

Івано-Франківський національний медичний університет
Міністерство охорони здоров'я України
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Свірська Софія Петрівна

УДК 615.322:582.948.2

ДИСЕРТАЦІЯ

Фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик

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

_____ С. П. Свірська

Науковий керівник: Грицик Андрій Романович, доктор фармацевтичних наук,
професор

Івано-Франківськ – 2019

АНОТАЦІЯ

Свірська С. П. Фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. – Івано-Франківський національний медичний університет, Івано-Франківськ, 2019. Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, 2019.

Дисертаційну роботу присвячено фармакогностичному дослідженню видів роду Воловик, а саме: воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) та воловика високого (*Anchusa procera* Bess.).

Критичний аналіз сучасних наукових першоджерел засвідчив, що в Україні детальні дослідження морфологічної та анатомічної будови рослин роду Воловик, біологічних особливостей їх зростання, ресурсів, хімічного складу та фармакологічної активності практично відсутні. Водночас, результати закордонних досліджень вказують на актуальність застосування в медицині видів роду Воловик та потребу в їх подальшому фармакогностичному дослідженні.

За допомогою хімічних та фізико-хімічних методів дослідження, встановлено якісний склад і кількісний вміст груп біологічно активних речовин рослин роду Воловик. У сировині ідентифіковані фенольні сполуки, вуглеводи, тритерпеноїди, стероїди та карбонові кислоти.

Вперше методом адсорбційної хроматографії на силікагелі та поліамідному сорбенті з трави воловика лікарського виділено 20 сполук, які ідентифіковані на основі їх фізико-хімічних властивостей: 3 фенолкарбонові кислоти, 3 гідроксикоричні кислоти, 6 флавоноїдів, 4 тритерпеноїди, 1 стероїдна сполука, 2 хлорофіли і 1 азотовмісна сполука.

Вперше методом високоефективної рідинної хроматографії у траві та коренях воловика лікарського визначено 14 сполук фенольної природи:

3 гідроксикоричні кислоти, 4 флавоноїди та 7 танінів. У результаті досліджень гідроксикоричних кислот у траві воловика лікарського виявлено та встановлено вміст розмаринової, кавової та ферулової кислот, у коренях – розмаринової та кавової кислот; встановлено, що домінуючою сполукою є розмаринова кислота – 4558,86 мг/кг (0,46 %) та 1964,66 мг/кг (0,2 %) сухої сировини відповідно.

У траві воловика лікарського ідентифіковані 3 флавоноїди: флавони – апігенін, лютеолін; флавонол – ізокверцитрин; у коренях – 4 флавоноїди: флавони – апігенін, лютеолін; флавоноли – кверцитрин, ізокверцитрин; домінуючою сполукою у траві воловика лікарського є ізокверцитрин – 256,0 мг/кг, у коренях – апігенін – 389,54 мг/кг сухої сировини.

У результаті дослідження танінів ідентифіковано 1 сполуку, яку віднесено до групи танінів, що гідролізуються, та 6 сполук, що віднесено до групи конденсованих танінів (катехінів). Домінуючою речовиною у траві та коренях воловика лікарського є епігалокатехін – 21864,28 мг/кг (2,2 %) та 29850,06 мг/кг (3,0 %) сухої сировини відповідно.

Вперше методом газової хроматографії з мас-спектрометрією досліджено компонентний склад трави воловика лікарського, виявлено та визначено вміст 4 фітостеролів – це ситостерол, кампестерол, стигмаста-5,24(28)-дієн-3-ол та стигмастерол. Загальний вміст фітостеролів у траві воловика лікарського становить 0,032 % від маси сухої сировини. Найвищий вміст встановлено для ситостеролу – 133,08 мг/кг сухої сировини.

У результаті досліджень методом газової хроматографії з мас-спектрометрією у траві воловика лікарського ідентифіковано та встановлено вміст 7 жирних кислот, з них: 2 поліненасичені – лінолева, γ -ліноленова та 5 насичених – пальмітинова, стеаринова, арахінова, бегенова, лігноцерінова. Загальний вміст жирних кислот у траві воловика лікарського становить 0,81 % від маси сухої сировини. Переважаючою за вмістом серед жирних кислот у сировині є ліноленова кислота – 2696,36 мг/кг сухої сировини.

Вперше у леткій фракції трави воловика лікарського методом газової хроматографії з мас-спектрометрією встановлено вміст 12 сполук, з них: 4 кетони, 3 спирти, 3 альдегіди та 2 вуглеводні сполуки. Серед спиртів – 2-гептанол, 3-гептанол та ароматичний монотерпеноїд тимол, серед кетонів – 2-гептанон, нортерпеноїд β -іонон, похідні сесквітерпеноїдів: гексагідрофарнезилацетон та фарнезилацетон, серед альдегідів – 2,4,5-триметилбензальдегід, гексадеканаль, α -гексацинамоновий альдегід, серед аліфатичних вуглеводнів – октакозан та трициклічний сесквітерпеноїд лонгіфолен. Загальний вміст ідентифікованих сполук леткої фракції трави воловика лікарського становить 0,015 %. Домінуючими сполуками є тимол та гексагідрофарнезилацетон – 29,81 мг/кг та 27,67 мг/кг сухої сировини відповідно.

Вперше методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії у траві та коренях воловика лікарського та воловика високого виявлено та встановлено вміст 19 макро- та мікроелементів. У досліджуваній сировині виявлено значний вміст кальцію – 8111,18 – 8134,10 мг/кг та магнію – 1549,13 – 1586,04 мг/кг сухої сировини. Вміст важких металів знаходиться у дозованих межах (ДФУ 2.0 – 2.4.27).

Вперше визначено кількісний вміст груп біологічно активних речовин у сировині воловика лікарського та воловика високого, заготовлених із різних місць зростання. Встановлено, що трава воловика лікарського та воловика високого містить 3,13 – 3,81 % та 2,23 – 2,8 % суми поліфенолів; таніни – 1,57 – 2,14 % та 1,2 – 1,43 %; окиснювані феноли – 1,85 – 3,53 % та 2,23 – 2,31 %; флавоноїди – 0,42 – 0,45 % та 0,31 – 0,39 %; гідроксикоричні кислоти – 1,34 – 2,19 % та 1,4 – 1,71 %; органічні кислоти – 2,05 – 2,26 % та 1,86 – 2,39 %; полісахариди – 6,57 – 8,4 % та 5,75 – 6,58 %; слиз – 2,08 – 4,12 % та 0,77 – 1,02 % відповідно. Корені воловика лікарського та воловика високого містять 2,48 – 2,65 % та 2,2 % суми поліфенолів; таніни – 1,01 – 1,19 % та 1,03 %; окиснювані феноли – 2,54 – 3,0 % та 1,83 %; флавоноїди – 0,19 – 0,21 % та 0,19 %; гідроксикоричні кислоти – 1,09 – 1,11 % та 0,96 %; органічні кислоти –

1,39 – 1,49 % та 1,41 %; полісахариди – 0,71 – 0,72 % та 0,56 %; слиз – 1,19 – 1,28 % та 1,21 % відповідно. Встановлено, що кількісний вміст груп біологічно активних речовин більше відрізняється за видами сировини і менше – за місцем зростання видів, тобто, накопичення фенольних сполук та низькомолекулярних карбонових кислот має виражену видову приуроченість.

Вперше із воловика лікарського виділено фракції водорозчинних полісахаридів, пектинових речовин, геміцелюлози А і Б, встановлено їх кількісний вміст та мономерний склад.

Розроблено технологічні параметри екстракції біологічно активних речовин з трави воловика лікарського та проведено скринінгове дослідження фармакологічних ефектів одержаних екстрактів. Встановлено, що оптимальний ступінь подрібнення сировини – частки розміром 0,5 – 3 мм; екстрагенти – вода очищена, етанол 50 % і 70 %; оптимальне співвідношення сировина - екстрагент – 1:10; оптимальна тривалість разової екстракції – 30 хв; повноти екстракції БАР можна досягти шляхом трикратного екстрагування. Новизну досліджень підтверджено патентом України на корисну модель № 125931 «Спосіб одержання екстракту трави воловика лікарського з протизапальною активністю» (25.05.2018 р.). Вперше розроблено склад, запропоновано технологію виготовлення, встановлено показники якості та фармакологічну дію мазі на основі отриманого екстракту.

Для встановлення автентичності видів роду Воловик флори України досліджено морфологічну будову 11 видів – це воловик лікарський (*Anchusa officinalis* L.), воловик високий (*Anchusa procera* Bess.), воловик Гмеліна (*Anchusa Gmelini* Ledeb.), воловик тонколистий (*Anchusa leptophylla* Roem. et Schult.), воловик світло-жовтий (*Anchusa ochroleuca* M. B.), воловик несправжньо-світло-жовтий (*Anchusa pseudoochroleuca* Shost.), воловик італійський (*Anchusa. italica* Retz. син. *Anchusa azurea* Mill.), воловик Баррельє (*Anchusa Barrelieri* (All.) Vitm.), воловик фесалійський (*Anchusa thessala* Boiss. et Sprun.), воловик маленький (*Anchusa pusilla* Gusul.) та воловик довгостовпчиковий (*Anchusa stylosa* M. B.).

Встановлено, що відмінними ознаками вивчених видів є: висота стебла – у воловика високого до 2 м, відносно м'яке опушення у воловика вузьколистого та воловика Баррельє, глибокоборозенчасте стебло у воловика вузьколистого, сірий колір рослини (від надмірного опушення) у воловика високого, лінійні листки у воловика світло-жовтого та ланцетні – у воловика несправжньосвітло-жовтого, коротша від чашечки трубочка у воловика Баррельє та значно довша (у 2 рази) – у воловика Гмеліна, жовтий віночок у воловика світло-жовтого і воловика несправжньосвітло-жовтого та голубий – у воловика італійського та воловика Баррельє, кутасто-трикутні плоди у воловика італійського, вузькодовгасті – у воловика фесалійського та довгасті – у воловика Баррельє.

Вперше встановлено місця зростання воловика лікарського та воловика високого у 4 областях України, складені характеристики виявлених фітоценозів та встановлено сировинні запаси видів, вивчено параметри інтродукції воловика лікарського в умовах Прикарпаття.

Проведено порівняльний морфолого-анатомічний аналіз трави воловика лікарського та воловика високого і встановлено їх діагностичні ознаки. Встановлено, що відмінними морфологічними діагностичними ознаками видів є довжина стебла, будова квіток та плодів; анатомічними діагностичними ознаками видів є форма клітин епідермісу стебла та типи волосків.

Вивчено числові показники доброякісності трави воловика лікарського, встановлено параметри стандартизації; на основі моніторингу за якісними показниками сировини встановлено термін її придатності.

На основі проведених фітохімічних та фармакологічних досліджень, доведено можливість застосування трави воловика лікарського як лікарської рослинної сировини. Одержано екстракт трави воловика лікарського та розроблено склад і технологію мазі з екстрактом воловика лікарського. Розроблено проекти МКЯ «Воловика лікарського трава», «Воловика лікарського екстракт сухий» та інструкції із заготівлі та сушіння трави воловика лікарського.

За результатами роботи видано монографію «Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія». Матеріали наукових досліджень впроваджено в навчальний процес та наукову роботу кафедр фармацевтичного та біологічного профілів вищих навчальних закладів України, а також в практичну роботу ТЗОВ «Фітолік» та випробувального центру ДП «Івано-Франківськстандартметрологія».

Ключові слова: воловик лікарський, воловик високий, біологічно активні речовини, екстракт, фармакологічна дія.

ANNOTATION

Svirskia S. P. – Pharmacognostic investigation of *Anchusa* genus species. – Qualification scientific work with the manuscript copyright.

Thesis for a candidate degree of sciences in pharmacy, speciality 15.00.02 – Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. – Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, 2019. Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, 2019.

Thesis is devoted to the complex pharmacognostic investigation of *Anchusa* genus species, namely *Anchusa officinalis* L. and *Anchusa procera* Bess.

The analysis of scientific literature showed that there are few modern scientific works on the morphological and anatomical structure of *Anchusa* genus species, biological peculiarities of their reproduction, resources, their chemical composition and pharmacological activity in Ukraine. Therefore, the available data in modern researches indicates the relevance and the necessity of further pharmacological investigation of *Anchusa* L. species.

Using the chemical and physic-chemical methods, the composition and quantitative content of biologically active substances of *Anchusa* genus species were established and phenolic compounds, carbohydrates, triterpenoids, steroids and carboxylic acids were detected.

Using adsorption chromatography on silica gel and polyamide sorbent in *Anchusa officinalis* L. herb 20 compounds were detected and identified: 3 phenolcarboxylic acids, 3 hydroxycinnamic acids, 6 flavonoids, 4 triterpenoids, 1 steroid, 2 chlorophylls and 1 nitrogen-containing compound.

Using high-performance liquid chromatography 14 compounds – 3 hydroxycinnamic acids, 4 flavonoids and 7 tannins in *Anchusa officinalis* L. herb and roots were identified and their quantity was set. As the result of hydroxycinnamic acids investigation in *Anchusa officinalis* L. herb, the quantity of rosmarinic, caffeic and ferulic acids was established, in *Anchusa officinalis* L. roots – the quantity of rosmarinic and caffeic acids was established. It was found that the dominant compound in the plant raw material is rosmarinic acid – 4558.86 mg / kg (0.46 %) and 1964.66 mg / kg (0.2 %) of dry herb and roots, respectively. There were 3 flavonoids identified in *Anchusa officinalis* L. herb: flavones – apigenin, luteolin; flavonol – isoquercitrin; in the roots – 4 flavonoids: flavones – apigenin, luteolin; flavonols – quercitrin, isoquercitrin. The dominant compound in *Anchusa officinalis* L. herb is isoquercitrin – 256.0 mg / kg, in the roots – apigenin – 389.54 mg / kg of dry raw material. As a result of tannins investigation, 1 compound was identified as hydrolysable tannin and 6 compounds were identified as condensed tannins (catechins). The dominant substance in *Anchusa officinalis* L. herb and roots is epigallocatechin – 21864,28 mg / kg (2.2 %) and 29850,06 mg / kg (3.0 %) of dry raw material, respectively.

For the first time, using the method of gas chromatography with mass spectrometry in *Anchusa officinalis* L. herb 4 phytosterols were identified. They are: sitosterol, campesterol, stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol and stigmasterol. The total quantity of phytosterols in *Anchusa officinalis* L. herb is 0.032 % of dry raw material. The highest content is set for sitosterol – 133.08 mg / kg of dry raw material.

Using the method of gas chromatography with mass spectrometry in *Anchusa officinalis* L. herb 7 fatty acids were identified. There were 2 polyunsaturated acids – linoleic, γ -linolenic and 5 saturated – palmitic, stearic, arachic, begenic, lignoceric. The total content of fatty acids in *Anchusa officinalis* L. herb is 0.81 % of dry raw

material. The dominant compound of fatty acids in the raw material is linolenic acid – 2696,36 mg / kg of dry raw material.

For the first time, using the method of gas chromatography with mass spectrometry in *Anchusa officinalis* L. herb 12 compounds of the volatile fraction were identified. They are: 4 ketones, 3 alcohols, 3 aldehydes and 2 carbohydrate compounds. Among the alcohols there are: 2-heptanol, 3-heptanol and aromatic monoterpenoid thymol, among ketones: 2-heptanone, northerpenoid β -ionone, sesquiterpenoids derivatives: hexahydrofarnesylacetone and farnesylacetone, among aldehydes: 2,4,5-trimethylbenzyl aldehyde, hexadecanal, α -hexacinnamic aldehyde, among aliphatic hydrocarbons – octacosan and tricyclic sesquiterpenoid – longifolene. The total quantity of compounds of *Anchusa officinalis* L. herb volatile fraction is 0.015 % of dry raw material. The dominant compounds are thymol and hexahydrofarnesylacetone – 29.81 mg / kg and 27.67 mg / kg of dry raw material, respectively.

For the first time, using the method of atomic absorption spectrophotometry 19 macro- and micronutrients in *Anchusa officinalis* L. and *Anchusa procera* Bess. herb and roots were detected. The raw materials consist of the significant quantity of calcium – 8111,18 – 8134,10 mg / kg and magnesium – 1549,13 – 1586,04 mg / kg of dry raw material. The quantity of heavy metals was within the permitted limits (SPhU 2.0 – 2.4.27).

For the first time, quantitative content of groups of biologically active substances in *Anchusa officinalis* L. and *Anchusa procera* Bess. herb and roots was determined. It was found that *Anchusa officinalis* L. herb and *Anchusa procera* Bess. herb contain 3.13 – 3.81 % and 2.23 – 2.8 % of the sum of polyphenols; tannins – 1.57 – 2.14 % and 1.2 – 1.43 %; oxidized phenols – 1.85 – 3.53 % and 2.23 – 2.31 %; flavonoids – 0.42 – 0.45 % and 0.31 – 0.39 %; hydroxycoric acids – 1.34 – 2.19 % and 1.4 – 1.71 %; organic acids – 2.05 – 2.26 % and 1.86 – 2.39 %; polysaccharides – 6.57 – 8.4 % and 5.75 – 6.58 %; mucus – 2.08 – 4.12 % and 0.77 – 1.02 % respectively. The roots of *Anchusa officinalis* L. and *Anchusa procera* Bess. contain 2.48 – 2.65 % and 2.2 % of the sum of polyphenols; tannins – 1.01 – 1.19 % and

1.03 %; oxidized phenols – 2.54 – 3.0 % and 1.83 %; flavonoids – 0.19 – 0.21 % and 0.19 %; hydroxycoric acids – 1.09 – 1.11 % and 0.96 %; organic acids – 1.39 – 1.49 % and 1.41 %; polysaccharides – 0.71 – 0.72 % and 0.56 %; mucus – 1.19 – 1.28 % and 1.21 % respectively. It is established that the quantitative content of groups of biologically active substances differs more depend on the types of raw materials and less – on the place of species growth, that is, the accumulation of phenolic compounds and low molecular weight carboxylic acids has the pronounced species attachment. The fractions of water-soluble polysaccharides, pectic substances, hemicellulose A and B were isolated from *Anchusa officinalis* L. herb and roots. There are 8.24 % and 0.72 % of water-soluble polysaccharides in the herb and roots of the plant, pectic substances – 4.27 % and 0.14 %, hemicellulose A – 32.29 % and 12.2 %, hemicellulose B – 6.09 % and 4.42 % of dry raw materials, respectively.

For the first time, the technological parameters for obtaining aqueous and hydroalcoholic extracts from *Anchusa officinalis* L. herb were established and the screening of the pharmacological effects of the extracts was carried. It is established that the optimum degree of grinding are particles in 0.5 – 3 mm; solvents – water purified, ethanol 50% and 70%; optimum ratio between raw materials and extractant – 1:10; optimal duration of single extraction – 30 min; completeness of extraction of active substances can be achieved by triple extraction. The novelty of researches is confirmed by the patent of Ukraine on the utility model № 125931 «The method of obtaining of *Anchusa officinalis* L. extract with anti-inflammatory activity» (25.05.2018). The composition of the ointment with *Anchusa officinalis* L. the extract was proposed. The quality indicators and the pharmacological action of the ointment with the extract were determined.

The morphology of 11 species of *Anchusa* genus species of Ukrainian flora was investigated, namely *Anchusa officinalis* L., *Anchusa procera* Bess., *Anchusa Gmelini* Ledeb., *Anchusa leptophylla* Roem. Et Schult., *Anchusa ochroleuca* M. B., *Anchusa pseudoochroleuca* Shost., *Anchusa. italica* Retz. syn. *Anchusa azurea* Mill., *Anchusa Barrelieri* (All.) Vitm., *Anchusa thessala* Boiss. et Sprun., *Anchusa pusilla* Gusul., *Anchusa stylosa* M. B.

It is established that the distinguishing features of the investigated species are: the height of the stem (up to 2 m) – *Anchusa procera* Bess., soft bristles – *Anchusa leptophylla* Roem. Et Schult. and *Anchusa Barrelieri* (All.) Vitm., deep-fissure stem – *Anchusa leptophylla* Roem. Et Schult., gray color – *Anchusa procera* Bess., linear leaves – *Anchusa ochroleuca* M. B. and lanceolate leaves – *Anchusa pseudoochroleuca* Shost., the tube, that is shorter rather than the cup – *Anchusa Barrelieri* (All.) Vitm. and much longer (in 2 times) – *Anchusa Gmelini* Ledeb., yellow corollas – *Anchusa ochroleuca* M. B. and *Anchusa pseudoochroleuca* Shost., blue corollas – *Anchusa. italica* Retz. and *Anchusa Barrelieri* (All.) Vitm., triangular fruits – *Anchusa. italica* Retz., narrowly oblong – *Anchusa thessala* Boiss. et Sprun., oblong – *Anchusa Barrelieri* (All.) Vitm.

For the first time, the places of *Anchusa officinalis* L. and *Anchusa procera* Bess growth in the 4 regions of Ukraine were established, the characteristics of the identified phytocenoses were determined, the resources of plant raw materials and the conditions of the introduction of *Anchusa officinalis* L. in the Carpathian region were initiated.

The comparative morphological and anatomical analysis of *Anchusa officinalis* L. herb and *Anchusa procera* Bess herb was performed and their diagnostic features were established. Stem length, fruits and flower structures were found to be excellent morphological diagnostic features of the species; the anatomical diagnostic features of the species are the shape of the stem epidermis cells and the types of trichomes.

Characteristics of good quality of *Anchusa officinalis* L. herb were studied, parameters of standardization were determined; on the basis of monitoring of the quality indicators of raw materials, the expiration date was found.

On the basis of phytochemical and pharmacological investigations, the possibility of using of *Anchusa officinalis* L. herb as medicinal plant raw materials was proved. *Anchusa officinalis* L extract was obtained and the composition and technology of ointment with this the extract were proposed. The projects of Methods of quality control «*Anchusa officinalis* L. herb» and «*Anchusa officinalis* L. herb dry

extract», instruction on harvesting and drying of *Anchusa officinalis* L. herb were created.

According to the results of the work, a monograph «Nature Treats ... *Anchusa* genus plants: botanical characteristic, composition and pharmacological action» was published. Materials of this scientific research were introduced in the educational process and scientific work of the departments of pharmaceutical and biological profiles of higher educational institutions of Ukraine, as well as in the practical work of the «Phytolik» LLC and the testing centre of the State Enterprise «Ivano-Frankivsk Standard Metrology».

Key words: *Anchusa officinalis* L., *Anchusa procera* Bess., biologically active substances, extract, pharmacological effect.

Список публікацій здобувача

1. Грицик А. Р., Свірська С. П. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2012. №3. С. 174–181. (Особистий внесок – проведення пошуку літературних даних, обробка матеріалу та написання статті).

2. Грицик А. Р., Свірська С. П. Доказова фармація: дослідження екстракту трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.). *Український вісник психоневрології*. 2013. Т. 21, №. 2 (75), додаток. С. 93–94. (Особистий внесок – планування та проведення експериментальних досліджень, обробка матеріалу та написання статті).

