательство ООО «Офсет-ТМ», Новосибирск. 2017. С. 112.
123. Ткаченко М. В. Порівняльний аналіз вмісту та складу летких сполук дикорослих і культивованих рослин *Portulaca oleracea*. *Український біофармацевтичний журнал*. 2013. № 2. С. 83-86.
124. Товстуха Є. С. Золоті рецепти української народної медицини. К.: КМ Publishing, 2010. С. 50-51.
125. Травник. Бедринець ломикаменевий. URL: <http://dna.com.ua/3971-bedrinec-lomikameneviy.html> *Фармакогнозія* (Дата звернення: 26.01.2020)
126. Травы и здоровье. Лекарственные растения / Авт.-сост.: А. М. Задорожный. Махаон; Гамма Пресс 2000, 2001. 512 с.

127. Унікальний протівовоспалительний інгредієнт бисаболол. URL: <http://aesthetic-futures.com.ua/unikalniy-protivovospalitelniy-ingridient-bisabolol> (Дата звернення: 26.01.2020)

128. Фармацевтична енциклопедія / Гол. ред. Ради та автор передмови В. П. Черних. 3-тє вид., переробл. І доповн. К.: «МОРІОН», 2016. 1952 с.

129. Федосеева Л. М., Харлампович Т. А. Разработка методики количественного определения суммы кумаринов в донника лекарственного траве (*Melilotus officinalis* L.). *Химия растительного сырья*. 2012. № 3. С. 135-141.

130. Федосов А. І. Дослідження амінокислотного складу артишоку суцвіть. *Фармацевтичний часопис*. 2017. № 3. С. 25-30.

131. Федосов А. І. Кисличенко В. С., Новосел О. М. Дослідження жирнокислотного складу часнику листя та цибулин. *Медична та клінічна хімія*. 2017. Т. 19, № 4 (73). С. 5-9.

132. Федосов А. І., Кисличенко В. С., Новосел О. М. Визначення якісного складу та кількісного вмісту амінокислот у часнику цибулинах і листі. *Медична та клінічна хімія*. 2017. Т. 19. № 3. С. 42-47.

133. Фещенко Г., Фещенко Б. М. Вивчення протизапальної активності ліофілізованого екстракту трави хамерію вузьколистого. *Матеріали XXI Міжнародного медичного конгресу студентів і молодих вчених присвяченого 60-річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України; 24-26 квітня 2017; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2017. С. 241.*

134. Филиппова Г. Г., Смолин И. И. Основы биохимии растений. Минск.: БГУ, 2004. 136 с.

135. Фитохимический анализ лекарственного растительного сырья. Санкт-Петербург: Изд-во С-Пб хим.-фарм. Академии, 1998. 59 с.

136. Фітотерапія подагри (огляд літератури та результати власних досліджень) / О. І. Волошин, О. В. Пішак, Г. І. Арич, Л. О. Волошина. *Фітотерапія. Часопис*. 2011. № 2. С. 15-21.

137. Флора УРСР. К.: Вид-во АН УРСР, 1955. Т. 7. С. 537-538.
138. Фурст Г. П. Методы анатомо-гистохимического исследования растительных тканей. М.: Наука, 1979. 154 с.
139. 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.
140. Черногород Л. Б., Виноградов Б. А. Эфирные масла некоторых видов рода *Achillea* L., содержащие фразанол. *Раст. ресурсы*. 2006. № 42, вып. 2. С. 61-68.
141. Чопик В. І., Федорончук М. М. Флора Українських Карпат. Тернопіль: ТЗОВ «Терно-граф», 2015. С. 330.
142. Шиморова Ю. Є., Кисличенко В. С., Кузнецова В. Ю. Мінеральний склад коренеплодів та плодів пастернаку посівного (*PASTINACA SATIVA* L.) сорту «Петрик» *Медична та клінічна хімія*. 2017. Т. 19. № 2. С. 101-104.
143. Шишкин Б. К. Бедренец – *Pimpinella* L. Флора СССР. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1950, Т. 16. С. 427-428.
144. Щавель і Цілющі рослини України. Львів БаК, 2012. С. 10-11.
145. 100 самых популярных лечебных растений / сост.: В. Рыжская. Донецк : Мультипресс, 2010. 287 с.
146. Accurate, Sensitive, and Reproducible HPLC Analysis of Amino Acids. Amino Acids Analysis Using Zorbax Eclipse - AAA Columns and the Agilent 1100 HPLC / John W. Henderson, Robert D. Ricker, Brian A. Bidlingmeyer et al. *Agilent Technical Note*. 1999. P. 980-1193.
147. Al-Snafi, A. E. The pharmacological and therapeutic importance of *Agrimonia eupatoria* – A review. *Asian J. of Pharmac. Sci. and Technol.* 2015. Vol. 5, Issue 2. P. 112-117.
148. Analysis of the monosaccharide composition of purified polysaccharides in *Ganoderma atrum* by capillary gas chromatography / Y. I. Chen, M. Y. Xie, X. Wang et al. *Phytochem Anal.* 2009, Vol. 20 (6). P. 38-40.