3. Грицик А. Р., Свірська С. П. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.). *Фармаком*. 2016. №3, додаток. С. 117–123. (Особистий внесок – планування, проведення та інтерпретація даних експериментальних досліджень, обробка матеріалу та написання статті).

4. Грицик А. Р., Свірська С. П. Дослідження умов зростання *Anchusa officinalis* L. та *Anchusa procera* Bess. у деяких регіонах України. *Фармаком*. 2018. №1. С. 77–81. (Особистий внесок – планування та проведення досліджень, обробка матеріалу та написання статті).

5. Грицик А. Р., Свірська С. П. Дослідження вуглеводів воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.). *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20, №2 (75). С. 45–50. (Особистий внесок – планування, проведення експериментальних досліджень, інтерпретація результатів роботи та написання статті).

6. Svirska S., Grytsyk A. Investigation of tannins in *Anchusa officinalis* L. *The Pharma Innovation*. 2018. Vol. 7., Issue 4. P. 758–761. (Особистий внесок – планування, проведення експериментальних досліджень, інтерпретація результатів роботи та написання статті).

7. Спосіб одержання екстракту трави воловика лікарського з протизапальною активністю: пат. № 125931 України: МПК (2018.01), А61К 36/00, А61Р 29/00. / А. Р. Грицик, С. П. Свірська, Л. М. Грицик. № u 2018 00391; заявл. 15.01.2018; опубл. 25.05.18, бюл. № 10. (Особистий внесок – проведення патентного пошуку, планування та проведення експериментальних досліджень, обробка матеріалу та оформлення патенту).

8. Грицик А. Р., Свірська С. П. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія. Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г. М., 2017. 109 с. (Особистий внесок – проведення літературного пошуку, підготовка та проведення експериментальних досліджень, обробка матеріалу та написання монографії).

9. Грицик А. Р., Свірська С. П., Козак Т. І. Розповсюдження рослин роду Воловик в Україні та дослідження можливості їх інтродукції. *Фітоанітерапія: здобутки і перспективи*: матеріали міжнародної науково-практичної конференції, Ужгород, 20–21 квітня 2012 р. Ужгород, 2012. С. 267–269. (Особистий внесок – планування та проведення експериментальних досліджень, обробка матеріалу та написання статті).

10. Свірська С. П., Грицик А. Р. Фенологічні спостереження за розвитком воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) на дослідних ділянках лікарських рослин кафедри фармації ІФНМУ. *Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій*: матеріали VI Міжнародної науково-

практичної конференції, Полтава, 26-27 грудня 2017 р. Полтава. Лубни: Комунальне видавництво «Лубни», 2018. С. 105–107. (Особистий внесок – планування та проведення досліджень, обробка матеріалу та написання статті).

11. Grytsyk A., Svirsk S. The ways of application of Bugloss genus plants in folk medicine. *Aktualne problemy nowoczesnych nauk: materiały VIII międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji*. Vol. 38, Medycyna, Przemysł, 07-15 czerwca 2012 roku. Przemysł: «Nauka i studia», 2012. Str. 29–30. (Особистий внесок – проведення літературного пошуку, обробка матеріалу та написання статті).

12. Svirsk S. Systematics and morphology of Anchusa genus plants. *Modern science in Eastern Europe: proceedings of XIII International scientific conference*. Dec 22, 2017, Morrisville: Universum. Morrisville, 2017. P. 95–99.

13. Нормування біофармацевтичних аспектів розробки препаратів на основі рослинної сировини / А. Р. Грицик, С. П. Свірська, Т. Г. Стасів, Н. І. Ференц. *Біофармацевтичні особливості створення лікарських препаратів в аспект їх медичного застосування*: матеріали науково-практичної інтернет-конференції. Харків: Вид-во НФаУ, 2011. С. 3. (Особистий внесок – проведення досліджень, обробка матеріалу та написання тез).

14. Свірська С. П. Макроскопічний, мікроскопічний та товарознавчий аналіз трави воловика лікарського. *Сучасні проблеми медицини і фармації в наукових розробках студентів і молодих вчених*: тези доповідей 81-ої науково-практичної конференції студентів і молодих учених з міжнародною участю, Івано-Франківськ, 29–30 березня 2012 р. Івано-Франківськ, 2012. С. 218–219.

15. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з противиразковою дією: матеріали III міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених, Вінниця, 17–18 квітня 2012 р. Вінниця, 2012. С. 98.

16. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з протидіабетичною дією. *Інновації в медицині* : тези доповідей 82-ої науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, Івано-Франківськ, 18–19 квітня 2013 р. Івано-Франківськ, 2013. С. 233–234.

ЗМІСТ

	Стор.
АНОТАЦІЯ	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	19
ВСТУП.....	21
РОЗДІЛ 1. РОСЛИНИ РОДУ ВОЛОВИК – ПЕРСПЕКТИВНЕ ДЖЕРЕЛО БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН (огляд літератури).....	29
1.1. Ботанічна характеристика рослин роду Воловик...	29
1.2. Розповсюдження видів.....	33
1.3. Хімічний склад.....	38
1.4. Фармакологічні властивості та застосування в медицині і народному господарстві.....	47
ВИСНОВКИ.....	53
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.	54
2.1. Об'єкти дослідження	54
2.2. Методи дослідження біологічно активних речовин.....	55
2.2.1. Хімічні реакції ідентифікації.....	55
2.2.2. Хроматографічні методи.....	56
2.2.3. Титриметричні методи.....	61
2.2.4. Гравіметричні методи.....	63
2.2.5. Спектрофотометричні дослідження.....	64
2.3. Методи морфолого-анатомічного дослідження.....	67
2.4. Ресурсознавчі дослідження.....	68
2.5. Методи товарознавчого аналізу.....	69
2.6. Біофармацевтичні дослідження.....	70
2.7. Фармакологічні методи	72
2.7.1. Дослідження <i>in vitro</i>	73
2.7.2. Дослідження <i>in vivo</i>	75

2.8.	Статистична обробка результатів досліджень.....	82
РОЗДІЛ 3.	ФІТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ РОСЛИН РОДУ ВОЛОВИК.....	84
3.1.	Виявлення груп біологічно активних речовин.....	84
3.1.1	Хроматографічний аналіз (органічні кислоти, амінокислоти, фенольні сполуки).....	87
3.2.	Дослідження фенольних сполук методом ВЕРХ...	93
3.3.	Виділення індивідуальних сполук трави воловика лікарського.....	96
3.3.1	Вивчення та встановлення структури виділених сполук.....	100
3.4.	Дослідження жирнокислотного складу сировини..	109
3.5.	Визначення вмісту фітостеролів.....	110
3.6.	Визначення вмісту летких сполук.....	111
3.7.	Визначення вмісту макро- та мікроелементів.....	113
3.8.	Вивчення вуглеводів.....	116
3.8.1.	Дослідження фракцій полісахаридів.....	117
3.8.2.	Визначення кількісного вмісту полісахаридів та слизу.....	118
3.9.	Встановлення кількісного вмісту БАР.....	120
3.9.1.	Кількісне визначення груп діючих речовин залежно від місця зростання та виду сировини.....	121
3.9.2.	Динаміка накопичення груп БАР у траві воловика лікарського за фазами вегетації.....	128
	ВИСНОВКИ.....	129
РОЗДІЛ 4.	ОДЕРЖАННЯ, СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЕКСТРАКТУ ВОЛОВИКА ЛІКАРСЬКОГО ТА РОЗРОБКА ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ НА ЙОГО ОСНОВІ.....	132
4.1.	Розробка параметрів екстракції біологічно активних речовин з трави воловика лікарського...	132

4.2.	Одержання та дослідження екстрактів воловика лікарського.....	137
4.3	Дослідження гострої токсичності та фармакологічної активності екстрактів.....	140
4.3.1.	Гостра токсичність.....	140
4.3.2.	Протизапальна дія.....	142
4.3.3.	Антимікробна активність.....	144
4.3.4.	Противираzkова дія.....	148
4.4.	Стандартизація воловика лікарського трави екстракту сухого.....	158
4.5.	Розробка та дослідження мазі на основі екстракту трави воловика лікарського.....	158
4.5.1.	Розробка складу та технології мазі.....	160
4.5.2.	Стандартизація мазі воловика лікарського.....	164
4.5.3.	Токсикологічне та фармакологічне дослідження мазі.....	164
ВИСНОВКИ.....		171
РОЗДІЛ 5. РЕСУРСОЗНАВЧІ ДОСЛІДЖЕННЯ. СТАНДАРТИЗАЦІЯ СИРОВИНИ ТА РОЗРОБКА НОРМАТИВНОЇ ДОКУМЕНТАЦІЇ.....		174
5.1.	Ресурсознавчі дослідження	174
5.1.1.	Дослідження умов зростання воловика лікарського та воловика високого у деяких регіонах України	175
5.1.2.	Вивчення сировинних запасів.	181
5.1.3.	Інтродукція та фенологічні дослідження за розвитком воловика лікарського.....	183
5.2.	Розробка показників якості трави воловика лікарського.....	187
5.2.1.	Макро- та мікроскопічний аналіз сировини.....	187

5.2.2. Ідентифікація діючих речовин.....	192
5.2.3. Визначення числових показників доброякісності сировини.....	193
5.2.4. Визначення терміну придатності сировини.....	195
ВИСНОВКИ.....	202
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ	204
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	207
ДОДАТКИ	232

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

<i>A.</i>	—	<i>Anchusa</i> ;
Glc	—	глюкоза;
Rha	—	рамноза;
<i>S.</i>	—	<i>Symphytum</i> ;
Xyl	—	ксилоза;
AcAT	—	аспартатамінотрансфераза;
АлАТ	—	аланінамінотрансфераза;
АХЕ	—	ацетилхоліністераза;
БАР	—	біологічно активні речовини;
БЗ	—	біосферний заповідник;
БХЕ	—	бутирилхоліністераза;
В., в.	—	воловик;
ВЕРХ	—	високоєфективна рідинна хроматографія;
ВПРС	—	водорозчинні полісахариди;
ВІ	—	виразковий індекс;
ВРО	—	вільнорадикальне окислення;
ГЗЛ	—	гормонозалежна ліпаза;
ГХ/МС	—	газова хроматографія з мас-спектрометрією;
ГЦ А	—	геміцелюлоза А;
ГЦ Б	—	геміцелюлоза Б;
ДЕЦ	—	Державний Експертний Центр;
ЖК	—	жирні кислоти;
завв.	—	заввишки;
завд.	—	завдовжки;
завш.	—	завширшки;
ІФНМУ	—	Івано-Франківський національний медичний університет;
ПА	—	піролізидинові алкалоїди;
ПЗ	—	природний заповідник;

ПР	–	пектинові речовини;
ПХ	–	паперова хроматографія;
ПВА	–	противиразкова активність;
СЗ	–	стандартний зразок;
СТЗ	–	стрептозоцин;
СОШ	–	слизова оболонка шлунка;
ТБК-АП	–	тіобарбітурової кислоти активні продукти;
т. пл.	–	температура плавлення;
ТШХ	–	тонкошарова хроматографія.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Значну увагу в сучасних наукових дослідженнях зосереджено на лікарських рослинах та лікарській рослинній сировині, що містять різноманітні класи діючих речовин та мають багатовіковий досвід використання у народній медицині. До таких рослин відносять види роду Воловик (*Anchusa* L.) родини Шорстколисті (*Boraginaceae*). В минулому воловик лікарський (*Anchusa officinalis* L.) був офіційним видом, траву застосовували під назвою *Herba Lingulae bovis*; корені, траву та квітки – під назвою *Radix, Herba et Flos Buglossi*. На сьогодні види роду Воловик є неофіційними, проте їх широко використовують в народній медицині багатьох країн. У світі зареєстровано 301 вид та підвид роду Воловик разом із підвидами інших близькоспоріднених родів, синоніми яких мають назву «*Anchusa*». На території України зростає 11 видів роду Воловик. Рослини роду *Anchusa* L. – це одно- та багаторічні трав'янисті рослини, які переважно ростуть на піщаних і забур'янених місцях в лісостепових, степових районах та на Поліссі.

Завдяки вмісту різних класів БАР рослини роду Воловик проявляють широкий спектр біологічної дії: протизапальну, противиразкову, антибактеріальну, ранозагоювальну, антиоксидантну, ферменто- та гормонорегулюючу тощо.

Критичний аналіз сучасних наукових першоджерел засвідчив, що в Україні детальні дослідження морфологічної та анатомічної будови рослин роду Воловик, біологічних особливостей їх зростання, ресурсів, хімічного складу та фармакологічної активності практично відсутні. Водночас, результати закордонних досліджень вказують на актуальність застосування в медицині видів роду Воловик та потребу в їх подальшому фармакогностичному дослідженні.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри

фармації Івано-Франківського національного медичного університету: «Дослідження деяких дикорослих і культивованих лікарських рослин західного регіону України та розробка лікарських засобів на їх основі» (№ державної реєстрації 0110U006205) та «Дослідження культивованих і дикорослих лікарських рослин західного регіону України та розробка технологій їх застосування з лікувальною метою» (№ державної реєстрації 0118U003809).

Мета і завдання дослідження

Метою роботи стали фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик, розробка методик стандартизації сировини та встановлення можливості отримання лікарських засобів на їх основі.

Для досягнення поставленої мети необхідно було виконати такі завдання:

- провести попереднє фітохімічне дослідження трави та коренів воловика лікарського і воловика високого;
- виділити та ідентифікувати індивідуальні біологічно активні речовини сировини;
- встановити склад основних груп БАР воловика лікарського і воловика високого;
- визначити кількісний вміст БАР у досліджуваній сировині;
- розробити та обґрунтувати технологічні параметри одержання екстрактів та лікарської форми на їх основі, провести стандартизацію та фармакологічний скринінг одержаних засобів;
- вивчити умови зростання, сировинні запаси та встановити параметри інтродукції видів;
- виявити основні морфолого-анатомічні діагностичні ознаки видів;
- встановити показники доброякісності сировини та розробити проекти МКЯ на сировину та субстанцію, інструкції із заготівлі та сушіння сировини.

Об'єкт дослідження: комплексне фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик, субстанцій та препарату на їх основі.

Предмет дослідження: вивчення біологічно активних речовин трави та коренів видів роду Воловик, вибір оптимальних параметрів отримання екстрактів, стандартизація одержаних екстрактів, встановлення їх біологічної активності, розробка лікарської форми, встановлення запасів сировини, інтродукція воловика лікарського в умовах Прикарпаття, розробка МКЯ на сировину та екстракт.

Методи дослідження

Опис та ідентифікацію рослин роду Воловик проводили за допомогою морфологічних та анатомічних методів дослідження. Для встановлення якісного складу і кількісного вмісту БАР сировини та екстрактів використовували методи ПХ, ТШХ, адсорбційної хроматографії на колонках силікагелю та поліаміду, ГХ/МС, ВЕРХ, атомно-абсорбційну спектрофотометрію, титриметрію, гравіметрію та спектрофотометрію. Для встановлення біологічного, експлуатаційного запасів та можливого щорічного обсягу заготівлі рослинної сировини використовували ресурсознавчі методи. Для встановлення параметрів інтродукції використовували методи кліматичних аналогів, обліку досвіду акліматизації за минулий час, дедуктивний та еколого-системний екстраполяційний методи. Мікробіологічні та фармакологічні дослідження (гостра токсичність, протизапальна, противираzkова, ранозагоювальна дія) проводили методами *in vitro* та *in vivo*. Статистичну обробку експериментальних даних проводили відповідно до вимог ДФУ 2.0 Т.1 «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту» та «Статистичний аналіз результатів біологічних випробувань та тестів».

Наукова новизна одержаних результатів

Вперше проведено комплексне фітохімічне дослідження воловика лікарського та воловика високого, в результаті якого встановлено якісний склад та кількісний вміст фенольних сполук, карбонових кислот, вуглеводів, тритерпеноїдів, стероїдів, макро- та мікроелементів у сировині.

Вперше методом адсорбційної хроматографії на силікагелі та поліамідному сорбенті з трави воловика лікарського виділено 20 сполук, які

ідентифіковані на основі їх фізико-хімічних властивостей: 3 фенолкарбонові кислоти, 3 гідроксикоричні кислоти, 6 флавоноїдів, 4 тритерпеноїди, 1 стероїдна сполука, 2 хлорофіли і 1 азотовмісна сполука.

Вперше методом ВЕРХ у траві та коренях воловика лікарського визначено 14 сполук фенольної природи: 3 гідроксикоричні кислоти, 4 флавоноїди та 7 танінів.

Вперше методом ГХ/МС досліджено компонентний склад трави воловика лікарського, виявлено та визначено вміст 4 фітостеролів – це ситостерол, кампестерол, стигмаста-5,24(28)-дієн-3-ол, стигмастерол та 7 жирних кислот: 2 поліненасичені – ліолева та ліноленова, 5 насичених – пальмітинова, стеаринова, арахінова, бегенова, лігноцеринова; у леткій фракції виявлено та визначено вміст 12 сполук, серед них: 2 кетони, 2 похідних сесквітерпену, 2 спирти, 1 ароматична сполука, 2 аліфатичні вуглеводні та 3 альдегіди.

Вперше методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії у траві та коренях воловика лікарського та воловика високого виявлено та встановлено вміст 19 макро- та мікроелементів. Вміст важких металів знаходиться у дозволених межах (ДФУ 2.0 – 2.4.27).

Вперше визначено кількісний вміст груп БАР у сировині воловика лікарського та воловика високого, заготовлених із різних місць зростання. Встановлено, що трава воловика лікарського та воловика високого містить 3,13 – 3,81 % та 2,23 – 2,8 % суми поліфенолів; таніни – 1,57 – 2,14 % та 1,2 – 1,43 %; окиснювані феноли – 1,85 – 3,53 % та 2,23 – 2,31 %; флавоноїди – 0,42 – 0,45 % та 0,31 – 0,39 %; гідроксикоричні кислоти – 1,34 – 2,19 % та 1,4 – 1,71 %; органічні кислоти – 2,05 – 2,26 % та 1,86 – 2,39 %; полісахариди – 6,57 – 8,4 % та 5,75 – 6,58 %; слиз – 2,08 – 4,12 % та 0,77 – 1,02 % відповідно. Корені воловика лікарського та воловика високого містять 2,48 – 2,65 % та 2,2 % суми поліфенолів; таніни – 1,01 – 1,19 % та 1,03 %; окиснювані феноли – 2,54 – 3,0 % та 1,83 %; флавоноїди – 0,19 – 0,21 % та 0,19 %; гідроксикоричні кислоти – 1,09 – 1,11 % та 0,96 %; органічні кислоти – 1,39 – 1,49 % та 1,41 %; полісахариди – 0,71 – 0,72 % та 0,56 %; слиз – 1,19 – 1,28 % та 1,21 % відповідно. Вперше із

воловика лікарського виділено фракції водорозчинних полісахаридів, пектинових речовин, геміцелюлози А і Б, встановлено їх кількісний вміст та мономерний склад.

Вперше розроблено технологічні параметри отримання екстрактів трави воловика лікарського та досліджено фармакологічну активність одержаних екстрактів. Новизну досліджень підтверджено патентом України на корисну модель № 125931 «Спосіб одержання екстракту трави воловика лікарського з протизапальною активністю» (25.05.2018 р.). Вперше розроблено склад, запропоновано технологію виготовлення, встановлено показники якості та фармакологічну дію мазі на основі отриманого екстракту.

Вперше встановлено місця зростання воловика лікарського та воловика високого у 4 областях України, складені характеристики виявлених фітоценозів та встановлено сировинні запаси видів, вивчено параметри інтродукції воловика лікарського в умовах Прикарпаття.

Вперше проведено порівняльне морфолого-анатомічне дослідження надземних органів воловика лікарського і воловика високого та встановлено їх діагностичні ознаки. Вивчено числові показники доброякісності трави воловика лікарського, встановлено параметри стандартизації; на основі моніторингу за якісними показниками сировини встановлено термін її придатності.

Практичне значення одержаних результатів

В результаті проведеного морфолого-анатомічного дослідження видів роду Воловик флори України встановлено основні макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки надземних органів воловика лікарського та воловика високого, які є критеріями для диференціювання цих видів.

На основі проведених фітохімічних та фармакологічних досліджень, доведено можливість застосування трави воловика лікарського як лікарської рослинної сировини. Одержано екстракт трави воловика лікарського та розроблено склад і технологію мазі з екстрактом воловика лікарського. Розроблено проекти МКЯ «Воловика лікарського трава», «Воловика

лікарського екстракт сухий» та інструкції із заготівлі та сушіння трави воловика лікарського.

За результатами роботи видано монографію «Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія». Матеріали наукових досліджень впроваджено в навчальний процес та наукову роботу кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету, кафедри ботаніки Національного фармацевтичного університету, кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету, кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії ДЗ «Луганський державний медичний університет», кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів НМАПО імені П. Л. Шупика, кафедри фармації Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», кафедри фармакогнозії Одеського національного медичного університету, кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії і технології ліків ФПО Запорізького державного медичного університету, кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету, Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії Київського медичного університету, кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету, кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», кафедри медичної біології, фармакогнозії та ботаніки ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», кафедри медичного та фармацевтичного права, загальної і клінічної фармації Харківської медичної академії післядипломної освіти (акти впровадження від 12.12.2017; 18.12.2017; 19.12.2017; 20.12.2017; 21.12.2017; 25.12.2017; 27.12.2017; 27.12.2017; 16.01.2018; 22.01.2018; 22.01.18; 01.02.2018; 14.02.2018; 15.02.2018; 23.02.2018; 26.02.2018 року відповідно), практичну роботу ТОВ

«Фітолік» та випробувального центру державного підприємства «Івано-Франківськстандартметрологія» (акти впровадження від 14.03.2018 та 19.03.2018 року відповідно).

Особистий внесок здобувача

Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Дисертанту належить вирішальна роль у визначенні мети дослідження, шляхів її реалізації, плануванні та проведенні експерименту, інтерпретації та узагальненні одержаних результатів, формуванні основних положень та висновків, що захищаються. Результати, опубліковані у співавторстві, використані у роботі тільки в межах особистого внеску.

Безпосередньо автором здійснено інформаційно-патентний пошук, встановлено основні групи БАР та їх кількісний вміст у траві та коренях видів роду Воловик, виділено та ідентифіковано індивідуальні сполуки трави воловика лікарського, проведено морфолого-анатомічне дослідження та встановлено діагностичні макро- і мікроскопічні ознаки досліджуваної сировини, що використано при її стандартизації. Розроблено параметри одержання екстрактів із трави воловика лікарського, проведено їх стандартизацію, розроблено склад та технологію мазі з одержаним екстрактом і досліджено їх фармакологічну активність, встановлено запаси сировини видів роду Воловик.

Дисертантом самостійно одержано та здійснено аналіз результатів експериментальних досліджень і систематизовано їх у вигляді таблиць, рисунків, проектів МКЯ та фотознімків. В опублікованих наукових працях особистий внесок здобувача відображено в списку публікацій.