149. Antibacterial and antioxidative characterisation of essential oils from *Mentha piperita* and *Mentha spicata* grown in Iran / I. Rasooli, L. Gachkar, D. Yadegarinia et al. 2008. *Acta Alimentaria*. № 37(1). P.41-52.
150. British Pharmacopoeia: 2015 Edition. UK Stationery Office, 2015.
151. Chanaj-Kaczmarek J., Wojcinska M., Matlawska I. Phenolics in the *Tussilago farfara* leaves. *Herba polonica*. 2013. Vol. 59, № 1. P. 35-43.
152. Chizzola R. Metallic Mineral Elements and Heavy Metals in Medicinal Plants *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology* 6 (Special Issue 1). 2012. P. 39-53.
153. Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research / M. Naveed, V. Hejazi, M. Abbas et al. *Biomed. Pharmacother.* 2018. Vol. 97. P. 67-74.
154. Comparative analysis of essential oil components of two *Daucus species* from Algeria and their antimicrobial activity / N. Meliani, A. DibMohammed El, H. Allali, B. Tabti. *International Research Journal of Biological Sciences*. 2013. Vol. 2(1). P. 22-29.
155. Determination of amino acids and sugars content in *Antennaria dioica* Gaertn. / L. Slobodianiuk, L. Budniak, S Marchyshyn, R. Basaraba. *Int. J. App. Pharm.* 2019. Vol. 11, Issue 5. P. 39-43.
156. Determination of amino acids in medicinal plants from Southern Sonora, Mexico / Edgar F. Moran-Palacio, Orlando Tortoledo-Ortiz, Greda A. Yanez-Farias et al. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2014. Vol. 13 (4). P. 601-606.
157. Determination of phenolic compounds from *Stachys sieboldii* MIQ. herb and tubers / L. Husak, I. Dakhym, S. Marchyshyn et al. *The Pharma Innovation Journal*. 2017. Vol. 6 (9). P. 450-453.
158. Differentiation of *Pimpinella saxifraga* L. s.l. in comparative morphological and phytochemical analysis / K. Latowski, E. Komorowska, A. Grys et al. *Herba Polonica*. 2009. Vol. 55, № 3. P. 11-19.
159. Disposition of Pharmacologically Active Dietary Isoflavones in Biological Systems / Taneja I. Wahajuddin, S. Arora, K. S. Raju, N. Siddiqui. *Curr. Drug Metab.* 2013. Vol. 14. P. 369-380.

160. Elsevier B.V. Traditional use, biological activity potential and toxicity of *Pimpinella* species (English). *Industrial Crops and Products*. 2015. № 69. P. 153-166.

161. Engler H., Szelenyi I. Tracheal phenol red secretion, a new method for screening mucosecretolytic compounds. *J. Pharmacol Methods*. 1984. № 11(3). P. 151-157.

162. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe, Strasbourg, 1986. EST. № 123. 53 p.

163. Evaluation of the analytical method for a chromatographic profile assessment of the essential oil obtained from *Pimpinella saxifraga* s.l. / A. Grys, E. Komorowska, S. Mielcarek et al. *Herba Polonica*. 2009. Vol. 55, № 3. P. 109-117.

164. FAO., FAO technical meeting on prebiotics. Food and Agriculture Organization (FAO), Food Quality and Standards Service, Food and Agriculture Organization of the United Nations (AGNS).

165. Gas Chromatographic mass spectrometric analysis of essential oils from *Pimpinella* species gathered from Central and Northern Turkey / N. Tabanca, B. Demirci, T. Ozek et al. 2006. *J. Chromatography A*. Vol. 1117. P.194-205.

166. GS/MS analysis of fatty acids in flowers and leaves of *Chrysanthemum × hortorum* Bailey Belgo and *Pectoral'* variants / S. Marchyshyn, O. Polonets, O. Zarichanska, and M. Garnyk. *The Pharma Innovation Journal*. 2017. Vol. 6 (11). P. 463-466.

167. Gudej Jan, Tomczyk Michal. Determination of flavonoids, tannins and ellagic acid in leaves from *Rubus* L. species. *Arch. Pharm. Res*. 2004. Vol. 27, № 11. P. 1114-1119.

168. Handbook of Herbs and Spices (Second Edition). / Ed. by K. V. Peter. Woodhead Publishing, 2012. Vol. 2. 600 p.

169. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals, Third Edition. / Ed. By Max Wichtl. CRC Press. Medpharm Scientific Publisher, 2004. 708 p.

170. HPLC analysis of phenolic compounds from *Stevia rabaudiana* Bertoni leaves / S. Marchyshyn., N. Hudz, I. Dakhym [et al.]. *The Pharma Innovation Journal*. 2018. № 7(3). P. 515-7.

171. Indian Herbal Remedies: Rational Western Therapy, Ayurvedic, and Other Traditional Usage, Botany / Ed. by C. P. Khare. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2004. 533 p.

172. Investigation of phenolic compounds of the leaves of *Crambe cordifolia* Steven and *Crambe koktebelica* (Junge) N./ S. Marchyshyn, O. Skrynychuk, L. Budniak, L. Mosula. *The Pharma Innovation Journal*. 2020. № 9(1). P. 14-17.

173. Jámboř A., Molnár-Perl I. Amino acid analysis by high-performance liquid chromatography after derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride. Literature overview and further study. *Journal of Chromatography A*, 1216. 2009. P. 6218-6223.

174. Jámboř A., Molnár-Perl I. Quantitation of amino acids in plasma by high performance liquid chromatography: Simultaneous deproteinization and derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride. *Journal of Chromatography A*, 1216. 2009. P. 3064-3077.

175. Kubeczka, K.-H., Bohn, I., Schultze, W. The Compositions of the Essential Root Oils from *Pimpinella saxifraga* s.l. and Chemotaxonomic Implications. *Zeitschrift für Naturforschung*. 2014. Vol. 44. № 3-4. P. 177-182

176. Liposome encapsulated luteolin showed enhanced antitumor efficacy to colorectal carcinoma / G. Wu, J. Li, J. Yue [et al.]. *Mol. Med. Rep.* 2018. Vol. 17 (2). P. 2456-2464.

177. Lopez-Lazaro M. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini. Rev. Med. Chem.* 2009. № 9. P. 31-59.

178. Luteolin as an anti-inflammatory and neuroprotective agent : A brief review / S. F. Nabavi, N. Braidy, O. Gortzi [et al.]. *Brain. Res. Bull.* 2015. Vol. 119. P. 1-11.

179. Marchyshyn S. M., Milian I. I. The content of fatty acids in lipophilic extracts of *Veronica chamaedrys* L. and *Veronica officinalis* L. *Journal of Education, Health and Sport*. 2016. Vol. 6, № 3. P. 91-96.

180. Masoudi S., Rustaiyan A., Mazloomifar H. Composition of the essential oils of *Pimpinella anisactis* Rech.f. and *Pimpinella saxifraga* L. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*. 2009. Vol. 21, No. 2. P. 146-148.

181. Mozaffarian D. Does α -linolenic acid intake reduce the risk of coronary heart disease? A review of the evidence. *Alternative therapies in health and medicine*. 2005. № 11. P. 24-30.

182. Panasyuk E. Carbohydrate in above-ground and underground organs of *Pimpinella saxifraga* L. *Plant – the source of research material*. 4-th International Conference and Workshop. 20-23.09.2015. Lublin. P. 92.

183. Pânzaru P., Negru A., Izverschii T. Taxoni rari din flora Republicii Moldova. Chişinău, 2002. 148 p.

184. Partono C., Partignani P., Garcia-Rodrigues L. A. Cyclooxygenase selective inhibition of prostanoid formation: transducing biochemical selectivity into clinical readout. *J. Clin. Invest.*, 2001. № 108. P. 12-17.

185. Panasyuk E. Carbohydrate in above-ground and underground organs of *Pimpinella saxifraga* L. *Plant – the source of research material: 4th International Conference and Workshop*. 20-23.09. 2015. Lublin. P. 92.