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи викладено на науково-практичній інтернет-конференції «Біофармацевтичні особливості створення лікарських препаратів в аспекті їх медичного застосування» (Харків, 2011); 81-й науково-практичній конференції студентів і молодих учених з міжнародною участю «Сучасні проблеми медицини і фармації в наукових розробках

студентів і молодих вчених» (Івано-Франківськ, 2012); міжнародній науково-практичній конференції «Фітоапітерапія: здобутки і перспективи» (Ужгород, 2012); III міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених (Вінниця, 2012); VIII międzynarodowej naukowí-praktycznej konferencji «Aktualne problemy nowoczesnych nauk – 2012» (Przemyśl, 2012); 82-й науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 2013); XIII international scientific conference «Modern science in Eastern Europe» (Morrisville, USA, 2017); VI-й міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій» (Полтава, 2017).

Публікації

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 16 наукових робіт, у тому числі 6 статей у наукових фахових виданнях, з яких 1 стаття в іноземному виданні, що входить до наукометричних баз, 1 патент України на корисну модель, 1 монографія, 4 статті та 4 тез доповідей у матеріалах конференцій.

Обсяг та структура дисертації

Дисертацію викладено на 296 сторінках друкованого тексту, вона складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 20 додатків (65 с.). Роботу ілюстровано 73 таблицями та 38 рисунками. Список використаних джерел містить 253 найменування, з яких 128 кирилицею та 125 латиною.

РОЗДІЛ 1

РОСЛИНИ РОДУ ВОЛОВИК – ПЕРСПЕКТИВНЕ ДЖЕРЕЛО БІОЛОГІЧНО
АКТИВНИХ РЕЧОВИН (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Ботанічна характеристика рослин роду Воловик

В сучасній ботаніці систематика і таксономія рослин роду Воловик (*Anchusa* L.) родини Шорстколисті (*Boraginaceae* Juss.) є дискусійними [169, 174, 182, 192, 209, 211, 241, 246, 249].

Згідно даних The Plant List, енциклопедичного інтернет-порталу, який забезпечує доступ до інформації про номенклатуру сучасних таксонів, що належать до царства рослин, у світі зареєстровано 301 вид та підвид рослин роду Воловик разом із підвидами інших близькоспоріднених родів, синоніми яких мають назву «*Anchusa*». З них 51 вид та підвид запропоновані як самостійні одиниці вказаного роду (Додаток Ж) [246].

У переліках видів роду Воловик, наведених в National Center for Biotechnology Information (NCBI): Taxonomy Browser (США), U.S. National Plant Germplasm System (GRIN): Taxonomy for Plants (США) та Royal Botanic Garden Edinburgh, Flora Europaea (Великобританія), наявні декілька таксонів, не внесених в систему The Plant List [182, 211, 246, 249]. NCBI та Flora Europaea пропонують по 28 видів *Anchusa* L., а GRIN лише 15 видів цього роду. Водночас, система GRIN виділяє вид *A. granatensis* Boiss., якого немає в розглянутих класифікаціях. Порівняльна характеристика даних різних систем наведена в Додатку Ж.

Дослідники Bu-Ali Sina University (Іран) провели цитогенетичне вивчення рослин роду Воловик флори Ірану. Встановлено кількість хромосом і мейотичну поведінку 14 популяцій, що належать до чотирьох видів *Anchusa* L. підвидів *Buglossum* Gusul. та *Buglossoides* Gusul. Результати досліджень вказують, що у всіх наявних популяціях видів *Anchusa* L. підвиду *Buglossum* Gusul. присутня хромосома $2n = 4x = 32$. У видів *A. aegyptiaca* (L.) A.DC., *A. milleri* Lam. ex Spreng. та *A. iranica* Rech.f.&Esfand підвиду *Buglossoides*

наявна хромосома $2n = 2x = 16$, що підтверджує складну еволюцію підроду [138]. Таким чином, для більш точної класифікації видів необхідно враховувати їх генотип та морфометричні характеристики.

У Довіднику назв рослин України зазначено 15 видів *Anchusa* L., а у «Vascular plants of Ukraine» (S. Mosyakin) наведено 20 назв рослин роду Воловик [35, 209]. The Plant List та S. Mosyakin вказують на те, що *A. italica* Retz. є синонімом *A. azurea* Mill., а *A. popovii* (Gusul.) Dobrocz. та *A. ochroleuca* auct. non M. Bieb. є синонімами *A. ochroleuca* M. Bieb. Також у The Plant List вид *A. ventricosa* Viv. є синонімом *Nonea vivianii* DC., натомість у переліку видів, наведених S. Mosyakin, представлено вид *A. ventricosa* Smith. як синонім виду *Nonea echioides*. Про спорідненість воловиків до інших родів родини Шорстколисті свідчить наявність у вищенаведених джерелах даних, що *A. arvensis* (L.) M.Bieb. є синонімом *Lycopsis arvensis*, *A. lutea* (Desr.) M.Bieb. – синонім *Nonea lutea*, *A. orientalis* (L.) Rchb. f. – синонім *Lycopsis orientalis*, *A. pulla* (L.) M.Bieb. – синонім *Nonea pulla*, *A. tuberculata* Forssk. – синонім *Alkanna tinctoria* (L.) Tausch. [209, 246]. В переліку назв рослин, затвердженому International Seed Testing Association (ISTA) (Швейцарія), підтверджено, що *A. italica* Retz. є синонімом *A. azurea* Mill., і вказано, що до виду *A. leptophylla* Roem. & Schult. належать підвиди *A. angustissima* K. Koch та *A. incana* Ledeb. [195].

В даній роботі використано найсучасніше джерело систематики і таксономії рослин України – Довідник назв рослин України з урахуванням поправок, приведених в авторитетних вітчизняних та зарубіжних джерелах, і встановлено, що на території України зростає 11 видів рослин роду Воловик, які за морфологічними ознаками поділяють на 4 секції [9, 35, 115, 116, 209, 246]:

Секція 1: *Euanchusa* Griseb.:

Ряд 1: *Leptophylla* Gusul. (pro sect.). – в. вузьколистий (*A. leptophylla* Roem. et Schult.), в. Гмеліна (*A. Gmelini* Ledeb.), в. світло-жовтий (*A. ochroleuca* M. Bieb.), в. несправжньо-світло-жовтий (*A. pseudoochroleuca* Shost.).

Ряд 2: *Homotrichae* Gusul. (pro sect.). – в. лікарський (*A. officinalis* L.), в. високий (*A. procera* Bess.).

Секція 2: *Buglossum* (Gaertn.) Reichenb. – в. італійський (*A. italica* Retz., *A. azurea* Mill.).

Секція 3: *Buglosellum* Gusul. (pro subgen.). – в. фесалійський (*A. thessala* Boiss. et Sprun.), в. маленький (*A. pusilla* Gusul.), в. довгостовпчиковий (*A. stylosa* M. Bieb.).

Секція 4: *Cynoglottis* Gusul. (pro subgen.). – в. Баррельє (*A. Barrelieri* (All.) Vitm.).

Основними морфологічними характеристиками роду є будова плодів (форма і розміри перикарпію), квіток (розміри зубців і трубочки віночка, довжина маточки, колір віночка), життєва форма рослини, тип волосків, їх кількість та розміщення. Особливості будови пилку, насіння, будова маточки характеризують види роду [233]. Наявні дослідження, в основному, зосереджені на вивченні листка. За даними різних авторів, характеристики, що стосуються судинної системи, однакові, в той час як дані про розміри і щільність продихів, структуру окремих волосків, тип волосяного покриву, листок, товщину епідермісу – змінні [135].

Футорна О. (ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка) досліджувала анатомічну структуру листків та стебел рослин-псамофітів з роду *Anchusa* L. Доведено, що в анатомічній будові представників вказаного роду, можна спостерігати як змінні ознаки, які залежать від еколого-кліматичних умов зростання видів, так і постійні характеристики, які можна розглядати як додаткові діагностичні ознаки на рівні родини *Boraginaceae*. У псамофітів з роду *Anchusa* L. виявлено ксероморфні та мезоморфні ознаки, співвідношення яких у досліджуваних видів залежить від місця їхнього зростання [117].

Nasrollahi F. та співавт. (Іран) досліджували морфолого-анатомічну будову плодів в. італійського, в. колючого та в. єгипетського. Встановлено, що основними діагностичними ознаками плодів є їх довжина, ширина,

співвідношення ширини і довжини, форма мерикарпії. Так, у в. італійського та в. колючого мерикарпій прямий та циліндричний, у в. єгипетського – дещо зігнутий [210].

Akçin T. та Ulu Ş. (Туреччина) провели дослідження плодів видів роду Воловик флори Туреччини. Встановлено, що для ідентифікації видів *Anchusa* L. можна застосовувати відмінності форми та будови мерикарпії плодів. У в. вузьколистого, в. хвилястого (*A. undulata* L.), в. маленького та в. польового (*A. arvensis* (L.) M.Bieb.) форма мерикарпії обернено-яйцеподібна, а у в. італійського – видовжено-яйцеподібна; довжина мерикарпії у в. італійського становить 5-9 мм, а в решти видів знаходиться в межах 1,5-4 мм. Забарвлення поверхні плодів у в. хвилястого та в. польового світло-коричневе, у решти видів – сіро-коричневе. В усіх перелічених видів, за винятком в. італійського, наявний латеральний дзьобик у перикарпії. Базальна ареола у в. вузьколистого та в. хвилястого не виражена, на відміну від решти видів. Форма сосочків та горбків на поверхні плодів у в. вузьколистого, в. хвилястого та в. м'якенького розеткоподібна, у в. італійського – проста та потовщена. У в. вузьколистого, в. польового та в. хвилястого сітчастість плоду помітно виражена, у в. італійського реберця тонші і розміщені паралельно основній осі, а у в. м'якенького вони потовщені [136].

Keshavarzi M. та співавт. (Іран) досліджували анатомічну будову стебел та плодів видів роду Воловик, зокрема в. італійського, в. польового, в. колючого (*A. strigosa* Banks & Sol.) та в. єгипетського (*A. aegyptiaca* (L.) A.DC.). Встановлено, що діагностичними ознаками стебла є будова епідермісу та первинної кори, а діагностичними ознаками плодів – товщина склеренхіми, кількість судинних пучків та форма поперечного зрізу [199].

Дослідники з Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ege Üniversitesi (Туреччина), University of Cagliari та University of Firenze (Італія) провели поглиблене вивчення морфологічної та анатомічної будови деяких рослин роду Воловик [135, 137, 242, 252]. У Додатку К наведено характеристики видів *Anchusa* L., отримані на основі аналізу даних їх досліджень.

Відмінними морфологічними ознаками (Додаток К) наведених видів є значна висота стебла у в. сірого (вище 1 м) і відносно низька (менше 15 см) у в. прибережного; невелика кількість волосків на поверхні стебла у в. маленького (густощетинисте опушення у інших видів); блідо-жовтий або кремовий віночок у в. єгипетського та світло-блакитний або білий у в. прибережного (від синього до фіолетового у решти видів); кулясто-глекоподібна чашечка у в. кучерявого (трубчаста у інших видів).

1.2 Розповсюдження видів

Anchusa L. є одним з найбільших родів, зосереджених у Середземномор'ї. Рослини роду Воловик зростають переважно в Європі, Західній Азії і Північній Африці. Основним центром різноманіття рослин роду Воловик є південна частина Балканського півострова, де певні таксони проявляють високий рівень поліморфізму. Це може бути результатом процесів гібридизації через географічний контакт та інтенсивну землекористувальну діяльність людини [135, 137, 166, 208, 233, 252]. Території походження рослин роду Воловик представлено на рис. 2.1.



Рис. 1.1. Ареал природного поширення видів *Anchusa* L. [208, 233]

За оцінкою Selvi F. та Bigazzi M. (Італія) у Середземноморському басейні та на Близькому Сході зростає від 27 до 30 видів рослин роду Воловик [233]. Нещодавні ресурсознавчі дослідження на території Південноафриканської республіки вказують, що характерними для цієї країни є 2 види *Anchusa* L., а саме *A. capensis* Thunb. та *A. riparia* DC. [204].

Значне біорізноманіття *Anchusa* L. представлене у флорі Туреччини та Греції [233, 252, 253]. На території Туреччини зростає 15 видів роду Воловик. Вид *A. aegyptiaca* (L.) A.DC., який раніше був характерним для флори Єгипту, Іраку, Ірану та Ізраїлю, було знайдено та ідентифіковано на території Туреччини. Це свідчить про здатність видів *Anchusa* L. до міграції та адаптації в умовах різних кліматичних зон [252, 253]. На території Греції поширені 11 видів роду Воловик, а саме: *A. officinalis* L., *A. procera* Bess., *A. undulata* L., *A. leucantha* Selvi & Bigazzi, *A. samothracica* Bigazzi & Selvi, *A. cespitosa* Lam., *A. azurea* Mill., *A. strigosa* Banks & Sol., *A. stylosa* M.Bieb., *A. thessala* Boiss. & Spruner та *A. aegyptiaca* (L.) A.DC. [233].

Окремі види *Anchusa* L. є ендемічними чи реліктовими рослинами: *A. stylosa* M.Bieb. є реліктом в Болгарії, *A. leptophylla* Roemer & Schultes та *A. leptophylla* subsp. *incana* (Ledeb.) Chamb. є ендемами в Туреччині, *A. leucantha* Selvi & Bigazzi – ендемом в Греції, *A. capellii* Moris, *A. crispa* Viv., *A. crispa* subsp. *maritima* (Vals.) Selvi & Bigazzi, *A. formosa* Selvi, Bigazzi & Bacch., *A. littorea* Moris, *A. sardoa* (Illario) Selvi & Bigazzi та *A. montelinasana* Angius, Pontec. & Selvi є ендемами в Італії, а саме на о. Сардинія. *A. littorea* Moris перебуває на межі зникнення і тому підлягає особливій охороні для збереження популяції [137, 158, 214, 225, 242].

Selvi F. (Італія) проводив біометричне вивчення квітів *A. undulata* L., *A. hybrida* Ten. та *A. capellii* Moris. Встановлено, що рослини виду *A. undulata* L. ростуть в Італії, Греції та Ізраїлі. Вид *A. hybrida* Ten. не належить до флори Італії, оскільки зразки з о. Сардинія, раніше згадувані в цьому таксоні, належать до групи псамофітних таксонів, ендемічних для Північної Сардинії та

о. Корсики. Водночас, вид *A. capellii* Moris, згідно досліджень, належить до ендемів на о. Сардинія [234].

Дані щодо зростання рослин роду Воловик на території США, Канади, країн Південної Америки та Австралії є обмеженими і, хоча види *Anchusa* L. були інтродуковані у їх флору, вони не набули значного біорізноманіття. Так, у флорі Нової Англії (території на північному заході США) підтверджено наявність в. лікарського, в. вузьколистого та в. італійського [151]. Території походження та введення у флору деяких видів рослин роду Воловик представлено в табл. 1.1.

Таблиця 1.1

Ареали походження та зростання видів *Anchusa* L., що введені в культуру

Вид рослини	Походження	Введення у флору	Можливість культивування
В. італійський (<i>A. azurea</i> Mill.)	Європа, Північна Африка, Північно-Східна Тропічна Африка, Західна та Середня Азія	Південна Африка, Північна Америка	Так
В. капський (<i>A. capensis</i> Thunb.)	Південна Африка	Австралія	Так
В. сірій (<i>A. leptophylla</i> subsp. <i>incana</i> (Ledeb.) D.F.Chamb.	Західна Азія	-	Так
В. лікарський (<i>A. officinalis</i> L.)	Західна Азія, Європа	Північна та Південна Америка	Так

Примітка. * Складено автором згідно даних World Economic Plants: A Standard Reference [250].

Аналіз даних табл. 1.1 вказує, що в. італійський, в. капський та в. лікарський є придатними для культивування та інтродукції в умовах різних кліматичних зон та континентів.

Рослини роду Воловик мають широкий ареал зростання і на території України [8, 19, 24, 26, 27, 35, 62, 71, 79, 88, 115 – 117].

Окремі види *Anchusa* L. флори України внесені до офіційних переліків регіонально рідкісних рослин адміністративних територій України [12, 26, 80].

Дослідники Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України вивчали флору біосферних та природних заповідників України. Встановлено, що рослини роду Воловик є складовою частиною БЗ «Карпатський», БЗ «Чорноморський», ПЗ «Луганський» та ПЗ «Єланецький степ» [113].

Розповсюдження рослини роду Воловик на території України представлено в табл. 1.2.

Таблиця 1.2

Поширення рослин роду Воловик на території України

Назва рослини	Ареал зростання	Поширення	Література
1	2	3	4
В. лікарський	Поля, узбіччя доріг, забур'янені та піщані місця	Лісові та лісостепові райони Правобережжя, Полісся, іноді – Степ	8, 19, 35, 62, 79, 88, 115, 116
В. високий	Степові схили і береги річок, забур'янені місця	Лісостеп та Степ, іноді – південна частина Полісся та Прикарпатські ліси	8, 35, 79, 115, 116
В. Гмеліна	Відкриті та борові піски, піщані дюни	Південна частина Лісостепу та Степ, іноді – Полісся	35, 79, 115, 116
В. вузьколистий	Кам'янисті схили, узбіччя доріг	Крим	35, 79, 115, 116
В. світло-жовтий	Піщані тераси річок, забур'янені місця	Південно-східна частина Лісостепу та північна частина Степу, басейн Сіверського Дінця, Полісся	35, 79, 115, 116
В. несправжньо-світло-жовтий	Вапнякові та степові схили	Південно-західна частина Лісостепу та західна частина Степу, іноді – Прикарпаття та Закарпаття	8, 35, 79, 115, 116
В. італійський	Забур'янені місця, поля, серед посівів	Лісові та лісостепові райони Півдня, гірські та приморські райони Криму, Закарпаття	8, 19, 35, 79, 88, 115, 116

1	2	3	4
В. Баррельє	Вапнякові та кам'янисті місця, узлісся, між чагарниками	Опільські ліси, Правобережний Лісостеп, іноді – Прикарпаття та Карпати	8, 35, 79, 115, 116
В. фесалійський	Кам'янисті схили, прибережні дюни, забур'янені місця	Степові і лісостепові райони Криму	35, 79, 115, 116
В. маленький	Приморські піски, ракушняки	Крим	35, 79, 115, 116
В. довгостовпчиковий	Забур'янені місця, кам'янисті схили	Крим, іноді – крайній південь Степу	35, 79, 115, 116

Перспективним напрямком при дослідженні нових видів лікарських рослин є вивчення умов їх інтродукції.

Дайнеко Н. М. та Шукова Е. В (Білорусь, 2009) проводили вивчення онтогенезу, анатомічної будови, сезонного ритму розвитку та продуктивності в. лікарського на дослідних ділянках. Встановлено, що у рослини відбувається швидкий перебіг онтогенетичних станів у прегенеративному періоді та уповільнений – у генеративному, анатомічна будова стебла в. лікарського вже на стадії проростків відзначається початком формування вторинної структури [29].

Деякі види, підвиди та декоративні сорти *Anchusa* L. внесені до списку «Реєстр декоративних трав'янистих рослин відкритого ґрунту ботанічних садів і дендропарків України». У вказаному переліку наведено культивовані вид *A. capensis* Thunb. та сорт *A. capensis* Thunb. «Blue Angel», які не характерні для природньої флори території України [50].

Таким чином, на основі наведених даних, можна стверджувати, що в. лікарський та в. високий є найбільш розповсюдженими видами, які зростають на території України. Рідше можна зустріти в. Гмеліна, в. світло-жовтий, в. несправжньо-світло-жовтий, в. італійський та в. Баррельє.

1.3 Хімічний склад

Види *Anchusa* L. – цінне джерело природних сполук з потенційними терапевтичними ефектами [27]. Експериментальне вивчення деяких груп БАР рослин роду Воловик, їх ідентифікація та методики кількісного визначення представлені в роботах іноземних дослідників [129, 130, 132, 139, 140, 154, 168, 176, 183, 186, 201, 202, 207, 215, 216, 238, 230, 248, 253].

Полісахариди. Barbakadze V. та співавт. (Грузія) провели дослідження біологічно активних полімерів з різних видів роду Живокіст та Воловик. Встановлено, що один і той же біополімер, отриманий з кавової кислоти, є основним структурним елементом препаратів, отриманих з коренів різних видів родини Шорстколисті. Такий полімер був ідентифікований вперше і названий полі[3-(3,4-дигідроксифеніл) гліцеринової кислоти] (рис. 1.2). Було вивчено та встановлено структуру даної сполуки та розроблено спектрометричний метод для її кількісного визначення [159, 189, 213, 237, 238].

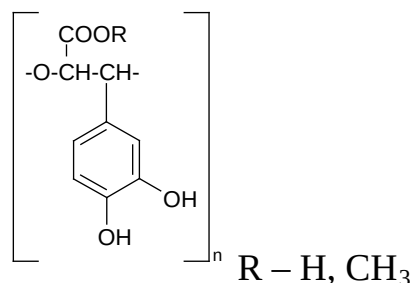
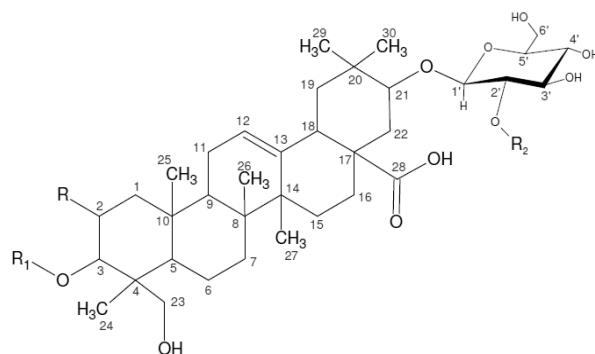


Рис 1.2. Полі[3-(3,4-дигідроксифеніл) гліцеринової кислоти]

Сапоніни. Koz O. та співавт. (Туреччина, Італія) проводили дослідження хімічного складу в. хвилястого (*A. undulata* L.). З метанольного та водного екстрактів трави в. хвилястого виділено новий тритерпеновий глікозид – ундалатозид та досліджено його структуру методом спектрального аналізу. Також з рослини виділено ще сім уже відомих тритерпенових глікозидів (рис. 1.3) [201, 202].

Agha H. та співавт. (Йорданія, Німеччина) з коренів в. колючого виділили новий тритерпеновий сапонін, який ідентифіковано методами тонкошарової, колонкової, газорідинної хроматографії та ядерно-магнітного резонансу [132].