186. Pharmacodynamic profile of a novel inhibitor of the hepatic glucose-6-phosphatase system / A. W. Herling, H. J. Burger, D. Schwab et al. *Amer. J. Physiol.* 1998. Vol. 274. P. 1087-1093.

187. Phytochemical Analysis, Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. and *Antennaria dioica* (L.) Gaertn. Flowers / M. Babotă, A. Mocan, L. Vlase et al. *Molecules*. 2018. Vol. 23(2). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6017730/> (дата звернення: 02.05. 2019).

188. *Pimpinella saxifraga* (Apiaceae): A new record from Jeju Island, Korea / Chunghee Lee, Yujin Song, Yun-Chang Jeon et al. *Korean Journal of Plant Taxonomy*. 2018; № 48(1). P. 43-47.

189. *Pimpinella saxifraga*/ URL: <https://fermer.org.ua> (Дата звернення: 28.01.2020).

190. Polysaccharides in *Centaurium erythraea* Rafn. / L. Stoiko, I. Dakhym, O. Pokotylo, S. Marchyshyn *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy*. 2017. Vol. 8 (Suppl 2). P. 252-255.

191. Qualitative composition and organic acids content in the aboveground part of plants from families *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Apiaceae* and *Chenopodiaceae* / S. M. Marchyshyn, M. I. Shanayda, I. Z. Kernychna et al. *International journal of medicine and medical research*. 2016. Vol. 2 (Issue 1). P. 19-22.

192. Role of fumaric acid in anti-inflammatory and analgesic activities of a *Fumaria indica* extracts / A. Shakya, G. K. Singh, S. S. Chatterjee, V. Kumar. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*. 2014. Vol. 3, No. 4. P. 173-178.

193. Sarwa A. J. Wielki leksykon roślin leczniczych. Warszawa 2001. P.292-295.

194. Sensitive Determination of Catechins in Tea by HPL. Thermo scientific. DIONEX corporation, 2011. AN 275. 9 p.

195. Simultaneous Determination of Bioactive Flavonoids in Some Selected Korean Thistles by Hight-Performance LiquidChromatography / N.T.Ph. Thao, T.D. Cuong, T.M. Hung et al. *Arch Pharm. Res*. 2011. Vol. 34. № 3. P. 455-461.

196. Soetan K. O., Olaiya C. O., Oyewole O. E. The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants: A review. *African J. of Food Science*. 2010. Vol. 4(5). P. 200-222.

197. Suresh J. Fhuja J., Paramakris Hnan N., Sebastian M. Total phenolic and total flavonoids content of aerial parts of *Artemisia abrotanum* Linn, and *A. pallens* all. *Analvt. Chent. Lett*. 2012. 2 (3). P. 186-191.

198. Tepe A. S., Tepe B. Traditional use, biological activity potential and toxicity of *Pimpinella* species. *Industrial Crops and Products*. 2015. Vol. 69. P. 153-166.

199. The carbohydrates and aminoacids study in common lilac of Charles Joile variety flowers and leaves / A. Popyk, V. Kyslychenko, V. Korol et al. *American Journal of Science and Technologies*. 2015. №2 (20). C. 779-785.

200. The expectorant activity of naringenin / B.Q. Lin, P.B. Li, Y.G. Wang et al. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*. 2008. Vol. 21, № 2. P. 259-263.

201. Tisserand R., Young R. *Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals*. Second Edition. Elsevier Health Sciences UK, 2013. 784 p.

202. V. Plantele rare din flora spontana a Republicii Moldova. Chisinau, 2002. CE USM. 198 p.

203. *Ziolołecznictwo. Poradnik dla lekarzy* / Pod redakcja doc. Dra hab. Aleksandra Ozarowskiego. Warszawa, 1980. S. 203-204.

Додаток А



Додаток Б.1

“ЗАТВЕРДЖУЮ”
 Проректор з наукової роботи
 Вінницького національного медичного
 університету ім. М.І. Пирогова
 проф., д.мед.н. Власенко О.В.
 “05” квітня 2018 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** морфолого-анатомічна будова та хімічний склад трави і кореневищ бедринцю ломикаменевого.
2. **Установа, автор:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою, здобувач Панасюк Е. А.
3. **Джерела інформації:**
 1. Марчишин С.М. Морфолого-анатомічне дослідження бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifrage* L.) / С.М. Марчишин, Т.М. Гонтова, Е. А. Панасюк // Фармацевтичний часопис. – 2015. - № 2. – С. 9-16.
 2. Марчишин С.М. Дослідження карбонових кислот у надземних і підземних органах бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifrage* L.) / С.М. Марчишин, Е.А. Панасюк // Фармація ХХІ століття : тенденції та перспективи : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України (Харків, 13-16 вересня, 2016 р.): у 2 т. Т. 1 / М-во охорони здоров'я України, Нац. фармац. ун-т; кол.: В.П. Черних (голова) та ін.; С.Ю. Данильченко та ін. – Харків: НФаУ, 2016. – С. 112.
 3. Панасюк Е.А. Визначення вмісту гідроксикоричних кислот у траві та підземних органах бедринцю ломикаменевого / Е.А. Панасюк, С.М. Марчишин // Хімія природних сполук: матер. IV Всеукраїнської науково-практичної конф. з міжнародною участю (м. Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р.) / редкол. : С.М. Марчишин, Л.С. Фіра, К.А. Посохова, О.М. Олещук. – Тернопіль: ТДМУ, 2016. – С. 42-43.
- Вивчено морфолого-анатомічну будову трави і кореневищ бедринцю ломикаменевого, визначено їх основні макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки; встановлено хімічний склад досліджуваної сировини.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармацевтичної хімії ВНМУ ім. М.І. Пирогова.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, у лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань морфолого-анатомічної будови та хімічного складу лікарських рослин родини селерові.
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 навчальний рік.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармацевтичної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, протокол № 7 від 3 квітня 2018 р.

Відповідальний за впровадження,
 зав. кафедри фармацевтичної хімії

доц. Ющенко Т.І.

Додаток Б.2

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з наукової роботи
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
проф., д.мед.н. Власенко О.В. 
“ 13 ”  2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** морфолого-анатомічна будова та хімічний склад трави і кореневищ бедринцю ломикаменевого.
 2. **Установа, автор:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою, здобувач Панасюк Е. А.
 3. **Джерела інформації:**
 1. Марчишин С.М. Морфолого-анатомічне дослідження бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifrage* L.) / С.М. Марчишин, Т.М. Гонтова, Е. А. Панасюк // Фармацевтичний часопис. – 2015. - № 2. – С. 9-16.
 2. Марчишин С.М. Дослідження карбонових кислот у надземних і підземних органах бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifrage* L.) / С.М. Марчишин, Е.А. Панасюк // Фармація ХХІ століття : тенденції та перспективи : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України (Харків, 13-16 вересня, 2016 р.): у 2 т. Т. 1 / М-во охорони здоров'я України, Нац. фармац. ун-т; кол.: В.П. Черних (голова) та ін.; С.Ю. Данильченко та ін. – Харків: НФаУ, 2016. – С. 112.
 3. Панасюк Е.А. Визначення вмісту гідроксикоричних кислот у траві та підземних органах бедринцю ломикаменевого / Е.А. Панасюк, С.М. Марчишин // Хімія природних сполук: матер. IV Всеукраїнської науково-практичної конф. з міжнародною участю (м. Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р.) / редкол. : С.М. Марчишин, Л.С. Фіра, К.А. Посохова, О.М. Олещук. – Тернопіль: ТДМУ, 2016. – С. 42-43.
- Вивчено морфолого-анатомічну будову трави і кореневищ бедринцю ломикаменевого, визначено їх основні макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки; встановлено хімічний склад досліджуваної сировини.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармації ВНМУ ім. М.І. Пирогова.
 5. **Форма впровадження:** навчальний процес, у лекційному курсі.
 6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань морфолого-анатомічної будови та хімічного складу лікарських рослин родини селерові.
 7. **Строки впровадження:** 2017-2018 навчальний рік.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармації Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, протокол № 12 від 07.05.2018

Відповідальний за впровадження,
зав. кафедри фармації



доц. Кривов'яз О.В.

Додаток Б.3



«Затверджую»

Проректор з науково-педагогічної
роботи Національного
фармацевтичного університету,
проф. Загайко А. Л.

« 05 » 20 18 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** морфолого-анатомічна будова трави і кореневищ бедринцю ломикаменевого.
2. **Установа, автор:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою, здобувач Панасюк Е. А.
 1. Марчишин С.М. Морфолого-анатомічне дослідження бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.) / С.М. Марчишин, Т.М. Гонтова, Е. А. Панасюк // Фармацевтичний часопис. – 2015. - № 2. – С. 9-16.
Вивчено морфолого-анатомічну будову родовика лікарського та визначено основні макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки кореневищ і коренів, стебла, квітки та листя.
4. **Де впроваджено:** кафедра ботаніки Національного фармацевтичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, у лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань морфолого-анатомічної будови родини селерові.
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 навчальний рік.