1. $R=OH$, $R_1=H$, $R_2=H$
2. $R=OH$, $R_1=H$, $R_2=Glc$
3. $R=OH$, $R_1=Xyl$, $R_2=Glc$
4. $R=H$, $R_1=H$, $R_2=H$
5. $R=H$, $R_1=H$, $R_2=Glc$
6. $R=H$, $R_1=Xyl$, $R_2=Glc$



7. $R_1=H$, $R_2=Glc$
8. $R_1=Glc$, $R_2=Glc$

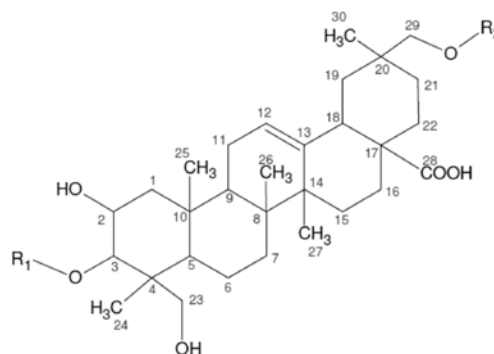


Рис. 1.3. Тритерпенові глікозиди в. хвилястого: 1 – анхузозид-3; 2 – анхузозид-8; 3 – анхузозид-9; 4 – анхузозид-4; 5 – анхузозид-5; 6 – анхузозид-11; 7. – віскозид А; 8 – ундалатозид

Abbas М. та співавт. (Йорданія) вперше виявили у в. колючому олеанолову кислоту, β -амірин, кратеголову кислоту та β -цитостерилглікозид (рис.1.4).

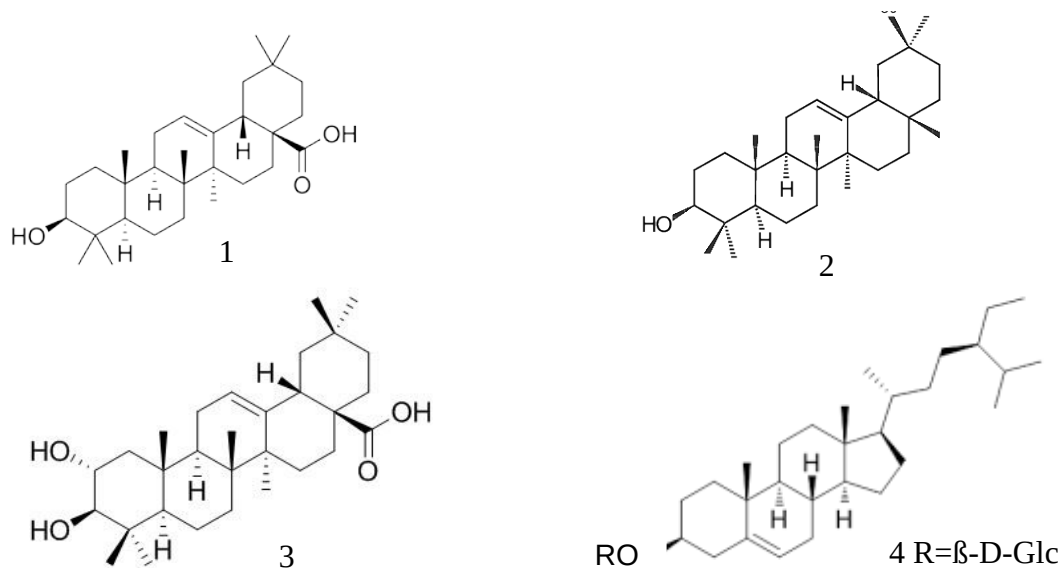


Рис. 1.4. Тритерпенові сполуки в. колючого: 1– олеанолова кислота; 2. – β - амірин; 3 – кратегова кислота; 4 – β - ситостерилглікозид

Поєднання вказаних компонентів здійснює противиразкову дію, тому перспективними є їх подальші дослідження [130].

Kuruuzum-Uz A. та співавт. (Туреччина) виділили 4 нові тритерпенові глікозиди з трави в. італійського: олеаназурозид 1, олеаназурозид 2, урсолазурозид 1, урсолазурозид 2, а також встановили їх структуру та властивості з допомогою УФ-, ІЧ- та ядерно-магнітної спектроскопії (рис. 1.5).

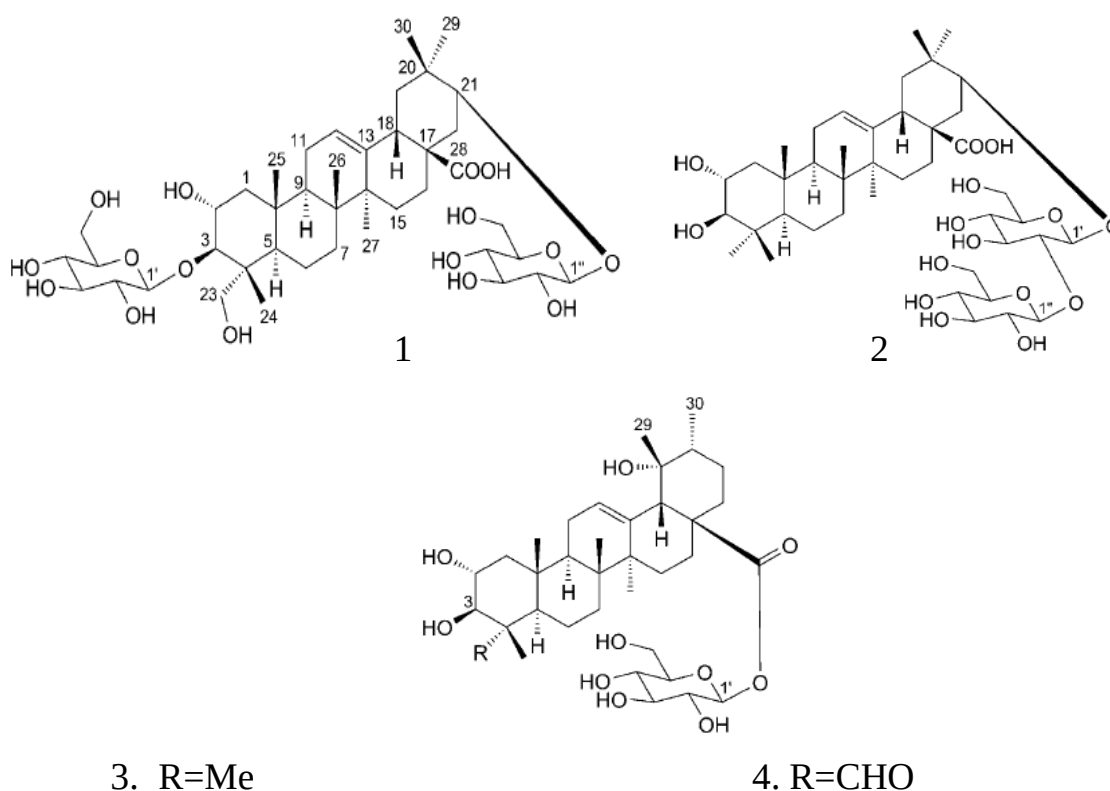


Рис.1.5. Тритерпенові сполуки в. італійського: 1– олеаназурозид 1; 2. – олеаназурозид 2; 3 – урсолазурозид 1; 4 – урсолазурозид 2

Ліпіди та жирні кислоти. Azimova S. та Glushenkova A. (Узбекистан) виділили рослинні ліпіди, провели визначення їх компонентів та встановили якісні характеристики. Серед досліджуваних видів були: в. італійський (*A. azurea* Mill.), в. капський (*A. capensis* Thunb.), в. гібридний (*A. hybrida* Ten.), в. сірий (*A. leptophylla* subsp. *incana* (Ledeb.) D.F.Chamb.), в. лікарський (*A. officinalis* L.) та в. колючий (*A. strigosa* Banks & Sol). Вміст жирної олії у досліджуваних видах становить 26,84 %, 29,0 %, 20,0 %, 21,0 %, 23,0 % та 22,2 % відповідно [157].

Al-Salihi F. та співавт. (Ірак) виділили та дослідили ліпіди в. колючого. Загальний вміст ліпідів у квітах становить 4,42 %. Методом двовимірної ТШХ ідентифіковано два типи фосфоліпідів (фосфатидин та еаноламін) і одну тригліцеридну сполуку (трипальмітин). Вільні ЖК оцінювали якісно і кількісно за допомогою методу ГХ/МС. Серед ЖК найвищий вміст зафіксовано для *n*-гексадеканової та октадеканової кислот – 3,6404 мкг та 4,6040 мкг в 100 г сухої сировини відповідно. Вміст насичених ЖК, включаючи пальмітинову і стеаринову кислоти, становить від 1,9 до 8,9 %. Вміст ненасичених ЖК складає від 82,88 % до 87,65 %. Значимі концентрації основних поліненасичених ЖК, включно з ліолевою, α -ліолевою, γ -ліолевою і стеариновою кислотами, дали підставу Al-Salihi F. та співавт. пропонувати в. колючий як потенційне джерело ЖК [139, 140].

Kukukboyaci N. та співавт. (Туреччина) виділили ЖК з насіння рослин роду Воловик та провели їх кількісне визначення. Встановлено, що загальний вміст ЖК знаходиться в межах від 11,2 % (для в. італійського) до 22,85 % (для в. вузьколистого). Склад ЖК для всіх видів роду був однаковий і представлений олеїною, пальмітиною, ліолевою, α -ліолевою та γ -ліолевою кислотами [129].

Ozcan T. (Туреччина) дослідив жирнокислотний склад насіння в. лікарського та провів визначення загального вмісту білків, кількісного і якісного амінокислотного складу трави в. лікарського та в. хвилястого. Загальний вміст поліненасичених ЖК становить від 56,27 % до 56,41 %, мононенасичених – від 26,47 % до 31,38 %, насичених – від 10,12 % до 11,95 %. Переважаючими у кількісному відношенні є ліолева, олеїнова, а також α - і γ -ліолеві кислоти. Трава в. лікарського містить 12,97 % білків, трава в. хвилястого – 10,18 %. Запропоновано розглядати в. лікарський як джерело цінних поліненасичених ЖК та в. лікарський і в. хвилястий як джерело важливих амінокислот [215, 216].

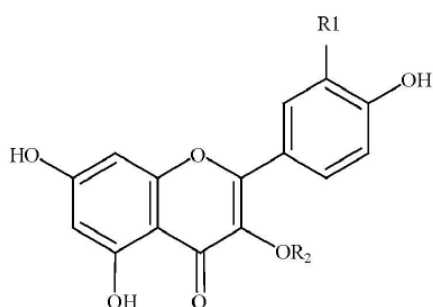
Guil-Guerrero J.L. та співавт. (Іспанія) проводили скринінг рослин, що можуть бути потенційними джерелами γ -ліолевої кислоти. Встановлено, що

олія з насіння в. італійського містить 11,11 % γ -ліноленової та 0,08 % стеаринової кислоти, яку широко використовують в кремах для місцевого зменшення запалення, викликаного опроміненням [186].

Kuhnt K. та співавт. (Німеччина) досліджували вміст жирної олії в насінні в. лікарського та його жирнокислотний склад. Встановлено, що загальний вміст жирної олії становить 12,7 %. У складі її методом ГХ було визначено 27,6 % ліноленової кислоти, 13,1 % α -ліноленової кислоти, 11,1 % γ -ліноленової кислоти та 24,2 % олеїнової кислоти [231].

Фенольні сполуки. Zengin G. та співавт. (Туреччина) виділили 13 складових компонентів трави в. хвилястого та ідентифікували їх. До них належать: розмаринова кислота (5,48 %), бензойна кислота (3,8 %), рутин (2,57 %) та катехін (1,25 %). Запропоновано розглядати рослину як перспективне джерело цих речовин [253].

Kuguuzum-uz A. та співавт. (Туреччина) з трави в. лікарського виділили розмаринову кислоту. Також, за допомогою спектрофотометричного методу встановили структуру чотирьох флавонових глікозидів: кемпферол-3-о- β -глюкопіранозиду (астрагалін), кверцетин-3-о- β -глюкопіранозиду (ізокверцетин), кемпферол-3-о- α -рамнопіранозил-(1''-6'')- β -глюкопіранозиду та кверцетин-3-о- α -рамнопіранозил-(1''-6'')- β -глюкопіранозиду (рутин) (рис. 1.6) [194, 218].



1. $R_1=H$, $R_2= Glc$
2. $R_1=OH$, $R_2= Glc$
3. $R_1=OH$, $R_2= Rha - Glc$
4. $R_1=H$, $R_2= Rha - Glc$

Рис. 1.6. Флавонолові глікозиди в. лікарського: 1 – астрагалін; 2 – ізокверцитрин; 3 – рутин; 4 – кемпферол-3-о- α -рамнопіранозил-(1''-6'')- β -глюкопіранозид

Boussoualim N. та співавт. (Алжир) визначили вміст суми поліфенольних сполук та флавоноїдів в метанольних екстрактах в. італійського. Встановлено,

що вміст суми поліфенольних сполук в етилацетатній фракції метанольного екстракту становить від 9,94 мг до 60,31 мг у перерахунку на галову кислоту в 1 г сухого екстракту. Вміст флавоноїдів становить 1,8-8,98 мг у перерахунку на кверцетин в 1 г сухого екстракту [168].

Samancioglu A. та співавт. (Туреччина, Словаччина та Чехія) вивчали загальний вміст фенолів та вітаміну С у складі традиційних дикорослих їстівних рослин Туреччини. Встановлено, що трава в. італійського містить 12,23 мг вітаміну С в 100 г свіжої сировини. Загальний вміст фенольних сполук становить 0,35 мг в 100 г свіжої сировини [248].

Alali F. та співавт. (Йорданія, США) провели визначення суми поліфенольних сполук в 95 рослинах, що ростуть в Йорданії. Досліджено, що вміст суми поліфенольних сполук у водному екстракті в. італійського становить 12,3 мг, у метанольному екстракті – 10,5 мг; вміст суми поліфенольних сполук у водному екстракті в. колючого становить 16,2 мг, у метанольному екстракті – 6,1 мг у перерахунку на галову кислоту в 1 г сухого екстракту [154].

Molan A. та Mahdy A. (Ірак) досліджували загальний вміст флавоноїдів в екстрактах рослин, які застосовують в народній медицині Іраку. Встановлено, що загальний вміст флавоноїдів у водному екстракті квіток в. італійського становить $26,8 \pm 0,07$ мг еквіваленту катехіну в 1 г сухої сировини [207].

Jakovljevič D. та співавт. (Республіка Сербія) досліджували вміст суми поліфенольних сполук у екстрактах трави в. лікарського. Встановлено, що водний екстракт містить $6,60 \pm 0,10$ мг/г сухої сировини суми поліфенольних сполук у перерахунку на галову кислоту, метанольний – $116,42 \pm 0,49$ мг/г, ацетоновий – $110,64 \pm 0,35$ мг/г, етилацетатний – $98,55 \pm 0,72$ мг/г та екстрагований петролейним ефіром – $67,75 \pm 0,56$ мг/г [196].

Morales P. та співавт. (Португалія, Іспанія) досліджували вміст суми поліфенолів та флавоноїдів у екстракті листків в. італійського. Встановлено, що сировина містить 148,62 мг/г сухого екстракту суми поліфенольних сполук у перерахунку на галову кислоту та 84, 81 мг/г сухого екстракту флавоноїдів у перерахунку на катехін [205].

Алкалоїди. El-Shazly A. та Wink M. (Єгипет, Німеччина) проводили дослідження складу та властивостей ПА з рослин родини Шорстколисті. З допомогою методів ГХ/МС ідентифіковано ПА в різних видах роду Воловик: у в. Міллера (*A. Milleri* Lam. ex Spreng.) – геліотридин, 7-ангелойлгеліотридин, ріндерин, супінін, ретронецин, вірідіфлорин та 7-ацетил-9-курасавойлеліотридин; у в. колючого – складні ефіри геліотридину, платинейну, трахелан-тамідину та ретронецину; у в. лікарського – інтермедин, курасавін, лікопсамін та 7-ацетиллікопсамін (рис. 1.7) [176].

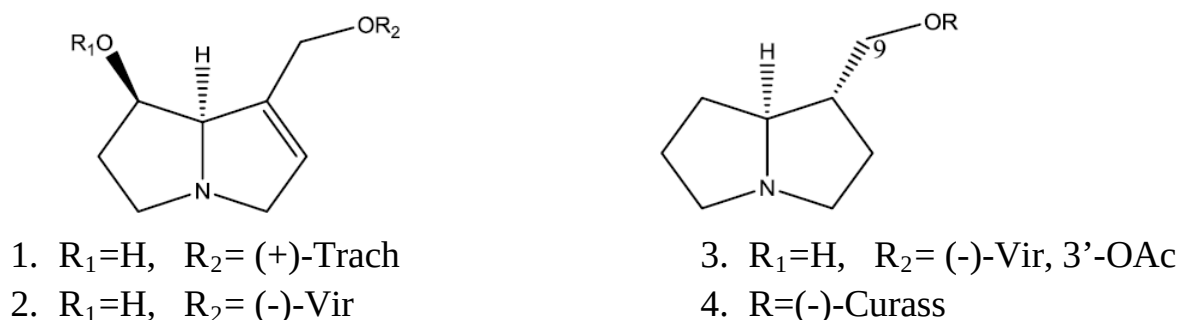


Рис 1.7. Піролізидинові алкалоїди рослин роду Воловик: 1 – інтермедин; 2 – лікопсамін; 3 – 7-ацетиллікопсамін; 4 – курасавін

Примітка. Trach – трахелантинова кислота; Vir – вірідіфлорова кислота; Ac – оцтова кислота; Curass – курасавова кислота.

Враса А. та співавт. (Італія) провели виділення та дослідження піролізидинових алкалоїдів та глікозидів з коренів в. колючого. До встановлених алкалоїдів належать 4 похідні ретронецину, 1 похідний трахелантамідину та 1 похідний супінідину [212].

Ефірні олії. Kazemi M. (Іран) провів дослідження ефірної олії трави в. італійського. Встановлено, що вона містить 34 компоненти, основними з яких є диізобутилфталат (14,6 %), дибутилфталат (9,0 %) та гексагідрофарнезил-ацетон (8,1 %) [198].

Вітаміни. Cotelì E. (Туреччина) вивчала вміст вітамінів у листках в. італійського методом ВЕРХ. Встановлено, що сировина містить $0,76 \pm$

0,09 мкг/г вітаміну А, $0,096 \pm 0,015$ мкг/г вітаміну Е та $30,88 \pm 6,22$ мкг/г вітаміну С у перерахунку на суху сировину [170].

Таким чином, науковці пропонують рослини роду Воловик як перспективне джерело цінних поліненасичених жирних кислот, розмаринової кислоти, бензойної кислоти, рутину, катехіну та амінокислот [139, 140, 186, 216, 215, 253].

В. лікарський використовують у біотехнології для отримання деяких груп БАР. Зокрема, він є продуцентом культури клітин, вторинним метаболітом яких є розмаринова кислота. Рослина вміщує незв'язані форми *L*-фенілаланіну та *L*-тирозину, які є прекурсорами цієї активної сполуки [165, 166, 194, 226].

De-Eknamkul W. та Ellis B. (Канада) виділили з культури клітин в. лікарського три форми тирозинамінотрансферази (ТАТ-1, ТАТ-2, ТАТ-3) та охарактеризували їх. Встановлено, що вказані сполуки незначно відрізняються за молекулярною масою, яка становить 180000–220000. Всі три ферменти демонструють яскраво виражену перевагу *L*-тирозину над іншими ароматичними амінокислотами, але ТАТ-2 і ТАТ-3 також можуть ефективно використовувати *L*-аспартат або *L*-глутамат як субстрати [173].

Відомості про наявність біологічно активних речовин в рослинах роду Воловик систематизовані у табл. 1.3.

Таблиця 1.3

Біологічно активні речовини рослин роду Воловик

Вид рослини	БАР	Література
1	2	3
В. лікарський	Сапоніни	59, 184
	Піролізидинові алкалоїди (консоліцин, консолідин, циногლოსин, інтермедин, курасавін, лікопсамін та 7-ацетиллікопсамін	55, 62, 68, 176, 184
	Жирні кислоти (лінолева, олеїнова, α - ліноленова і γ - ліноленова)	216
	Гідроксикоричні кислоти (розмаринова, літоспермова)	59, 165, 166, 173, 194, 226

Продовж. табл. 1.3

1	2	3
В. лікарський	Амінокислоти та протеїни	215
	Жирна олія	59, 62, 157
	Алантаїн	55, 62
	Слиз	62, 68
	Циклітоли (-)-борнезит, тритерпеноекверцілікозид А	59
	Органічні кислоти (лимонна, яблучна, янтарна, фумарова).	59
	Вітамін Е	59
	Каротин	59
В. італійський	Дубильні речовини	68
	Полісахариди	144
	Сапоніни	144, 183, 219
	Алкалоїди	144, 219
	Жирні кислоти (γ-ліноленова, стеаринонова)	144
	Флавоноїди:	12, 183, 186
	Вітамін С	149
	Жирні олії	168, 218
	Гідроксикоричні кислоти (розмаринова кислота)	183, 248
В. вузько-листяний	Жирні кислоти	154
В. хвилястий	Тритерпенові глікозиди (ундалатозид)	207
	Гідроксикоричні кислоти (розмаринова кислота)	144
	Карбонові кислоти (бензойна кислота)	144
	Флавоноїди (рутин, катехін)	144
	Амінокислоти та протеїни	248
	Жирні кислоти (пальмітинова, стеаринова, лінолева, α-ліноленова, γ-ліноленова)	230
В. гібридний	Жирні олії	144, 157
В. колючий	Ліпіди: фосфоліпіди (фосфатидин та етаноламін), тригліцеридна сполука – трипальмітин	139, 140
	Жирні кислоти	139, 140
	Тритерпеноїди (олеанолова та кратеголова кислоти, β-амірин, та β-цитостерилглікозид)	130, 132, 144

Продовж. табл. 1.3

1	2	3
В. колючий	Піролізидинові алкалоїди (складні ефіри геліотридину, платинейну, трахелантамідину та ретронецину)	130, 144, 176
	Фенольні сполуки	144
	Амінокислоти та протеїни	144
	Жирні олії	144, 157
В. Міллера	Піролізидинові алкалоїди	176
В. капський	Жирні олії	157

Згідно даних, відображених в табл. 1.3, рослини роду Воловик містять фенольні сполуки, сапоніни, карбонові кислоти, слиз, жирні олії, алантоїн, алкалоїди, вітамін С, каротин та амінокислоти.

1.4 Фармакологічні властивості, застосування в медицині та народному господарстві

Завдяки вмісту комплексу біологічно активних речовин, рослини роду Воловик проявляють широкий спектр фармакологічної дії [27]. Відомості про такі ефекти відображені в роботах зарубіжних дослідників [130, 131, 134, 139 – 148, 152, 153, 156, 168, 188, 191, 194, 207, 243, 244, 248, 251].

Протизапальна дія. Kuruuzum-Uz A. та співавт. (Туреччина) досліджували протизапальну дію водних і метанольних екстрактів та розмаринової кислоти, виділених з трави та коренів в. італійського. Встановлено, що вказані екстракти загалом та розмаринова кислота зокрема, проявляють значний протизапальний ефект в експерименті на моделі карагенініндукованого набряку лапи щура [194].