Завідувач кафедри ботаніки,
д. фарм. н., професор

Т.М. Гонтова

Додаток Б.4

«Затверджую»

Проректор з науково-педагогічної роботи,
міжнародних зв'язків та аспірантури
Національного медичного університету ім.

О.О. Богомольця

д.м.н., проф. Скрипник Р. Л.



» 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: морфолого-анатомічна будова та хімічний склад трави і кореневищ бедринцю ломикаменевого.

2. Установа, автор: ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою, здобувач Панасюк Е. А.

3. Джерела інформації:

1. Марчишин С.М. Морфолого-анатомічне дослідження бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.) / С.М. Марчишин, Т.М. Гонтова, Е. А. Панасюк // Фармацевтичний часопис. – 2015. – № 2. – С. 9-16.

2. Марчишин С.М. Дослідження карбонових кислот у надземних і підземних органах бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.) / С.М. Марчишин, Е.А. Панасюк // Фармація ХХІ століття : тенденції та перспективи : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України (Харків, 13-16 вересня, 2016 р.): у 2 т. Т. 1 / М-во охорони здоров'я України, Нац. фармац. ун-т; кол.: В.П. Черних (голова) та ін.; С.Ю. Данильченко та ін. – Харків: НФаУ, 2016. – С. 112.

3. Панасюк Е.А. Визначення вмісту гідроксикоричних кислот у траві та підземних органах бедринцю ломикаменевого / Е.А. Панасюк, С.М. Марчишин // Хімія природних сполук: матер. IV Всеукраїнської науково-практичної конф. з міжнародною участю (м. Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р.) / редкол. : С.М. Марчишин, Л.С. Фіра, К.А. Посохова, О.М. Олещук. – Тернопіль: ТДМУ, 2016. – С. 42-43.

Вивчено морфолого-анатомічну будову трави і кореневищ бедринцю ломикаменевого, визначено їх основні макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки; встановлено хімічний склад досліджуваної сировини.

4. Де впроваджено: в науково-педагогічний процес кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця.

5. Форма впровадження: навчальний процес, у лекційному курсі.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань студентів з питань морфолого-анатомічної будови та хімічного складу лікарських рослин родини селерові.

7. Строки впровадження: 2018-2019 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармакогнозії та ботаніки
НМУ ім. О.О. Богомольця, доктор біологічних наук
професор

Мінарченко В.М.

Додаток В.1

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

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Ректор Тернопільського
національного медичного університету
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор
М.М. Корда
«22» сідня 2020 р.

**ПРОЕКТ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ**

Бедрицю ломикаменевого трави екстракт густий
Pimpinellae saxifragae herba extractum densum

Термін введення встановлено з
« » 20 р.
« » 20 р.

Додаток В.2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Ректор Тернопільського
національного медичного університету
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор



М. М. Корда

«22» _____ 2020 р.

**Заявник, країна: Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
Виробник, країна: Україна**

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

**Бедринцю ломикаменевого трави екстракт густий
Pimpinellae saxifragae herba extractum densum**

Додаток В.3

МАРКУВАННЯ

У відповідності з макетом графічного оформлення упаковки.

ЗБЕРІГАННЯ

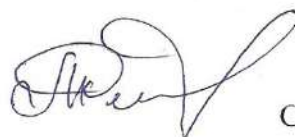
У прохолодному, сухому, захищеному від світла місці.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

3 роки.

Розробники:

Професор,
доктор фармацевтичних наук,
завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



С. М. Марчишин

Здобувач кафедри
Фармакогнозії з медичною
ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



Е. А. Паращук

Додаток В.4

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

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Ректор Тернопільського
національного медичного університету
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор
М. М. Корда
«22» січня 2020 р.

**ПРОЕКТ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ**

**Бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів екстракт густий
Pimpinellae saxifragae rizomata et radices
extractum densum**

Термін введення встановлено з
«__» _____ 20__ р.
«__» _____ 20__ р.

Додаток В.5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Ректор Тернопільського
національного медичного університету
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор



М. М. Корда

« 22 » _____ 2020 р.

**Заявник, країна: Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
Виробник, країна: Україна**

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

**Бедринцю ломикаменевого кореневищ та коренів екстракт густий
Pimpinellae saxifragae rizomata et radices
extractum densum**

МАРКУВАННЯ

У відповідності з макетом графічного оформлення упаковки.