Протимікробна дія. Al-Salihi F. G. та співавт. (Ірак) досліджували протимікробну активність ефірних і жирних олій, виділених з в. колючого. Встановлено, що ефірні олії проявляють антибактеріальну дію щодо всіх штамів бактерій, особливо у високих концентраціях (200 і 500 мкг/мл). Вказано

на перспективу отримання біоактивних природних продуктів з антимікробною дією [139, 140].

Miri A. та співавт. (Іран) досліджували антибактеріальну активність екстрактів з листків та насіння в. польового (*A. arvensis* (L.) M.Bieb.) щодо полірезистентних патогенних мікроорганізмів. Встановлено, що етанольний екстракт листків в. польового інгібує зону росту *Pseudomonas aeruginosa*, етанольний екстракт листків в. польового – зону росту *Staphylococcus aureus* [156].

Ali-Shtayeh M. та співавт. (Палестина) досліджували фармакологічну активність рослин, які використовують в народній медицині Палестини. Встановлено, що в. колючий проявляє антимікробну активність щодо *Staphylococcus aureus* та *Proteus vulgaris* [153].

Jakovljević D. та співавт. (Сербія) досліджували протимікробну дію водного та метанольного екстрактів трави в. лікарського. Встановлено, що метанольний екстракт є ефективними проти грампозитивних мікроорганізмів, зокрема *Staphylococcus aureus* та *Bacillus subtilis* [196].

Гормонорегулююча дія. Boussoualim N. та співавт. (Алжир) досліджували ефект пригнічення β -лактамази метанольними та водним екстрактами в. італійського. Встановлено, що інгібуюча активність вказаних екстрактів знаходиться в межах 58-68 % у порівнянні з контрольним дослідом. Встановлено, що фракції метанольного екстракту та водний екстракт в. італійського значно пригнічують ксантиноксидазу, а також значимо знижують рівень креатиніну в сироватці крові та в печінці і рівень сечовини при гіперурикемії у мишей [168, 191].

Bustanji Y. та співавт. (Йорданія) провели скринінг рослин, що проявляють пригнічуючий вплив на гормонозалежну ліпазу. Метанольний екстракт з трави в. італійського проявив третій за ступенем впливу результат серед досліджених двадцяти дев'яти екстрактів рослин, що вказує на можливість використання при лікуванні інсулінорезистентності [188].

Wszelaki N., Kuciun A. та Kiss A. (Німеччина, Польща) проводили скринінг рослин, які використовують в народній медицині для лікування порушень діяльності центральної нервової системи та покращення пам'яті, щодо їх здатності пригнічувати ацетилхолін- та бутирилхолінестеразу, які відіграють велику роль у розвитку хвороби Альцгеймера. Встановлено, що метанольний екстракт в. лікарського у концентрації 400 мг/мл пригнічує АХЕ на $10,0 \pm 7,9 \%$, БХЕ – на $34,0 \pm 4,7 \%$, а гексановий екстракт в. лікарського у концентрації 400 мг/мл пригнічує АХЕ на $39,6 \pm 8,7 \%$, БХЕ – на $33,5 \pm 4,5 \%$. Відзначено, що такі показники знаходяться в межах середніх даних і не можуть бути підставою для подальших досліджень екстрактів з в. лікарського щодо інгібування вказаних ферментів [251].

Tsalkovich L. та співавт. (Ізраїль) провели дослідження екстрактів 20 рослин народної медицини Ізраїлю щодо їх впливу на β -амілоїд. Встановлено, що етанольний екстракт в. колючого здатний знижувати рівень амілоїду та активність γ -секретази, які є основними факторами у розвитку хвороби Альцгеймера [152].

Противірусна дія. Ketabchi S. та співавт. (Іран) дослідили активність екстрактів в. італійського щодо вірусу грипу. Встановлено, що етанольний екстракт з листків і квітів в. італійського має вищий ефект, ніж водний і може бути використаний як аналог противірусного препарату «Амантадин». Механізм противірусної активності вказаних екстрактів повністю не з'ясований, але наведено припущення, що він може бути пов'язаний з інгібуванням вірусної транскрипції або реплікації [244].

Протиканцерогенна дія. Abu-Rabia A. (Палестина) досліджував лікарські рослини, які здавна використовують у народній медицині Палестини. Запропоновано розглядати в. колючий як потенційний об'єкт з антиканцерогенною активністю [131].

Противиразкова дія. Disi A. та співавт. (Йорданія) досліджували екстракти з коренів в. колючого щодо їх противиразкової дії. Доведено гастропротекторну дію при етаноліндукованих моделях виразки у щурів.

Екстракти з коренів в. колючого інгібують активність пепсину при дослідженні *in vitro*, проте механізм їх гастропротекторної дії повністю не вивчено. Відзначено необхідність подальших досліджень для встановлення механізму дії вказаних екстрактів в природних умовах [92, 130, 167, 174, 243].

Протидіабетична дія. Ahmed M. та Nuray A. (Ірак, Туреччина) досліджували антидіабетичну активність водного екстракту з в. колючого на моделі СТЗ діабету у щурів. Встановлено значне зниження глюкози в крові натще і збільшення в сироватці крові рівня інсуліну при введенні екстракту в. колючого щурам з модельованим цукровим діабетом. Пероральний прийом водного екстракту в. колючого підвищує масу тіла у щурів, хворих на цукровий діабет, що пов'язують з посиленням секреції інсуліну і належного контролю глікемії [93, 134].

Антиоксидантна дія. Molan A. та Mahdy A. (Ірак) дослідили 12 рослин народної медицини Ірану щодо їх здатності усувати вільні радикали та пригнічувати активність бактеріального ферменту β -глюкуронідази. Антиоксидантну активність рослинних екстрактів оцінювали на основі ефекту очищення від стабільного 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилу (DPPH) з активністю вільних радикалів. Очищувальний ефект водного екстракту в. італійського знаходиться на рівні $72,3 \pm 2,5 \%$, а здатність цього ж екстракту пригнічувати активність β -глюкуронідази становить $44,3 \pm 0,94 \%$ [207].

Samancioglu A. та співавт. (Туреччина, Словаччина та Чехія) вивчали активність традиційних дикорослих їстівних рослин Туреччини щодо вільних радикалів. Встановлено, що антиоксидантна активність в. італійського (EC_{50}) становить 178,96, що вказує на ефективність рослини у пригніченні процесів ВРО в клітинах живих організмів [248].

Фармакологічні ефекти деяких видів *Anchusa* L. узагальнено і відображено в табл. 1.4.

Наведені дані вказують, що фармакологічними ефектами рослин роду Воловик є противиразковий, протизапальний, антибактеріальний, ранозагоювальний, антиоксидантний, ферменто- та гормонорегулюючий тощо.

Фармакологічна дія рослин роду Воловик

Дія	Вид рослини, її частина	Література
Протизапальна	В. лікарський, в. італійський	59, 194
Пом'якшуюча	В. лікарський	59, 62, 66, 68, 88
Сечогінна	В. лікарський (листки)	59, 62, 66, 88
Потогінна	В. лікарський (квітки)	59, 62, 66, 88
Відхаркувальна	В. лікарський, в. італійський(корені)	59, 66, 68, 88
Ранозагоювальна	В. лікарський, в. італійський (корені)	59, 88
Жарознижуюча	В. лікарський, в. італійський (квітки)	59, 88
Антибактеріальна	В. лікарський, в. італійський, в. колючий, в. польовий	59, 88, 139, 140, 153, 156
Гормонорегулююча	В. лікарський, в. італійський, в.хвилястий	59, 88, 188, 230
Гемостатична	В. італійський (корені)	88
Антипротозойна	В. італійський	88
Антиоксидантна	В. італійський, в. хвилястий	205, 207, 230, 248
Кровоочисна	В. лікарський	62, 66
Противірусна	В. італійський	244
Ферменторегулююча	В. італійський, в. колючий, в. хвилястий	152, 168, 191, 203, 230
Антиканцерогенна	В. колючий	131
Противиразкова	В. колючий	130, 167, 243
Антидіабетична	В. колючий	134

Рослини роду Воловик здавна використовують у народній медицині [19, 30, 55, 59, 60, 62, 88, 121, 131, 160, 185, 187, 200, 206, 228, 229, 244]. Народні назви рослин роду Воловик: баранячий язик, буглаз, воловодка-синька, вологладка, вологлід, галочка, корінь красний, корінь цареградський, кукурічка мужеська, купинос, манія, мединишник, медуниця польова, медянишник, ранник, рум'янка, свинюшник, серпоріз, синяк, синень, синька, сліпотрава, трава бугласова, червениця, язик бичачий, язик воловий [19, 55, 62, 66, 68].

В минулому в. лікарський (*Bugloss, Ox-tongue*) був офіційним видом і в медицині застосовували його траву під назвою *Herba lingulae bovis*, а також корені, траву та квітки під давньою назвою *Radix, Herba et Flos buglossi* [68, 175]. Ібн Сіна (Авіцена) в своїх працях пропонував в. італійський як засіб при лікуванні серцево-судинних захворювань [197]. В літературних джерелах ХІХ століття присутня згадка про в. лікарський. Рослину застосовували при лікуванні захворювань дихальної та сечовидільної системи. З кореня в. лікарського готували відвар та наливку [95].

Літературні джерела кінця ХХ – початку ХХІ століття свідчать, що чай з в. лікарського є ефективним при гострих респіраторних вірусних інфекціях [114, 121]. Рослини роду Воловик використовують як засіб від кашлю, при захворюваннях нирок, при грипі, укусах скажених собак та зубному болю, а алантоїн, виділений з в. лікарського – як компонент мазі при повільному загоюванні ран і виразок; у вигляді колоїдного розчину – при лікуванні виразки шлунка і дванадцятипалої кишки [30, 55, 62, 68].

В окремих країнах та регіонах досвід використання видів роду Воловик вказує на різнонаправлену дію цих рослин. В Середній Азії в. італійський використовують при захворюваннях серця і печінки. На Кавказі в. італійський застосовують при жовтяниці, а препарати з коренів рослини – як гемостатичні та ранозагоювальні засоби [88]. В Індії в. італійський вживають при дисфункції жовчного міхура, гарячці, кашлі, астмі, каменях у сечовому міхурі та нирках, в. колючий – як противиразковий засіб [155, 200]. В Ірані настій в. італійського застосовують при захворюваннях серця, болю голови, захворюваннях вух, для полегшення симптомів застуди, а також як гіпотензивний засіб [88, 175, 187, 193, 244]. В Палестині листки і корені в. колючого використовують при лікуванні дизентерії, ревматизму, синуситів та варикозу [131]. В Єгипті водні витяги з листків в. щетинистого вживають при ревматизмі [160].

Рослини роду Воловик широко використовують в народному господарстві та косметології [19, 30, 59, 68, 88, 215].

Отже, провівши літературний пошук наукових першоджерел ми встановили, що рослини роду Воловик представлені на території України 11 видами, які зосереджені переважно в її Лісостепових районах, рідше – Степу, а також на Кримському півострові. Рослини роду Воловик є неофіційними, проте завдяки комплексу біологічно активних речовин, різноманіттю фармакологічних ефектів, низькій токсичності та віковому досвіду використання в народній медицині та господарстві, є перспективною сировиною для отримання фітосубстанцій і створення нових препаратів на їх основі.

Матеріали, викладені у даному розділі, відображено у публікаціях [24, 26, 27, 92, 93, 185, 241].

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 1

На підставі отриманих аналітичних даних встановлено, що в Україні детальні дослідження морфологічної та анатомічної будови рослин роду Воловик, біологічних особливостей їх зростання, ресурсів, хімічного складу та фармакологічної активності практично відсутні. Водночас, результати закордонних досліджень вказують на актуальність застосування в медицині видів роду Воловик та потребу в їх подальшому фармакогностичному дослідженні.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Об'єкти дослідження

Об'єктами морфологічного дослідження стали 11 видів рослин роду Воловик: в. лікарський, в. високий, в. італійський, в. Баррельє, в. вузьколистий, в. Гмеліна, в. несправжньо-світло-жовтий, в. світло-жовтий, в. фесалійський, в. довгостовпчиковий та в. маленький. Об'єктами фармакогностичного дослідження – в. лікарський та в. високий, заготовлені у Івано-Франківській, Тернопільській, Закарпатській та Одеській областях у 2012 - 2017 рр. з урахуванням особливостей збору, правил зберігання лікарських рослин та з умовою бережливого відношення до флори (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

Досліджувані види рослин роду Воловик

№ з/п	Назва рослини	Вид сировини	Місце і рік заготівлі*
1	2	3	4
1.	В. лікарський (<i>A. officinalis</i> L.)	Трава	Івано-Франківська обл., Тисменицький р-н, с. Хриплин, 2012 - 2017 рр.
			Івано-Франківська обл., Тисменицький р-н, с. Загвіздя, 2012 р.
			Івано-Франківська обл., Калуський р-н, с. Вістова, 2015 - 2017 рр.
			Тернопільська обл., Кременецький р-н, с. Млинівці, 2014 р.
			Тернопільська обл., Кременецький р-н, с. Устечко, 2016 р.
			Закарпатська обл., Виноградівський р-н, м. Виноградів, 2017 р.
		Корені	Івано-Франківська обл., Тисменицький р-н, с. Хриплин, 2016 р.
			Івано-Франківська обл., Калуський р-н, с. Вістова, 2016 р.

Продовж. табл. 2.1

1	2	3	4
2.	В. високий (<i>A.procera</i> Bess.)	Трава	Одеська обл., Овідіопольський р-н., смт. Таїрове, 2016 - 2017 рр.
			Одеська обл., Овідіопольський р-н., с. Бурлача Балка, 2017 р.
		Корені	Одеська обл., Овідіопольський р-н., смт. Таїрове, 2017 р.

Примітка. * - відомості про фазу заготівлі сировини наведені у розділах дисертації.

Зразки сировини та гербарії наявні у рослинному фонді кафедри фармації ІФНМУ.

Екстракти трави в. лікарського та мазь з екстрактом трави в. лікарського стали об'єктами фітохімічного та фармакологічного досліджень.

2.2. Методи дослідження біологічно активних речовин

Вивчення біологічно активних речовин рослин роду Воловик проведено з допомогою аналітичних реакцій, ПХ, ТШХ, адсорбційної хроматографії на силікагелі та поліаміді, ВЕРХ, ГХ/МС, атомно-абсорбційної спектрофотометрії, а також титриметричних, спектрофотометричних та гравіметричних методів [5, 10, 11, 17, 18, 31, 33, 36, 37, 51, 52, 53, 67, 84, 105, 112, 118, 122, 124, 126, 190, 224, 239].

2.2.1. Хімічні реакції ідентифікації

Сировину висушували у затінку, подрібнювали з допомогою млинка з електричним приводом до розміру частинок, що проходять через сито з діаметром отворів 1 - 3 мм. Екстрагували водою очищеною, етанолом 70 % та водою, підкисленою розчином кислоти хлоридної. В отриманих витяжках ідентифікували основні групи БАР згідно методик наукової літератури [5, 10, 17, 31, 118].

2.2.2. Хроматографічні методи

Для ідентифікації та кількісного визначення певних груп БАР та їх окремих компонентів, використовували методи колонкової хроматографії на поліаміді та силікагелі, висхідної одно- та двовимірної, одно- та багаторазової хроматографії на папері, ТШХ, ВЕРХ та ГХ/МС [31].

Вивчення якісного складу сировини методами ПХ та ТШХ

У траві коренях та екстрактах рослин роду Воловик з допомогою методів одно- та двовимірної висхідної ПХ, ТШХ та адсорбційної хроматографії на силікагелі та поліамідному сорбенті вивчали фенольні сполуки, карбонові кислоти, тритерпенові сполуки та моносахаридні склади полісахаридних комплексів [6, 36, 54, 67, 105, 122, 126, 163, 190, 239].

Для проведення ПХ та ТШХ використовували папір марки «*Filtrak FN-1*» та пластинки «*Sorbfil*» ПТСХ-АФ-А-УФ відповідно. Значення R_f на хроматограмах є усередненими показниками 5 визначень.

Для хроматографічного розділення досліджуваних речовин використовували поліамід з частками діаметром 0,25 мм.

Реактиви та розчинники для приготування хроматографічних систем використано кваліфікації ч. д. а. або х. ч. Співвідношення розчинників, позначені цифрами, взяті в об'ємних одиницях.

Для хроматографування застосовували такі системи розчинників:

№ 1 – *n*-бутанол – кислота оцтова льодяна – вода очищена (4:1:2);

№ 2 – кислота оцтова 15 %;

№ 3 – етилацетат – кислота оцтова льодяна – кислота мурашина – вода очищена (100:11:11:25);

№ 4 – *n*-бутанол – кислота мурашина безводна – вода очищена (10:1:4);

№ 5 – етилацетат – кислота мурашина безводна – вода очищена (3:1:1);

№ 6 – ізопропіловий спирт – розчин амоніаку 25 % (7:3);

№ 7 – етилацетат – кислота оцтова льодяна – кислота мурашина безводна – вода очищена (18:3:1:4);

№ 8 – *n*-бутанол – етанол 96 % – вода очищена – розчин амоніаку 25 % (40:10:49:1);

№ 9 – *n*-бутанол – етанол 96 % – 0,1 % розчин кислоти хлоридної (1:10:5);

№ 10 – *n*-бутанол – кислота оцтова льодяна – вода очищена (3:1:1);

№ 11 – хлороформ – етанол (9:1);

№ 12 – хлороформ – етилацетат (1:1);

№ 13 – *n*-бутанол – піридин – вода (6:4:3);

№ 14 – гексан – ацетон (7:3);

№ 15 – бензол – етилацетат – ацетон (100:8:0,5).

Речовини аналізували після двох- чи трьохкратної перекристалізації з відповідних розчинників та висушування у вакуумі при 10^{-2} мм рт. ст. над фосфорним ангідридом впродовж 4 год при температурі 110 °С. Температуру їх плавлення визначали з допомогою блоку Кофлера.

УФ-спектри поглинання визначали на спектрофотометрі Specord M 40 № 1503 («Carl Zeiss», Німеччина) в діапазоні хвиль довжиною від 100 до 900 нм у порівнянні зі стандартними зразками в кюветах із товщиною шару 10 мм.

На хроматограмах речовини ідентифікували до та після обробки відповідними реактивами за забарвленням зон при денному світлі та за флуоресценцією у фільтрованих УФ-променях.

Ідентифікацію *фенольних сполук* проводили методом двовимірної ПХ за такою методикою: 10,0 г сировини поміщали у конічну колбу, заливали 100 мл етанолу 70 % і екстрагували при температурі кипіння екстрагенту впродовж 1 год. Отриману витяжку фільтрували, упарювали до 1/10 об'єму, наносили на хроматографічний папір марки «Filtrak FN-1» і вивчали методом двовимірної хроматографії в системах розчинників № 1 та № 2. Хроматограми розглядали в УФ-світлі до та після обробки їх парами амоніаку, 3 % спиртовим розчином алюмінію гідроксиду та 5 % спиртовим розчином натрію гідроксиду.

З метою виділення та встановлення структури біологічно активних сполук трави в. лікарського 0,3 кг повітряно-сухої сировини подрібнювали до

розміру частинок, що проходять через сито з діаметром отворів 1,0 – 3,0 мм та екстрагували послідовно етанолом 96 % та 70 % впродовж 60 хв при температурі 60 – 65°C. Витяги об'єднували, упарювали до водного залишку під вакуумом, витримували 48 год при температурі 4°C для відділення ліпофільних речовин та фільтрували. Фільтрат послідовно екстрагували органічними розчинниками шляхом обробки водного залишку по 6 – 7 разів в ділильній лійці рівною кількістю хлороформу, а після відділення хлороформної фракції і видалення слідів хлороформу – етилацетатом. Водний залишок після екстракції етилацетатом розділяли на дві частини. Одну частину залишали для виділення сполук, а іншу підкислювали розведеною сульфатною кислотою до рН=3,0-4,0 з метою гідролізу О-глікозидів і здійснювали екстракцію *n*-бутанолом. Бутанольну витяжку промивали водою до рН 6,0-7,0. Одержані витяжки упарювали в умовах вакууму до смолоподібного стану.

Для розділення індивідуальних сполук використовували адсорбційну хроматографію на силікагелі та поліамідному сорбенті. Ідентифікацію отриманих субстанцій проводили за допомогою якісних реакцій, їх фізичних властивостей та методами ПХ і ТШХ.

Органічні кислоти виявляли методом ПХ за такою методикою: 1,0 г знежиреної сировини вміщували у конічну колбу, додавали 10 мл етанолу 70 % та витримували при температурі кипіння екстрагенту впродовж 30 хв. Отриману витяжку охолоджували та фільтрували.

Хроматографічне дослідження проводили у системах розчинників № 3 – 5 із подальшою обробкою хроматограм 0,05 % спиртовим розчином бромтимолового синього та 0,1 % спиртовим розчином 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію у порівнянні із достовірними зразками аскорбінової, щавлевої, яблучної, лимонної, бензойної, молочної, саліцилової, бурштинової та винної кислот.

Ідентифікацію *амінокислот* проводили методом ПХ за такою методикою: 10,0 г подрібненої сировини поміщали у колбу, заливали 100 мл етанолу 70 % і

настоювали при кімнатній температурі. Отриману витяжку концентрували до 10 мл.

Хроматографування проводили в системі розчинників № 1 у порівнянні зі стандартними зразками амінокислот в концентрації 0,1 % (розчинник – етанол 96 %) методом багатократного розвинення хроматограми, що дозволяє фронту розчинника при тій же довжині листа хроматографічного паперу пройти більшу відстань. Як хромогенний проявник використовували 0,2 % розчин нінгідрину в етанолі 96 % з наступним нагріванням хроматограми при 96°C до появи фіолетових або рожево-фіолетових плям амінокислот.

Для вивчення *моносахаридного складу полісахаридних комплексів* використовували методи ПХ та ТШХ. 0,1 г полісахариду розчиняли в мінімальному об'ємі води очищеної і гідролізували рівним об'ємом розчину 20 % кислоти сульфатної при нагріванні на водяному нагрівнику. Хід процесу контролювали хроматографічно. Гідролізати нейтралізували барію гідроксидом до нейтральної реакції за універсальним індикатором, розчини фільтрували, фільтри і осад на фільтрі промивали водою очищеною. Фільтрати випарювали під вакуумом до сухих залишків, які розчиняли в 0,5 мл етанолу 96 % та аналізували методами ТШХ в системах розчинників № 10 (нейтральні цукри) і № 9 (кислі цукри) і ПХ в системах розчинників № 1 та № 6 – 8. Хроматограми висушували на повітрі, обробляли розчином анілінфталевого реактиву і нагрівали у сушильній шафі при температурі 100 – 105°C впродовж 10 хв.

Вивчення БАР сировини методом ВЕРХ

Розділення суми фенольних сполук здійснене з допомогою високоефективного рідинного хроматографа Agilent Technologies 1200 (США) з фотометричним діодно-матричним детектором UV-Vis G1315C, обладнаним проточним дегазатором G1322A, автосамплером G1329A, термостатом колонок G1316A, в комплексі з персональним комп'ютером із програмним забезпеченням Agilent ChemStation.

Виділення *гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та танінів* здійснювали шляхом обернено-фазної хроматографії, використовуючи хроматографічну

колонку «Discovery C₁₈» із зернінням 5 мкм, довжиною 250 мм, внутрішнім діаметром 4,6 мм з передколonoю довжиною 20 мм і аналогічним внутрішнім діаметром та зернінням.

Для розділення *гідроксикоричних кислот* та *флавоноїдів* як рухому фазу використовували: елюент А – 0,005 N ортофосфорна кислота та елюент В – ацетонітрил. Параметри хроматографічного аналізу: об'ємна витрата елюенту 0,8 мл/хв, температура термостата колонки 25°C; об'єм введеної проби 10 – 20 мкл, час хроматографування – 60 хв. Режим подачі елюентів – градієнтний; діапазон детектування – 190 – 400 нм, довжина хвилі 320, 330 нм (для *гідроксикоричних кислот*) та 255, 340 нм (для *флавоноїдів*).

Для виділення *танінів* як рухому фазу використовували: елюент А – трифлуороцтова кислота (0,1 %) в ацетонітрилі (5 %) та елюент В – трифлуороцтова кислота (0,1 %) в ацетонітрилі. Параметри хроматографічного аналізу: об'ємна витрата елюенту 0,1 мл/хв, температура термостата колонки 25°C; об'єм введеної проби 10 мкл, час хроматографування – 60 хв. Режим подачі елюентів – градієнтний; діапазон детектування – 190 – 400 нм, довжина хвилі 255, 280 нм [37, 112].

Вивчення БАР сировини методом ГХ/МС

Вивчення *жирних кислот, летких сполук та фітостеролів* трави в. лікарського проводили методом ГХ/МС на хроматографі Agilent Technologies 6890 з мас-спектрометричним детектором 5973 з капілярною колонкою HP-5ms (діаметр – 0,25 мм, довжина – 30 м). Швидкість газу-носія (гелій) – 1,0 мл/хв. Температура нагрівача введення проби – 250°C. Температура термостата програмована від 60°C до 3200°C зі швидкістю 7 °/хв.

Для отримання метилових естерів жирних кислот 0,05 г подрібненої трави вміщували у віали об'ємом 2 мл, додаючи при цьому тридекан як внутрішній стандарт та 2 мл 2 % розчину ацетилхлориду в метанолі. Віали витримували впродовж 2 год при температурі 37°C. Метилові естери жирних кислот екстрагували 500 мкл гексану.

Для аналізу *летких сполук* та *фітостеролів* до наважки повітряно-сухої трави в. лікарського (1000 мг) у колбі на 2 мл, додавали внутрішній стандарт (тридекан), з розрахунку 50 мкг на наважку, з подальшим розрахунком отриманої концентрації внутрішнього стандарту.

Для ідентифікації компонентів отримані спектри розглядали на основі загальних закономірностей фрагментації молекул органічних сполук під дією електронного удару, а також шляхом порівняння отриманих результатів з даними бібліотек мас-спектрів NIST05 и WILEY 2007 із загальною кількістю спектрів більш 470000 у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS и NIST. Кількісний вміст компонентів (X , мг/кг) визначали відносно внутрішнього стандарту за формулою 2.1:

$$X = \frac{P_1 \times 50}{P_2 \times m} \quad (2.1),$$

де P_1 – площа піка речовини, що вивчалася;

50 – маса внутрішнього стандарту, що вводився в зразок, мкг;

P_2 – площа піка стандарту;

m – наважка сировини, г.

2.2.3. Титриметричні методи

Вміст *кислоти аскорбінової* визначали за фармакопейною методикою [17, 63]. 20,0 г (точна наважка) грубо подрібненої сировини поміщали у фарфорову ступку і ретельно розтирали із 5,0 г скляного порошку, поступово додаючи 300 мл води очищеної. Отриману суміш настоювали впродовж 10 хв, після цього фільтрували. В колбу на 100 мл поміщали 1 мл отриманого фільтрату, 1 мл 2 % розчину кислоти хлоридної та 13 мл води очищеної і з допомогою мікробюретки проводили титрування 0,001 моль/л розчином натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту до появи рожевого забарвлення, що не зникало впродовж 30 – 60 с. Вміст аскорбінової кислоти у перерахунку на абсолютно суху сировину у відсотках (X) розраховували за формулою 2.2:

$$X = \frac{V \times 0,000088 \times 300 \times 100 \times 100}{m \times (100 - w)} \quad (2.2),$$

де: V – об'єм розчину натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту (0,001 моль/л), витраченого на титрування, мл;

0,000088 – кількість аскорбінової кислоти, що відповідає 1 мл розчину натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту (0,001 моль/л), г;

m – маса сировини, г;

w – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Суму *органічних кислот* визначали за фармакопейною методикою [17, 53]. 1,0 г (точна наважка) подрібненої сировини поміщали в колбу зі шліфом місткістю 100 мл, додавали 50 мл етанолу 70 %. Колбу приєднували до зворотнього холодильника і нагрівали на водяному нагрівнику вродовж 30 хв, охолоджували, фільтрували. У мірну колбу на 1 л поміщали 10 мл витяжки, додавали 300 мл свіжоотриманої води очищеної, 1 мл 1 % спиртового розчину фенолфталеїну та 2 мл 0,1 % розчину метиленового синього і титрували розчином натрію гідроксиду 0,1 моль/л до появи лілово-рожевого забарвлення. Вміст органічних кислот (X , %) обчислювали за формулою 2.3:

$$X = \frac{V \times 0,0067 \times 50 \times 100 \times 100}{m \times 10 \times (100 - w)} \quad (2.3),$$

де: V – об'єм розчину натрію гідроксиду (0,1 моль/л), витраченого на титрування, мл;

m – маса наважки сировини, г;

0,0067 – кількість органічної кислоти, що відповідає 1 мл розчину натрію гідроксиду (0,1 моль/л), г;

w – втрата в масі при висушуванні, %.

Визначення суми *окиснюваних поліфенолів* проводили за фармакопейною методикою (метод Левенталю) [17]. Вміст суми окиснюваних поліфенолів (X , %) у перерахунку на абсолютно суху сировину обчислювали за формулою 2.4:

$$X = \frac{V - V_1 \times 0,004157 \times 250 \times 100 \times 100}{m \times 25 \times (100 - w)} \quad (2.4),$$

де: V – об'єм розчину калію перманганату (0,02 моль/л), витраченого на титрування витягу, мл;

V_1 – об'єм розчину перманганату калію (0,02 моль/л, витраченого на титрування контрольного досліду, мл;

m – маса сировини, г;

0,004157 – кількість окиснюваних поліфенолів, що відповідає 1 мл розчину перманганату калію (0,02 моль/л) у перерахунку на танін, г;

250 – загальний об'єм витягу, мл;

25 – об'єм витягу, взятий для титрування, мл;

w – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

2.2.4. Гравіметричні методи

Кількісний вміст полісахаридів визначали за методикою, наведеною в монографії ДФУ 2.0 Т.3 «Подорожника великого листя» [33]. Вміст полісахаридів (X) у відсотках в перерахунку на абсолютно суху сировину розраховували за формулою 2.5:

$$X = \frac{(m_2 - m_1) \times 500 \times 100 \times 100}{m \times 25 \times (100 - w)} \quad (2.5),$$

де: m_2 – маса фільтра із залишком, г;

m_1 – маса фільтра, г;

m – маса сировини, г;

w – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Вивчення *фракційного складу полісахаридних комплексів* проводили гравіметрично [22, 52]. Для розділення фракцій використовували повітряно-сухий шрот після очищення сировини хлороформом в апараті Сокслета та трикратної екстракції фенольних сполук етанолом 70 % у співвідношенні 1:10. Шрот сировини екстрагували послідовно водою очищеною, 0,15 % розчином кислоти хлоридної та 10 % розчином натрію гідроксиду. Отримані фракції осаджували трикратним об'ємом етанолу 96 %. Утворені осади центрифугували

при 3000 об/хв, фільтрували, висушували в термостаті при температурі 40°C і зважували. Вміст фракцій розраховували за формулою 2.5.

Для визначення вмісту *слизу* близько 10,0 (точна наважка) сировини, подрібненої до розміру частинок, що проходять через сито з отворами діаметром 2 мм, поміщали в колбу зі шліфом на 250 мл, додавали 100 мл води очищеної і екстрагували в апараті для струшування впродовж 3 год. Екстракцію повторювали ще двічі, кожного разу використовуючи по 100 мл води, впродовж 12 год. Водні витяжки об'єднували, центрифугували при 3000 об/хв, фільтрували і доводили об'єм розчину водою очищеною до 300 мл (розчин А). 50 мл розчину А поміщали в центрифужну пробірку, додавали 150 мл етанолу 96 %, перемішували. Через годину вміст пробірки центрифугували при 3000 об/хв, фільтрували, висушували в термостаті при температурі 40°C і зважували. Вміст слизу (X) в перерахунку на абсолютно суху сировину у відсотках визначали за формулою 2.6:

$$X = \frac{m_1 \times 300 \times 100 \times 100}{m \times 50 \times (100 - w)} \quad (2.6),$$

де: m_1 – маса осаду, г;

m – маса сировини, г;

w – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

2.2.5. Спектрофотометричні дослідження

Спектрофотометричні дослідження проводили на базі Центру біоелементології кафедри біологічної та медичної хімії імені академіка Г. О. Бабенка при консультативній допомозі завідувача кафедри професора Г. М. Ерстенюк.

Кількісне визначення *суми поліфенолів* в сировині проводили за методикою ДФУ 2.0 Т.1 [31]. Вміст суми поліфенолів (X) у перерахунку на пірогалол у відсотках обчислювали за формулою 2.7:

$$X = \frac{62,5 \times A_1 \times m_2}{A_0 \times m_1} \quad (2.7),$$

де: m_1 – маса наважки випробувальної сировини, г;

m_2 – маса наважки пірагалолу, г;

A_1 – оптична густина випробувального розчину;

A_0 – оптична густина розчину порівняння.

Кількісне визначення *танінів* у сировині проводили за методикою ДФУ 2.0 Т.1 [31]. Вміст танінів (X) у відсотках обчислювали за формулою 2.8:

$$X = \frac{62,5 \times (A_1 - A_2) \times m_2}{A_3 \times m_1} \quad (2.8),$$

де A_1 – оптична густина досліджуваного розчину;

A_2 – оптична густина досліджуваного розчину після додавання шкірного порошку;

A_3 – оптична густина розчину порівняння;

m_1 – маса випробувального зразка, г;

m_2 – маса пірагалолу, г.

Визначення суми *флавоноїдів* проводили методом УФ-спектрофотометрії на основі реакцій із розчином алюмінію хлориду у перерахунку на ізокверцитрин для трави в. лікарського та в. високого та у перерахунку на апігенін для коренів в. лікарського [18, 33, 125, 224]. Точну наважку (1,0 г) подрібненої сировини з діаметром часток не більше 3,0 мм, поміщали в пакет з фільтрувального паперу і очищали хлороформом в апараті Сокслета до знебарвлення розчинника. Сировину висушували на повітрі, поміщали в круглодонну колбу зі шліфом на 100 мл та екстрагували етанолом 70 % у співвідношенні 1:30 на водяному нагрівнику зі зворотнім холодильником впродовж 30 хв при температурі кипіння розчинника. Дану технологічну операцію повторювали ще двічі за аналогічних умов. Отримані витяги фільтрували в мірну колбу місткістю 100 мл, доводили екстрагентом до мітки і перемішували. До 2 мл витяжки і додавали 1 мл 3 % розчину алюмінію хлориду у етанолі 95 % і об'єм розчину доводили етанолом 70 % до мітки. Оптичну густина одержаного розчину вимірювали на спектрофотометрі Specord M 40

при довжині хвилі 410 нм (380 нм) у кюветі з товщиною шару 10 мм. Для порівняння використовували розчин, який складався з 2 мл витяжки доведений етанолом 70 % до мітки у мірній колбі на 25 мл. Вміст флавоноїдів в перерахунку на ізокверцитрин і абсолютно суху сировину обчислювали за формулою 2.9:

$$X = \frac{A \times 100 \times 25 \times 100}{E_{1cm}^{1\%} \times m \times 2 \times (100 - w)} \quad (2.9),$$

де A – оптична густина досліджуваного розчину;

m – наважка сировини, г;

$E_{1cm}^{1\%}$ – питомий показник поглинання ізокверцитрину, який при довжині хвилі 410 нм становить 300;

w – втрата в масі при висушуванні, %.

Вміст флавоноїдів в перерахунку на апігенін і абсолютно суху сировину обчислювали за формулою 2.10:

$$X = \frac{A \times 100 \times 25 \times 100}{E_{1cm}^{1\%} \times m \times 2 \times (100 - w)} \quad (2.10),$$

де A_1 – оптична густина досліджуваного розчину;

m_1 – наважка сировини, г;

$E_{1cm}^{1\%}$ – питомий показник поглинання апігеніну, який при довжині хвилі 380 нм становить 550;

w – втрата в масі при висушуванні, %.

Кількісне визначення *гідроксикоричних кислот* проводили методом прямої спектрофотометрії в етанольному розчині [11, 51, 124]. 2,0 г подрібненої сировини (точна наважка) з діаметром часток не більше 1 мм, поміщали у колбу на 100 мл, заливали 30 мл води очищеної і витримували на водяному нагрівнику впродовж 15 хв. Отриману витяжку фільтрували у мірну колбу на 100 мл. Операцію повторювали ще двічі і об'єм витяжки доводили водою очищеною до мітки. 1 мл одержаного розчину доводили етанолом 20 % до мітки у мірній колбі на 25 мл.

Оптичну густину випробовуваного розчину відразу вимірювали при довжині хвилі 326 нм, використовуючи як компенсаційний розчин етанол 20 %. Вміст суми гідроксикоричних кислот (X), у перерахунку на розмаринову кислоту, у відсотках, розраховують за формулою 2.11:

$$X = \frac{A \times 100 \times 25 \times 100}{E_{1cm}^{1\%} \times m \times 2 \times (100 - w)} \quad (2.11),$$

де A — оптична густина випробовуваного розчину;

m — наважка сировини, г;

$E_{1cm}^{1\%}$ — питомий показник поглинання розмаринової кислоти, який при довжині хвилі 326 нм дорівнює 500;

w — втрата в масі при висушуванні, %.

Визначення вмісту макро- та мікроелементів проводили методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії [31, 84, 103]. Озолення матеріалу для дослідження здійснювали в муфельній печі при температурі 450°C, з метою уникнення часткових втрат легколетких елементів. Золу, отриману із зразків сировини підготовляли за фармакопейною методикою. Визначення елементів здійснювали на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115 ПК з атомізацією в повітряно-ацетиленовому полум'ї, із застосуванням комп'ютерного розшифрування вмісту елементів у порівнянні з стандартом. У процесі дослідження тиск становив 0,4 кг/см² і 20 мм вод. ст. відповідно; температура полум'я – 2250°C. Калібрувальні графіки в інтервалі вимірюваних концентрацій елементів будували з допомогою стандартних проб розчинів солей металів (ICORM-23-27). Паралельно у процесі аналізу проб проводили контрольний дослід.

2.3. Методи морфолого-анатомічного дослідження

Макро- та мікроскопічні ознаки сировини вивчали за допомогою лупи (x10) та мікроскопів REICHERT L.4 (Австрія) і ЛОМО Р-1 (Російська

Федерація) (окуляр – $\times 7$, $\times 10$, $\times 15$, об'єктиви – $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$) за методикою ДФУ 2.0 Т.1 [31].

З метою вивчення анатомічної будови рослини мікропрепарати готували зі свіжозібраної, фіксованої в суміші спирт-гліцерин-вода (1:1:1) і висушеної, а потім розмоченої сировини. Отримані дані фіксували за допомогою знімків, зроблених цифровою фотокамерою *Canon Digital IXUS 80 IS*. Для обробки фотографій користувалися програмою *Windows Adobe Photoshop 7.0*.

2.4. Ресурсознавчі дослідження

Геоботанічні дослідження проводили маршрутним методом шляхом закладання пробних ділянок, площею $5 \times 2 \text{ м}^2$. Рясність видів встановлювали окомірно, згідно шкали Браун-Бланке, середнє проективне покриття виду в межах пробної ділянки – за допомогою сітки Л. Г. Раменського розміром $1 \times 1 \text{ м}^2$. Назви видів наведено за Mosyakin S. L., Fedoronchuk M. M. [209]. Геоботанічне районування – згідно [13] з уточненнями Дідух Я. П., Шеляг-Сосонко Ю. Р. [34]. Встановлення едафічних умов зростання проводили методом польового дослідження та за допомогою ГЕО-інформаційного сервісу GIS File [14]. Дані кліматичних умов отримані за допомогою інформаційних серверів погоди, зокрема Українського гідрометеорологічного центру [108].

Визначення сировинних запасів проводили шляхом визначення площі заростей та їх урожайності. При визначенні площі прирівнювали межі зарості до певної геометричної фігури та обчислювали її згідно правил геометрії. Для визначення урожайності в межах кожного окремого угруповання, траву на ділянці площею 1 м^2 зрізували серпами, ножами або секаторами на висоті близько 10 - 15 см від поверхні землі та зважували. Перерахунок на повітряно-суху сировину проводили з допомогою експериментально встановленого коефіцієнту висушування сировини [47, 69, 96].

Як біологічний запас, визначали загальну кількість сировини, яку можливо зібрати на певній території та обчислювали як добуток середньої

урожайності на площу зарості. Експлуатаційний запас визначали, беручи до уваги той факт, що необхідно залишати близько 15 % від біологічного запасу особин рослини для відновлення її заростей. Можливий об'єм щорічної заготівлі сировини обчислювали як частку від розділення експлуатаційного запасу на 1+5, оскільки сировина підлягає заготівлі не частіше 1 разу в 5 років [20, 47].

Фенологічні спостереження проводили за методикою І. М. Бейдеман та Держкомісії із сортовипробовування сільськогосподарських культур на дослідних ділянках ІФНМУ у трикратній повторюваності [2]. Культивування виду проводили відповідно до вимог належної практики культивування та збору вихідної сировини [74]. Для встановлення параметрів інтродукції використовували методи кліматичних аналогів, обліку досвіду акліматизації за минулий час, дедуктивний та еколого-системний екстраполяційний методи.

2.5 Методи товарознавчого аналізу

Відбір проб та визначення числових показників сировини проводили за методиками ДФУ 2.0 Т.1 [31].

Для визначення *втрати в масі при висушуванні* 1.0 г (точна наважка) здрібненої на порошок сировини поміщали у попередньо висушений і зважений бюкс та висушували при температурі 105 °С впродовж 2 год. Бюкс виймали з сушильної шафи і поміщали в ексикатор, на дні якого знаходився безводний кальцію хлорид, і після повного охолодження бюкса його зважували. Втрату в масі при висушуванні сировини (X) у відсотках обчислювали за формулою 2.12:

$$X = \frac{(m - m_1) \times 100}{m} \quad (2.12),$$

де: m – маса сировини до висушування, г;

m_1 – маса сировини після висушування, г.

Для визначення вмісту загальної золи аналітичну пробу сировини подрібнювали і просіювали крізь сито з діаметром 2 мм. У попередньо прожарені до сталої маси фарфорові тиглі поміщали по 3,0 г подрібненої сировини і спалювали над слабким полум'ям пальника. Після повного озолення сировини, тиглі переносили у муфельну піч. Прожарювання здійснювали при температурі 350 - 500°C до постійної маси. Тиглі охолоджували впродовж 2 год, поміщали в ексікатор з кальцію хлоридом безводним до повного охолодження, після цього зважували. Масу вважали сталою, якщо різниця між двома послідовними зважуваннями не перевищувала 0,0005 г. Вміст загальної золи (X) у відсотках у перерахунку на абсолютно суху сировину обчислювали за формулою 2.13:

$$X = \frac{m_1 \times 100 \times 100}{m \times (100 - w)} \quad (2.13),$$

де: m_1 – маса золи, г;

m – маса сировини, г;

w – втрата в масі при висушуванні, %.

Для визначення кількості сторонніх домішок від 100,0 до 500,0 випробовуваного зразка сировини зважували і розподіляли по поверхні тонким шаром. З використанням лінзи зі збільшенням $\times 6$ та пінцета, виявляли у сировині домішки, які відокремлювали та зважували. Відсотковий вміст груп домішок у досліджуваній пробі обчислювали за формулою 2.14:

$$X = \frac{m_1 \times 100}{m_2} \quad (2.14),$$

де: m_1 – маса домішок, г;

m_2 – маса проби, г.

2.6. Біофармацевтичні дослідження

Дослідження вивільнення діючих речовин *in vitro* є основою визначення якості мазей. Вивчення повноти вивільнення активної субстанції дозволяє

обґрунтувати оптимальний склад основи-носія, що впливає на ефективність засобу загалом. Критерієм оцінки мазевих основ є швидкість та ступінь вивільнення діючої речовини із м'якої лікарської форми [82].

Вивільнення фенольних сполук із мазі з екстрактом в. лікарського визначали в експерименті *in vitro* методами дифузії в желатиновий гель та діалізу через напівпроникну мембрану в рідке середовище [1, 86, 89, 164].

Желатиновий гель готували 5 % концентрації. Попередньо відважений желатин заливали водою очищеною і залишали на 30 хв для набухання, нагрівали до повного розчинення і доводили до необхідної маси водою очищеною. До теплого гелю додавали 5 % реактиву (10 % розчину феруму (III) хлориду) та розливали в чашки Петрі з горизонтальною поверхнею дна (діаметр 98 - 100 мм, висота 20 мм) двома порціями по 15 і 20 мл відповідно. Після застигання першого шару желатину на поверхні кожної чашки розташовували по три циліндри з нержавіючої сталі із зовнішнім діаметром 8 мм і заливали другим шаром желатину. Після повного застигання вмісту чашок циліндри виймали і в утворені заглиблення («лунки») поміщали по 0,2 г досліджуваних зразків мазей. Чашки закривали і поміщали в термостат. Витримували при температурі $37 \pm 1^\circ\text{C}$. З періодичністю 60 хв за допомогою лінійки вимірювали діаметр забарвленої зони в мм для кожного зразка мазі. При наявності еліпсу вимірювали його більший та менший діаметр та визначали середнє значення діаметру забарвленої зони.

Для вивчення вивільнення лікарських речовин з мазі методом діалізу через напівпроникну мембрану в рідке середовище використовували діалізаційну камеру, що складається із зовнішньої скляної посудини внутрішньої діалізної трубки. До нижнього отвору внутрішньої скляної посудини герметично прикріплювали напівпроникну мембрану. Як діалізну напівпроникну мембрану використовували неламіновану целофанову плівку, попередньо змочену водою очищеною. Середовище для діалізу – вода очищена. 0,5 (точна наважка) дослідного зразка мазі з допомогою шпателя рівномірно наносили на поверхню мембрани.