ЗБЕРІГАННЯ

У прохолодному, сухому, захищеному від світла місці.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

3 роки.

Розробники:

Професор,
доктор фармацевтичних наук,
завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



С. М. Марчишин

Здобувач кафедри
фармакогнозії з медичною
ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України




Е. А. Парашук

Додаток В.7

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

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Ректор Тернопільського
національного медичного університету
ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор
М. М. Корда
2020 р.



**ПРОЄКТ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ**

Бедринцю ломикаменевого трава

Pimpinellae saxifragae herba

трава по 50 г у пакетах

Термін введення встановлено з

«__» _____ 202__ р.

«__» _____ 202__ р.

Додаток В.8

Примітка. Реактиви, наведені в цьому документі, описані у відповідних розділах ДФУ*.

УПАКОВКА

По 50 г у пакет із плівки поліпропіленової пакувальної. Пакет разом з інструкцією для медичного застосування вкладають у картонну пачку, допускається текст інструкції для медичного застосування друкувати на пачці.

МАРКУВАННЯ

У відповідності з макетом графічного оформлення упаковки.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

У захищеному від світла та вологи місці, при температурі не вище 25 °С.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Розробники:

Професор,
доктор фармацевтичних наук,
завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



С. М. Марчишин

Здобувач кафедри
фармакогнозії з медичною
ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



Е. А. Парашук

Додаток В.9

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

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор Тернопільського
національного медичного університету
ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор
М. М. Корда
2020 р.



**ПРОЄКТ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ**

Бедринцю ломикаменевого кореневища і корені
Pimpinellae saxifragae rhizomata et radices

кореневища та корені по 50 г у пакетах

Термін введення встановлено з

«__» _____ 202__ р.

«__» _____ 202__ р.

Додаток В.10

Примітка. Реактиви, наведені в цьому документі, описані у відповідних розділах ДФУ*.

УПАКОВКА

По 50 г у пакет із плівки поліпропіленової пакувальної. Пакет разом з інструкцією для медичного застосування вкладають у картонну пачку, допускається текст інструкції для медичного застосування друкувати на пачці.

МАРКУВАННЯ

У відповідності з макетом графічного оформлення упаковки.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

У захищеному від світла та вологи місці, при температурі не вище 25 °С.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

3 роки.

Розробники:

Професор,
доктор фармацевтичних наук,
завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



С. М. Марчишин

Здобувач кафедри
фармакогнозії з медичною
ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



Е. А. Парашук

Додаток Д

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

1. Марчишин С. М., Гонтова Т. М., Панасюк Е. А. Морфолого-анатомічне дослідження бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.). *Фармацевтичний часопис*. 2015. №2. С. 9-16 (*Особистий внесок – здійснювала літературний огляд, виконувала експериментальну частину, брала участь в обговоренні отриманих результатів та підготувала статтю до друку*).

2. Вміст кислот гідроксикоричних у траві та кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.) / Паращук Е. А., Марчишин С. М., Кирилів М. В., Бекус І. Р. *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20. № 3. С. 90-95 (*Особистий внесок – виконувала експериментальну частину, брала участь в обговоренні отриманих результатів та підготувала статтю до друку*).

3. Паращук Е. А., Марчишин С. М., Слободянюк Л. В. Дослідження летких компонентів бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.). *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20. № 4. С. 107-113 (*Особистий внесок – виконувала експериментальну частину, брала участь в обговоренні отриманих результатів та підготувала статтю до друку*).

4. Визначення антимікробної активності бедринцю ломикаменевого екстракту густого / Паращук Е. А., Ткачук Н. І., Марчишин С. М., Козир Г. Р. *Фармацевтичний часопис*. 2019. № 1 (49). С. 85-91 (*Особистий внесок – виконала експериментальну частину, провела аналіз результатів дослідження протимікробної та протигрибкової дії, підготувала статтю до друку*).

5. Паращук Е. А., Марчишин С. М., Слободянюк Л. В. Дослідження похідних кумаринів бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.). *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 1. С. 66-70 (*Особистий внесок – виконала експериментальну частину, описала одержані результати, брала участь в написанні статті*).

Продовж. дод. Д

6. Phenolic compounds from *Pimpinella saxifraga* L. / S. Marchyshyn, E. Parashchuk, I. Dakhym, L. Husak. *The Pharma Innovation Journal*. 2018. № 7(6). P. 600-602 (*Особистий внесок - виконувала експериментальну частину, брала участь в узагальненні одержаних результатів та в написанні статті*).

7. Пат. На корисну модель № 139946 Україна, МПК А61К 36/00, С11В 1/04, С11В 1/10, А61Р 11/10. Спосіб одержання рослинної субстанції з відхаркувальною та антимікробною активністю / Марчишин С. М., Паращук Е. А., Козир Г. Р., Слободянюк Л. В., Ткачук Н. І., Волощук Н. І. № u 2019 08377 ; заявл. 16.07.19; опубл. 27.01.20, Бюл. № 2 (*Особистий внесок – брала участь в патентному пошуку, одержанні засобу та в оформленні патенту*).

8. Панасюк Е. А. Вміст дубильних речовин у траві і підземних органах бедринцю ломикаменевого. *XIX Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених, присвячений пам'яті ректора, члена-кореспондента НАМН України, професора Леоніда Якимовича Ковальчука*: матер. XIX конгр., 27-29 квіт. 2015 р. Т., «Укрмедкнига», 2015. С. 339.

9. Panasyuk E. Carbohydrate in above-ground and underground organs of *Pimpinella saxifraga* L. *Plant – the source of research material: 4th International Conference and Workshop*. 20-23.09. 2015. Lublin. P. 92.

10. Марчишин С. М., Панасюк Е. А. Визначення вмісту гідроксикоричних кислот у траві та підземних органах бедринцю ломикаменевого. *Хімія природних сполук*: матеріали IV Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародною участю, 21-22 квіт. 2016 р. Т., «Укрмедкнига», 2016. С. 142 (*Особистий внесок – виконала експериментальну частину, описала одержані результати, брала участь в написанні тез*).

11. Марчишин С. М., Панасюк Е. А. Дослідження карбонових кислот у надземних і підземних органах бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.) *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи*: матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, 13-16 верес. 2016 р. Х., 2016. С. 112 (*Особистий*

Продовж. дод. Д

внесок – виконала експериментальну частину, описала одержані результати, брала участь в написанні тез).

12. Марчишин С. М., Панасюк Е. А., Демидяк О. Л. Дослідження елементного складу бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.). *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнародною участю, 10-11 листоп. 2016 р. Т., «Укрмедкнига», 2016. С. 62 (*Особистий внесок – виконала експериментальну частину, описала одержані результати, брала участь в написанні тез).*

13. Балик Ю. Паращук Е. Визначення технологічних характеристик бедринцю ломикаменевого підземних органів. *XXIII Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених*: матер. XXIII конгр., 15-17 квіт. 2019 р. Т., «Укрмедкнига», 2019. С. 209 (*Особистий внесок – виконала експериментальну частину, описала одержані результати, брала участь в написанні тез).*

14. Паращук Е. А. Визначення вмісту біологічно активних речовин вторинного синтезу у траві та підземних органах бедринцю. *Хімія природних сполук*: матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародною участю, 30-31 квіт. 2019 р. Т., «Укрмедкнига», 2019. С. 46.

15. Паращук Е. А., Марчишин С. М. Дослідження відхаркувального ефекту густих екстрактів з трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого. *Актуальні питання фармакології та фармакотерапії*: матеріали Всеукр. науково-практ. конф., 26-27 верес. 2019 р. Т., «Укрмедкнига», 2019 С. 60-61. (*Особистий внесок – виконала експериментальну частину, описала одержані результати, брала участь в написанні тез).*

Додаток Е

АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. XIX Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених, присвячений пам'яті ректора, члена-кореспондента НАМН України, професора Л. Я. Ковальчука (Тернопіль, 27-29 квітня 2015 р.; форма участі – публікація тез).

2. 4th International conference and workshop «Plant – the source of research material» (Lublin (Poland), 20-23. 09 2015); форма участі – публікація тез).

3. IV Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р.; форма участі – публікація тез).

4. VIII Національний з'їзду фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (Харків, 13-16 вересня, 2016 р.; форма участі – публікація тез).

5. VI науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 10-11 листопада 2016 р.); форма участі – публікація тез).

6. XXIII Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 15-17 квітня 2019 р.); форма участі – публікація тез).

7. V Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 30-31 квітня 2019 р.; форма участі – публікація тез).

8. Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання фармакології та фармакотерапії» (Тернопіль, 26-27 вересня 2019 р.; форма участі – публікація тез).