Діалізну трубку разом із маззю поміщали у зовнішню посудину, в яку додавали 50 мл води очищеної. Діалізат відбирали через кожні 30 хв. Дослідження проводили за допомогою термостату ТС-80 М-2 при температурі $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$, що моделює температуру шкіри. Дослідження тривало 6 год. Кількісне визначення суми поліфенольних сполук в діалізаті проводили спектрофотометрично.

Вивчення *pH* мазі проводили потенціометрично згідно методики ДФУ 2.0 Т.1 [31].

Досліджували свіжоприготовлені зразки мазі та зразки на різних етапах зберігання. По 5,0 г мазі (точна наважка) розчиняли при перемішуванні у 100 мл води очищеної, нагрітої до $50 - 60^{\circ}\text{C}$. Розчин охолоджували і фільтрували через беззольний фільтр. У фільтраті визначали реакцію середовища при температурі $18 - 20^{\circ}\text{C}$ за допомогою рН-метра. Паралельно проводили визначення рН маzewої основи.

2.7. Фармакологічні методи

Вивчення фармакологічних ефектів одержаних екстрактів та мазі з екстрактом в. лікарського проводили методами *in vitro* та *in vivo*. Дослідження проводили на стандартних штамах мікроорганізмів, білих безпородних мишах, білих нелінійних щурах та мурчаках згідно вимог чинного законодавства [83]. Лабораторних тварин утримували згідно вимог санітарно-гігієнічних норм (при температурі $+16 - 24^{\circ}\text{C}$ та вологості $50 - 60\%$, природньому світловому режимі «день-ніч», у пластикових клітках) на стандартному раціоні та з дотриманням принципів гуманного відношення до них. Маніпуляції з дослідними тваринами проводили відповідно до міжнародних та вітчизняних норм, що узгоджені з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей», Директиви ЄС № 2010/63/ЄС про захист тварин, що використовуються з науковою метою, Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від

жорстокого поводження» та загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим Національним конгресом України з біоетики [4, 41, 43, 171].

2.7.1. Дослідження *in vitro*

Вивчення протимікробної, протигрибкової активності та мікробіологічної чистоти екстрактів та мазей в. лікарського проводили на базі кафедри мікробіології, вірусології та імунології Івано-Франківського національного медичного університету під керівництвом професора Р. В. Куцика.

Вивчення антимікробної та протигрибкової дії

Дослідження протимікробної активності екстрактів та мазей виконано на клінічних ізолятах антибіотикочутливих і антибіотикорезистентних мікроорганізмів. Бактеріальні культури ідентифікували на основі біохімічних мікротестів «STAPHYtest 16», «ENTEROtest 24», «NEFERMENTtest 24» (Lachema, Чехія), а також із врахуванням комплексу морфологічних і культуральних властивостей згідно з рекомендаціями 9-го видання «Визначника бактерій Берджі» [77, 78]. Культури дріжджоподібних грибів ідентифікували на основі 40 біохімічних тестів за допомогою системи VITEK 2 з використанням VITEK 2 YST ID card (Biomerieux, Франція).

Скринінг протимікробної дії рослинних екстрактів здійснено за допомогою мікрометоду дифузії в агар. Він характеризується високою чутливістю і дискримінаційною здатністю, що дозволяє надійно диференціювати активні екстракти від неактивних [58]. Вивчення протимікробної та протигрибкової активності екстрактів (попередньо розчинених у відповідному розчиннику) у дозі 100 мг/мл та мазей здійснено методом дифузії в агар наступним чином: на поверхню живильного середовища в чашках Петрі рівномірно висівали стандартизовані згідно оптичного стандарту мутності (концентрація 1×10^7 КУО/мл) суспензії тест-культур. У заздалегідь утворені лунки в агарі з діаметром $4,0 \pm 0,1$ мм мікропіпеткою

вносили по 20 мкл досліджуваних розчинів. У лунки контрольних тест-систем вносили чистий розчинник.

Для дослідження протимікробної активності мазей в середовищі виготовляли лунки діаметром $13,8 \pm 0,1$ мм. Протимікробну активність мазей виражали у вигляді різниці між діаметрами зон затримки росту мікроорганізмів та діаметрами відповідних лунок з препаратами.

Чашки з тест-системами витримували при $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Після культивування впродовж 24 год визначали діаметри зон затримки росту бактеріальних тест-культур. Реєстрацію фунгістатичної активності проводили після 2 діб, фунгіцидної – після 4 діб культивування.

Одержували цифрові зображення посівів на чашках, обробку яких здійснювали за допомогою комп'ютерної програми Image Tool 2.0 (UTHSCSA ImageTool 2.0, The University of Texas Health Science Center in San Antonio, ©1995-1996).

Протимікробну активність екстрактів в. лікарського відносно β -гемолітичних стрептококів вивчали також методом двократних серійних розведень в бульйоні. Як тест культури використали 2 штами *Streptococcus pyogenes* (групи А) і 1 штам *Streptococcus group G*, виділені від пацієнтів з фарингітами. Штами стрептококів ідентифіковані на основі комплексу культуральних властивостей, тесту з бацитрацином та біохімічних мікротестів (STREPTOtest 16, Lachema, Чехія). Динаміку росту мікробних культур на рідкому середовищі з додаванням досліджуваних препаратів оцінювали за наростанням їх оптичної щільності. В лунки 96-лункових плоскодонних полістиролових планшет вносили по 190 мкл поживного бульйону, попередньо засіяного тест-культурами (рівень кінцевого мікробного навантаження 10^5 КУО/мл). Попередньо виконували двократні серійні розведення екстрактів в. лікарського у суміші етанол–диметилсульфоксид (1:1). По 10 мкл різних розведень екстракту вносили в лунки планшета із засіяним культурою поживним бульйоном. В контрольні лунки вносили аналогічний об'єм суміші етанол–диметилсульфоксид. Дослідження з кожним штамом виконували

паралельно у 4 рядах лунок. Оптичну щільність середовища (OD_{495}) реєстрували за допомогою багаторежимного фотометра Synergy HTX S1LFTA (BioTek Instruments, Inc., США) при 495 нм безпосередньо після внесення культур в лунки та через кожну годину в процесі інкубації при 37°C впродовж 28 год. Аналіз кривих росту культур здійснювали за допомогою програми GEN5 (BioTek).

Вивчення мікробіологічної чистоти

Дослідження мікробіологічної чистоти екстрактів та мазей проводили методом прямого посіву згідно методик ДФУ 2.0 Т.1 [31]. Випробовування об'єкту на мікробіологічну чистоту складається із кількісного визначення життєздатних бактерій та грибів, а також виявлення певних видів мікроорганізмів, наявність яких недопустима в нестерильних лікарських засобах.

2.7.2. Дослідження *in vivo*

Вивчення біологічної активності екстрактів та мазей в лікарського проведено на базі кафедри фармації та віварію Івано-Франківського національного медичного університету при консультативній допомозі завідувача кафедри біологічної та медичної хімії імені академіка Г. О. Бабенка професора Г. М. Ерстенюк, завідувача кафедри анатомії людини професора О. Г. Попадинець, професора кафедри фармакології професора Я. С. Гудивок та доцента кафедри анатомії людини В. М. Іваночка.

Визначення гострої токсичності екстрактів

Дослідження проводили на білих безпородних мишах, які були стандартизовані за фізіологічними і біохімічними показниками. З метою визначення токсичних характеристик екстрактів з трави в лікарського проведено дослідження гострої токсичності зразків в умовах їх короткотривалої дії. Показником визначення гострої токсичності є максимальна доза IV класу

токсичності (малотоксичні речовини) з урахуванням шляху введення (при внутрішньошлунковому введенні вона становить 5000 мг/кг).

Для цього використовували методику О. В. Стефанова [176]. Тварини були розділені на 4 групи по 6 особин. Досліджувані екстракти вводили внутрішньошлунково, одноразово. Тваринам першої – третьої груп було введено розчини водного та водно-спиртових (екстрагенти – етанол 50 % та 70 %) екстрактів трави в. лікарського відповідно, четверта група – контрольна. Спостереження проводили впродовж 14 днів. Ступінь токсичності екстрактів оцінювали, беручи до уваги летальність, зміну загального стану тварин та фізіологічних показників їх життєдіяльності, динаміку маси тіла та відношення тварин до споживання їжі та води. Після завершення терміну спостереження (на 14-й день) тварин виводили з експерименту шляхом введення в наркоз із подальшою декапітацією з метою проведення макроскопічного огляду, забору крові для визначення біохімічних показників та встановлення масових показників внутрішніх органів.

Визначення протизапальної дії екстрактів

Класичним прикладом гострого запалення вважають ексудативне. Вивчення впливу синтезованих речовин або рослинних екстрактів на перебіг ексудативної фази запалення проводили на основі карагенінової моделі запального набряку лап білих щурів [40].

Експеримент проводили на білих нелінійних щурах обох статей масою 180 - 220 г, які були стандартизовані за фізіологічними і біохімічними показниками. Для вивчення впливу екстрактів трави в. лікарського на перебіг ексудативної фази запального процесу було застосовано модель набряку лапи щура, викликаного субплантарним введенням флогогенного агенту. З цією метою під апоневроз підшви задньої кінцівки щура в асептичних умовах здійснювали ін'єкцію 0,1 мл 1 % розчину карагеніну. У механізмі розвитку карагенінового набряку беруть участь різні медіатори запалення. Так, у перші 0,5–1,5 год – це серотонін та гістамін, у проміжку між 1,5 та 2,5 год – кініни, а від 2,5 до 5,5 год – простагландини. Наявність запальної реакції встановлювали

за зміною об'єму кінцівки щура онкометричним методом на початку досліду та в динаміці через 1, 2 та 4 год після введення флогогенного агенту [40].

В процесі дослідження слід враховувати, що залежно від сезону та умов введення карагеніну реакція на флогоген неоднакова і відрізняється як за швидкістю розвитку, так і за вираженістю ефекту. Причинами таких відмінностей є біологічні ритми тварин [120].

Для порівняння в аналогічних умовах вивчали антиексудативний ефект кверцетину, як препарату рослинного походження з доведеною антиексудативною активністю, та диклофенаку натрію, що є еталонним протизапальним засобом [40, 223].

Тварини були розділені на 6 груп по 6 особин у кожній. Тваринам першої – третьої груп було введено внутрішньошлунково водний (АО-0) та водно-спиртові АО-5 і АО-7 (екстрагенти – етанол 50 та 70 % відповідно) екстракти трави в. лікарського у дозі 100 мг/кг маси тіла тварини, четвертої групи – кверцетин внутрішньошлунково у дозі 50 мг/кг маси тіла тварини, п'ятої групи – диклофенак натрію внутріочеревинно у дозі 8 мг/кг маси тіла тварини, шоста група – контрольна. За 40 хв до введення флогогенного агенту тваринам вводили досліджувані екстракти та препарати порівняння відповідно до зазначених груп. Тварини з контрольною патологією отримували відповідний об'єм фізіологічного розчину.

Одним із числових показників ефективності протизапальних препаратів є їх антиексудативна активність. Антиексудативну активність досліджуваних субстанцій виражали у відсотках за ступенем зменшення набряку у тварин, які отримували дослідні препарати, в порівнянні із тваринами з контрольної групи та розраховували за формулою 2.15:

$$A=100\% - \frac{(V_{\text{нд}} - V_{\text{зд}}) \times 100 \% }{(V_{\text{нк}} - V_{\text{зк}})} \quad (2.15),$$

де: A – антиексудативна активність, %;

$V_{\text{нд}}$ – об'єм набряклої стопи в досліді, умовні одиниці;

$V_{\text{зд}}$ – об'єм здорової стопи в досліді, умовні одиниці;

$V_{\text{нк}}$ – об'єм набряклої стопи в контролі, умовні одиниці;

$V_{\text{зк}}$ – об'єм здорової стопи в контролі, умовні одиниці.

Визначення противиразкової дії екстрактів

Визначення противиразкової активності проводили на моделі спирто-преднізолонової виразки шлунка у щурів, яку відтворювали згідно з Методичними рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України [39]. Дослідження проводили на білих нелінійних щурах обох статей масою 180 - 220 г, які були стандартизовані за фізіологічними і біохімічними показниками.

Спирто-преднізолонову суміш (преднізолон у дозі 20 мг/кг та етанол 80 % із розрахунку 0,6 мл на 100 г маси тіла тварини) вводили внутрішньошлунково одноразово досліджуваним щурам, яких попередньо витримували 24 год на голодній дієті з вільним доступом до води [39].

Для порівняння в аналогічних умовах вивчали противиразковий ефект препарату «Альтан» (ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ»), як препарат рослинного походження з доведеною у попередніх дослідженнях противиразковою активністю. Він є комплексним рослинним лікарським препаратом, до складу якого входять екстракти суплідь вільхи клейкої та вільхи сірої [44, 49, 82].

Тварини були розділені на 6 груп по 6 особин у кожній. Тварини першої групи – інтактні, другої – з контрольною патологією, третьої – п'ятої груп – отримували водний (АО-0) та водно-спиртові (АО-5 і АО-7 – екстрагенти – 50 та 70 % етанол відповідно) екстракти трави в. лікарського у дозі 50 мг/кг маси тіла тварини, шостої групи – «Альтан» в умовно терапевтичній дозі 1 мг/кг маси тіла тварини. Досліджувані екстракти та препарат порівняння вводили внутрішньошлунково в добовій умовно-терапевтичній дозі в лікувально-профілактичному режимі: щоденно одноразово, починаючи за 3 дні до моделювання патології і закінчуючи в день відтворення виразки (останнє введення через 1 год після введення спирто-преднізолонової суміші). Тварини з

контрольною патологією отримували відповідний об'єм фізіологічного розчину.

Фармакологічну активність досліджуваних субстанцій оцінювали за зміною загального стану тварин, летальністю, морфолого-гістологічними показниками їх шлунків, а також враховували деякі біохімічні показники крові.

Оцінку інтенсивності виразкового ураження та противиразкової активності (ПВА) екстрактів та референс-препарату проводили за такими показниками: відсоток тварин із виразками у групі (T_v , %), середній показник інтенсивності виразкових дефектів у слизовій оболонці шлунка (СОШ) ($ВД_{сер}$) та виразковий індекс (ВІ), що дало змогу розраховувати інтегральний показник терапевтичного ефекту препаратів – ПВА (%) [39, 44].

Середній показник інтенсивності виразкових дефектів у СОШ оцінювали в балах наступним чином:

- 0 балів – відсутність видимих ушкоджень;
- 1 бал – наявність гіперемії, точкових крововиливів або 1-3 дрібних виразок;
- 2 бали – більше 3 дрібних виразок або одна виразка середніх розмірів;
- 3 бали – виразка значних розмірів (4 мм і більше);
- 4 бали – декілька виразок значних розмірів;
- 5 балів – проривна виразка.

Виразковий індекс розраховували за формулою 2.16:

$$VI = (ВД_{сер} \times T_v) / 100 \quad (2.16),$$

Противиразкову активність розраховували за формулою 2.17:

$$ПВА = 100 - ((VI_{лік} \times 100) / VI_k), \quad (2.17),$$

де: $VI_{лік}$ – ВІ у групі тварин з модельною патологією, яким вводили досліджувані субстанції;

VI_k – ВІ у групі тварин з контрольною патологією.

Оцінці підлягали також зовнішній вигляд і загальний стан тварин (поведінка, природні рефлексі, зовнішній вигляд тварини) та додаткові показники стану ШКТ (наявність здуття шлунку та кишечника) загалом та СОШ зокрема (наявність гіперемії, геморагій, набряку, порушень складчастості) [39, 45, 82].

Для підтвердження результатів макро- та мікроскопічного дослідження проводили забір крові тварин для біохімічного вивчення інтенсивності процесів ВРО, стану антиоксидантної системи (АОС) та процесів цитолізу. Біохімічні дослідження плазми крові проводили з використанням стандартних тест-наборів ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна) відповідно до загальноприйнятих методик. Враховуючи те, що процеси ВРО відіграють важливу роль у розвитку запальних та виразкових уражень, важливим є визначення загального білка та маркерів цитолізу – АсАТ та АлАТ у сироватці крові. Маркером інтенсивності ВРО та стану АОС був рівень малонового діальдегіду (МДА) [45, 82].

Вивчення гострої токсичності мазі

Вивчення гострої токсичності мазі з екстрактом в. лікарського проводили за методикою О. В. Стефанова [40]. Дослідження проводили на білих безпородних мишах (маса тварин 18 - 20 г), які були стандартизовані за фізіологічними і біохімічними показниками.

Тварини були розділені на 5 груп по 6 особин. Тваринам першої та другої груп на фіксовані в скляних пробірках хвосту накладали мазь з екстрактом в. лікарського та мазеву основу в кількості по 0,3 г на тварину відповідно. Загальний час експозиції не перевищував 2 год. Тваринам третьої і четвертої груп внутрішньошлунково за допомогою зонду зі шприцом вводили по 0,5 мл підігрітих до температури тіла тварини мазі з екстрактом в. лікарського та мазевої основи на особину відповідно. Об'єм введення препаратів був регламентований фізіологічністю відношення об'єму рідини, що вводиться, до маси тіла піддослідної тварини. П'ята група – контрольна.

Спостереження проводили впродовж 14 днів. Токсичну дію препаратів оцінювали, беручи до уваги летальність, зміну загального стану тварин та фізіологічних показників їх життєдіяльності, динаміку маси тіла та відношення тварин до споживання їжі і води.

Через 2 год після нанесення мазі та основи, на фіксовані в скляних пробірках хвосту, у тварин спостерігали зменшення активності і рухливості, відмову від їжі та води. Через 24 год після накладання досліджуваних препаратів стан тварин в першій та другій групах був задовільний, вони добре їли, споживали воду, були рухливими. Еритеми, набряку, тріщин, виразок на шкірі і хвості за час спостереження виявлено не було. На зовнішні тактильні та больові подразники впродовж терміну експерименту тварини відповідали адекватно.

Після внутрішньошлункового введення мазі впродовж всього терміну спостереження змін зовнішнього вигляду тварин, їх поведінки, стану дихання, сечовиділення та дефекації, споживання їжі та води, охайності не зареєстровано.

Через 14 діб всі миші залишалися живими, стан їх був задовільним. Відмінностей в групах тварин щодо фізіологічних показників стану мишей не виявлено. Мишей виводили з експерименту шляхом введення в наркоз із подальшою декапітацією з метою проведення макроскопічного огляду та встановлення масових показників внутрішніх органів.

Вивчення ранозагоювальної дії мазі

Вивчення ранозагоювальної дії мазі з екстрактом в. лікарського проводили на мурчаках (маса тварин 350 – 390 г), які були стандартизовані за фізіологічними і біохімічними показниками.

Для вивчення впливу мазі з екстрактом в. лікарського на перебіг репаративного процесу було застосовано модель асептичної лінійної рани [177, 179]. З цією метою на попередньо депільованій ділянці шкіри тварини площею 4 см² під місцевою анестезією (0,5 % розчин новокаїну) в асептичних умовах здійснювали розріз довжиною 1 см та глибиною 2 мм.

Тварини були розділені на 5 груп по 6 особин у кожній. Тваринам першої групи наносили мазь з екстрактом в. лікарського, другої групи – мазеву основу, третьої групи – препарат порівняння, четверта група – контрольна, п'ята група – інтактна.

Як препарат порівняння застосовано ранозагоювальну мазь «Вундехіл», до складу якої входять компоненти рослинного походження (Науково-виробнича фармацевтична компанія ТОВ «Ейм», м. Харків) [87, 107].

Досліджувані субстанції та препарат порівняння наносили двічі на день, починаючи в день відтворення патології і до повного відновлення цілісності шкірного покриву тварини. Дію препаратів оцінювали, беручи до уваги наявність набряку та почервоніння навколо ділянки патології, динаміку зменшення розмірів рани, терміни відходження первинної та вторинної кірки. Один раз на два дні з допомогою міліметрової лінійки вимірювали розміри рани. Ступінь набряку та почервоніння навколо зони патологічного процесу виражали в балах:

- 0 балів – відсутність набряку та почервоніння;
- 1 бал – незначне почервоніння, набряк відсутній;
- 2 бали – помірне почервоніння, незначний набряк;
- 3 бали – помірне почервоніння, помірний набряк;
- 4 бали – виражене почервоніння, помірний набряк;
- 5 балів – виражене почервоніння, виражений набряк.

2.8. Статистична обробка результатів досліджень

Статистичну обробку експериментальних даних проводили відповідно до вимог ДФУ 2.0 Т.1 «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту» та «Статистичний аналіз результатів біологічних випробувань та тестів». У процесі роботи використовували програми Windows – MS Excel 2007 та «Statistica – 6,0» (Statsoft, USA). Для статистичної перевірки гіпотези щодо вірогідності розбіжностей між показниками різних груп застосовували t-критерій

Стьюдента. Для проведення статистичної обробки результатів обчислювали середнє арифметичне n визначень, дисперсію, стандартне відхилення середнього результату, граничні значення довірчого інтервалу при $P \geq 0,95$ та відносну невизначеність середнього результату [15, 31, 61].

РОЗДІЛ 3

ФІТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ РОСЛИН РОДУ ВОЛОВИК

Дослідження хімічного складу та можливих фармакологічних ефектів лікарських рослин є пріоритетами у процесі їх фармакогностичного вивчення. Біологічно активні речовини рослин – це неорганічні та органічні сполуки, спільною характеристикою яких є висока активність у відносно невеликих кількостях. Більшість БАР належить до продуктів вторинного обміну, тоді як первинними є білки, ліпіди й вуглеводи.

Наявність в лікарській рослинній сировині різних груп БАР зумовлює її широке використання в медичній практиці. Такі субстанції синтезуються в рослині з неорганічних мінеральних речовин ґрунту, води та вуглекислого газу з повітря. Відомими є низка груп БАР рослинного походження, зокрема фенольні сполуки, сапоніни, органічні кислоти, алкалоїди, вітаміни, жирні та ефірні олії, мікроелементи тощо [63, 109].

3.1. Виявлення груп біологічно активних речовин

Для виявлення основних груп БАР були отримані водні, водні, підкислені кислотою хлоридною та водно-етанольні витяжки з надземних та підземних органів в. лікарського та в. високого і проведені реакції ідентифікації груп БАР (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Результати ідентифікації БАР в надземних та підземних органах в. лікарського та в. високого

Група БАР	Реактив	Аналітичний ефект	Результат реакції			
			I	II	III	IV
1	2	3	4	5	6	7
Похідні простих фенолів	феруму сульфат (II) кристалик	зелене забарвлення	++	++	++	++

Продовж. табл. 3.1

1	2	3	4	5	6	7
Таніни	1% розчин желатину	каламуть, яка розчиняється при надлишку реактиву	++	++	++	+
	1% розчин хініну хлориду	аморфний осад	++	++	++	+
	феруму (III) амонію сульфат	темно-зелене забарвлення	++	++	++	+
Вільні цукри	мідно-тартратний реактив	коричнево-червоний осад	+	±	+	±
Полі-сахариди	етанол 95%	пухкі згустки, що при відстоюванні випадають в осад	+++	+	++	+
Сапоніни	вода очищена	стійка піна	++	+	++	+
	кислота хлоридна 0,1 моль/л	стійка піна	++	+	++	+
	натрію гідроксид 0,1 моль/л	стійка піна	++	+	++	+
Іридоїди	реактив Трім-Хілла	змін не відбулося	-	-	-	-
Антрацен-похідні	5 % розчин натрію гідроксиду	потемніння витяжки	-	-	-	-
Хромони	калію гідроксид	жовте забарвлення	-	-	-	-
Аміно-кислоти	0,1 % розчин нінгідрину	червоно-фіолетове забарвлення	+	±	+	±
Алantoїн	триптофан, кислота сульфатна	фіолетове забарвлення	+	+	+	+
Аскорбі-нова кислота	розчин натрію 2,6-дихлорфеноліндо-феноляту	червоно-коричнєве забарвлення	+	±	+	±
Алкалоїди	реактив Вагнера	змін не відбулося	-	-	-	-
	реактив Драгендорфа	опалесценція	±	±	±	±
	реактив Бушарда	опалесценція	±	±	±	±
	10 % розчин кислоти пікринової	опалесценція	±	±	±	±
	10 % розчин таніну	опалесценція	±	±	±	±
Флавоної-ди	1% спиртовий розчин алюмінію хлориду	жовте забарвлення	++	+	++	+

Продовж. табл. 3.1

1	2	3	4	5	6	7
Флавоної- ди	кислота хлоридна концентрована, магній металічний	рожеве забарвлення	++	+	++	+
	2% розчину натрію гідроксиду	темно-жовте забарвлення	++	+	++	+
Кумарини	діазореактив	потемніння витягу	-	±	-	±
	10 % етанольний розчин калію гідроксиду, вода очищена, 10 % кислота хлоридна	опалесценція	-	±	-	±
Кардіо- стероїди	кислота оцтова льодяна, оцтовий ангідрид, кислота сульфатна концентрована	змін не відбулося	-	-	-	-
	кислота оцтова льодяна, кислота сульфатна концентрована	змін не відбулося	-	-	-	-
	розчин натрію пикрату	змін не відбулося	-	-	-	-

Примітки: 1. I – в. лікарський, трава; II – в. лікарський, корені; III – в. високий, трава, IV – в. високий, корені.

2. „+» – реакція позитивна, кількість знаків свідчить про її інтенсивність;
„-» – реакція негативна.

Результати, наведені в табл. 3.1 вказують, що діючими групами БАР рослин роду Воловик є фенольні сполуки, вуглеводи, тритерпеноїди, стероїди та карбонові кислоти [27].

3.1.1. Хроматографічний аналіз (органічні кислоти, амінокислоти, фенольні сполуки)

Органічні кислоти беруть активну участь у більшості реакцій фотосинтетичного та окисно-відновного циклів та зумовлюють потрібне співвідношення між катіонами і аніонами при надходженні поживних речовин у корені. Органічні кислоти здійснюють також широкий спектр фармакологічного впливу на організм людини. Зокрема, вони проявляють антиоксидантний, протиалергічний імуномодулюючий та протизапальний ефекти [28, 42, 99, 178].

Хроматографічне дослідження *органічних кислот* проводили методом ПХ (розділ 2.2.2). В результаті проведених досліджень встановлено, що найкращого розділення даних сполук можна досягти в системі розчинників № 3. У траві в. лікарського ідентифіковано аскорбінову, яблучну, бензойну, щавелеву та бурштинову кислоти, у коренях – аскорбінову, яблучну, щавелеву кислоти, у траві в. високого – аскорбінову, яблучну, щавелеву та бурштинову кислоти, у коренях – аскорбінову, яблучну, щавелеву кислоти.

Амінокислоти є складовою частиною надземних та підземних органів практично всіх квіткових рослин, синтезуються з простих неорганічних сполук та беруть участь у синтезі білків, поліфенолів, коферментів, жирів, стероїдних сполук, складних вуглеводів та вітамінів. Амінокислоти є важливою складовою в системі функціонування людського організму з вираженими терапевтичними ефектами. Зокрема, вони позитивно впливають на серцево-судинну систему, процеси нервової регуляції та підтримують судинний тонус [16, 48, 64, 149].

Хроматографічне дослідження *амінокислот* проводили методом ПХ (розділ 2.2.2). Результати вивчення наведено на рис. 3.1.

Як видно з рис. 3.1, у всіх досліджуваних зразках сировини виявлено від 5 до 8 амінокислот. Найбільше амінокислот виявлено у траві в. лікарського – 8, у тому числі 6 незамінних: лейцин, фенілаланін, метіонін, аспарагінову кислоту, валін, аспарагін і 2 замінні: аланін та пролін.

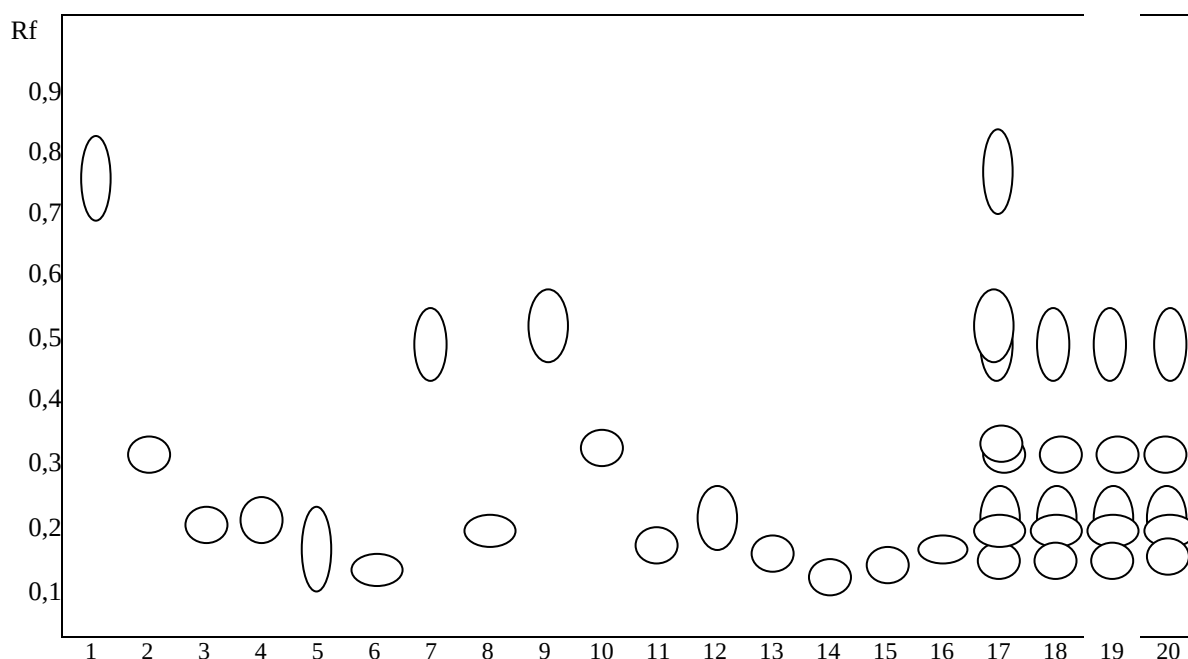


Рис. 3.1. Схема хроматограми амінокислот досліджуваної сировини. Система розчинників *n*-бутанол – оцтова кислота – вода (4:1:2): 1– лейцин, 2 – фенілаланін, 3 – серин, 4 – глутамін, 5 – глутамінова кислота, 6 – цистеїн, 7 – метіонін, 8 – аспарагінова кислота, 9 – валін, 10 – пролін, 11 – треонін, 12 – аланін, 13 – аргінін, 14 – орнітин, 15 – аспарагін, 16 – гістидин, 17 –20 – витяжки трави та коренів в. лікарського і в. високого відповідно.

У сировині в. високого та коренях в. лікарського виявлено по 5 амінокислот, 4 з яких незамінні: фенілаланін, метіонін, аспарагінову кислоту, аспарагін та 1 замінну – аланін.

Дослідження рослинних фенолів є актуальним завданням сучасної науки, оскільки вони позитивно впливають на організм людини, проявляючи важливі фармакологічні ефекти, зокрема антиоксидантний, протизапальний, кардіопротекторний, противиразковий, антиканцерогенний та протимікробний [51, 118, 167, 221, 227].

Хроматографічне розділення *фенольних сполук* проводили методом двовимірної ПХ (розділ 2.2.2). При перегляді хроматограм в УФ-світлі спостерігали плями жовтого, блакитного та коричневого кольору, які після обробки парами амоніаку та специфічними реактивами ставали яскравішими або змінювали забарвлення. Результати аналізу двовимірної хроматограми

водно-спиртових витяжок сировини видів роду Воловик представлено на рис. 3.2 – 3.4 та в табл. 3.2. – 3.4.

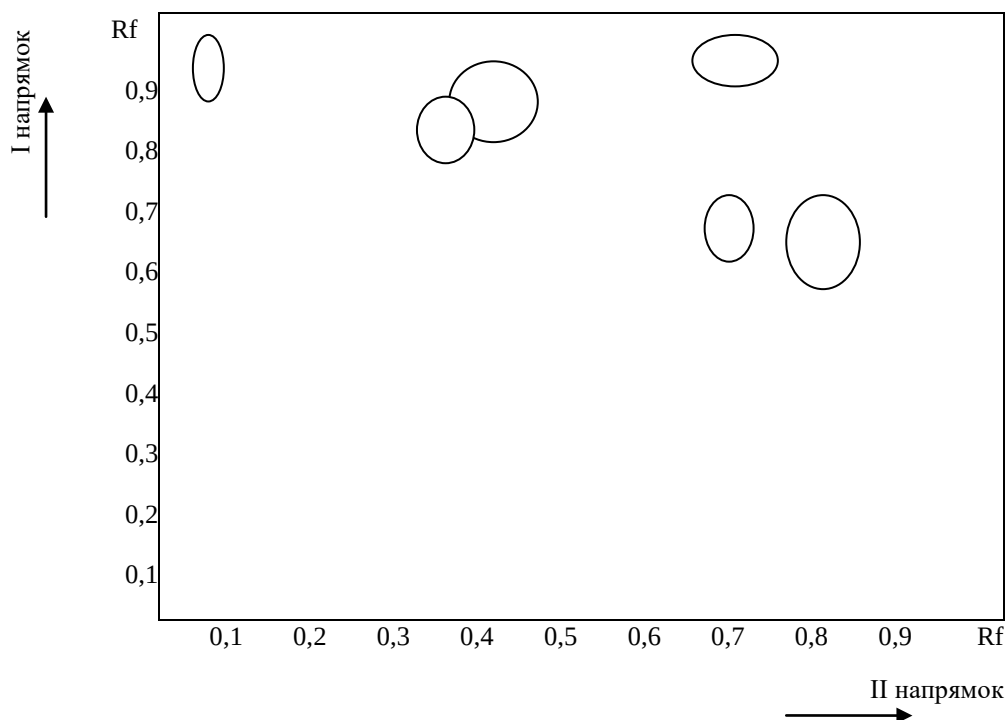


Рис. 3.2. Схема двовимірної хроматограми фенольних сполук трави в. лікарського (I напрямом – система розчинників № 1, II напрямом – система розчинників № 2).

Таблиця 3.2

Фенольні сполуки трави воловика лікарського

№ плями	Величина Rf^* в системах розчинників		Флуоресценція в УФ-світлі			
	№ 1	№ 2	до обробки парами амоніаку	після обробки парами амоніаку	після обробки 3 % розчином алюмінію хлориду	після обробки 5 % розчином натрію гідроксиду
1	0,93	0,69	жовте	жовте	жовте	жовте
2	0,68	0,65	блакитне	блакитне	-	-
3	0,80	0,62	блакитне	блакитне	-	-
4	0,40	0,86	жовте	жовте	жовте	жовте
5	0,35	0,82	світло-жовте	жовте	жовте	жовте
6	0,91	0,06	коричневе	коричневе	жовте	темно-жовте

На основі даних наведених на рис. 3.2 та у табл. 3.2, у траві в. лікарського виявлено 6 речовин фенольної природи. За значенням R_f та забарвленням плям до та після обробки парами амоніаку та хромогенними реактивами 4 речовини ідентифіковані як флавоноїди, 2 речовини – як гідроксикоричні кислоти.

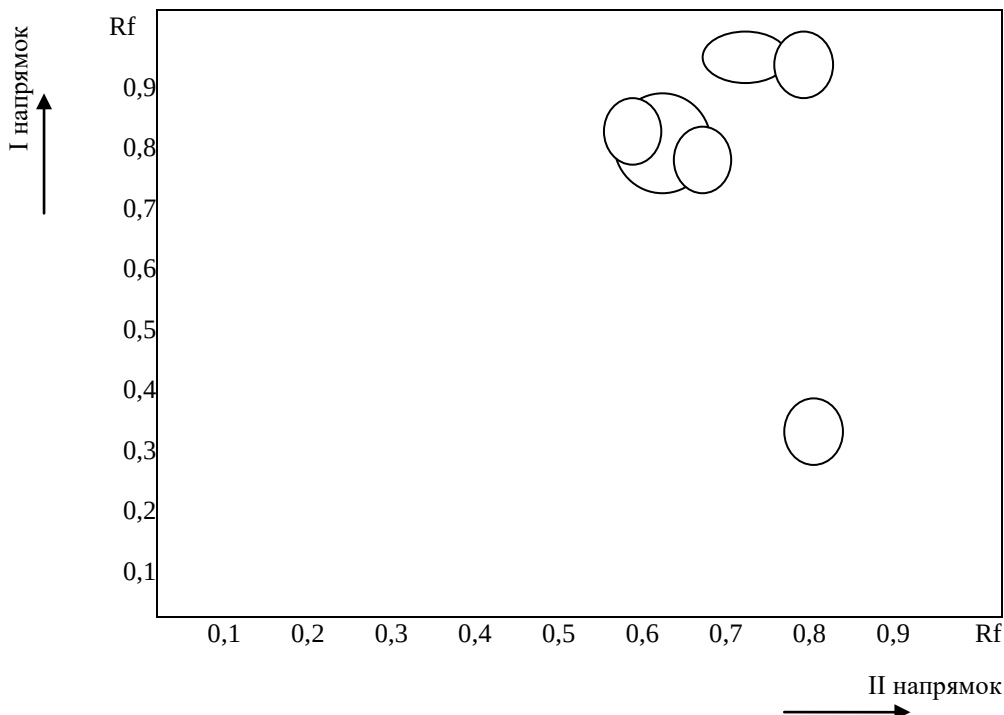


Рис. 3.3. Схема двовимірної хроматограми фенольних сполук коренів в. лікарського (I напрямок – система розчинників № 1, II напрямок – система розчинників № 2).

Таблиця 3.3

Фенольні сполуки коренів воловика лікарського

№ плями	Величина R_f^* в системах розчинників		Флуоресценція в УФ-світлі			
	№ 1	№ 2	до обробки парами амоніаку	після обробки парами амоніаку	після обробки 5 % розчином алюмінію хлориду	після обробки 5 % розчином натрію гідроксиду
1	0,92	0,73	жовте	жовте	жовте	жовте
2	0,80	0,57	жовте	жовте	жовте	жовте
3	0,79	0,60	блакитне	блакитне	-	-
4	0,76	0,63	блакитне	блакитне	-	-
5	0,29	0,77	жовте	жовте	жовте	жовте
6	0,92	0,79	коричневе	коричневе	жовте	темно-жовте

Згідно даних рис. 3.3 та табл. 3.3, у коренях в. лікарського виявлено 6 речовин фенольної природи. За значенням R_f та забарвленням плям до та після обробки парами амоніаку та хромогенними реактивами 4 речовини ідентифіковані як флавоноїди та 2 речовини – як гідроксикоричні кислоти.

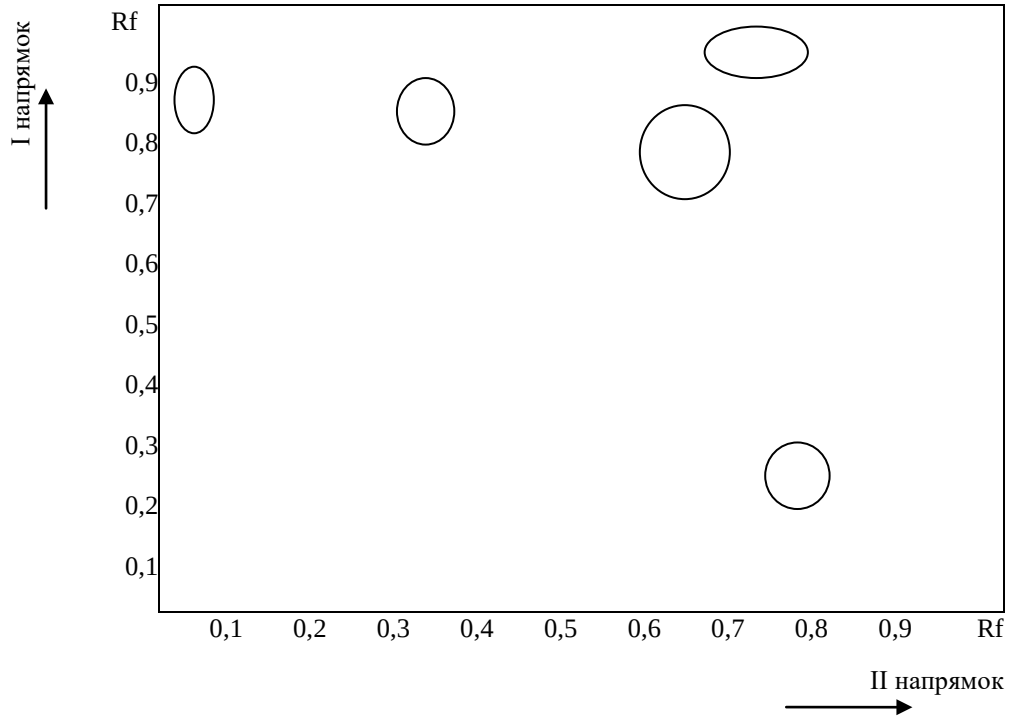


Рис. 3.4. Схема двовимірної хроматограми фенольних сполук трави в. високого (I напрямок – система розчинників № 1, II напрямок – система розчинників № 2).

Таблиця 3.4

Фенольні сполуки трави воловика високого

№ плями	Величина R_f^* в системах розчинників		Флуоресценція в УФ-світлі			
	№ 1	№ 2	до обробки парами амоніаку	після обробки парами амоніаку	після обробки 5 % розчином алюмінію хлориду	після обробки 5 % розчином натрію гідроксиду
1	0,95	0,73	жовте	жовте	жовте	жовте
2	0,23	0,75	блакитне	блакитне	-	-
3	0,78	0,61	блакитне	блакитне	-	-
4	0,32	0,84	жовте	жовте	жовте	жовте
5	0,85	0,04	коричневе	коричневе	жовте	темно-жовте

Згідно даних наведених на рис. 3.5 та у табл. 3.5, у траві в. високого встановлено наявність 5 речовин фенольної природи. За значенням R_f та забарвленням плям до та після обробки парами амоніаку та хромогенними реактивами 3 речовини ідентифіковані як флавоноїди та 2 речовини – як гідроксикоричні кислоти.

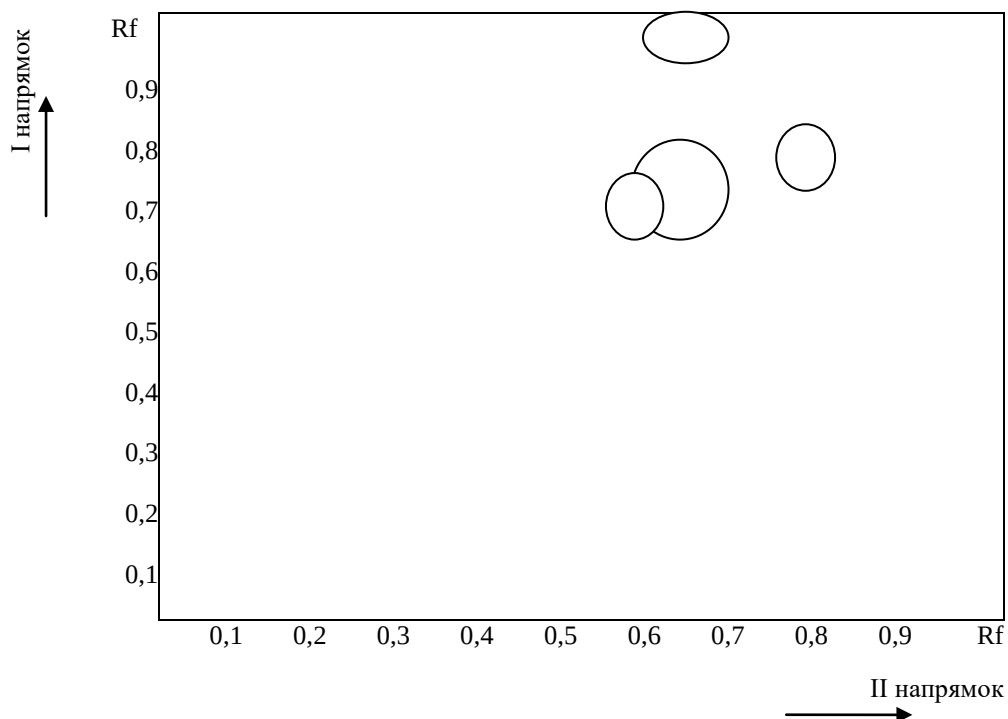


Рис. 3.5. Схема двовимірної хроматограми фенольних сполук коренів в. високого (I напрямком – система розчинників № 1, II напрямком – система розчинників № 2).

Таблиця 3.5

Фенольні сполуки коренів воловика високого

№ плями	Величина R_f^* в системах розчинників		Флуоресценція в УФ-світлі			
	№1	№2	до обробки парами амоніаку	після обробки парами амоніаку	після обробки 5 % розчином алюмінію хлориду	після обробки 5 % розчином натрію гідроксиду
1.	0,96	0,66	жовте	жовте	жовте	жовте
2.	0,68	0,57	жовте	жовте	жовте	жовте
3.	0,70	0,63	блакитне	блакитне	-	-
4.	0,76	0,78	коричневе	коричневе	жовте	темно-жовте

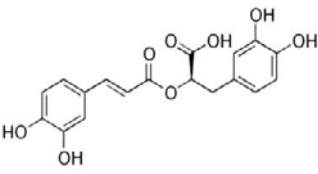
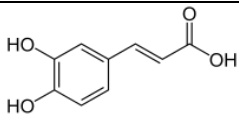
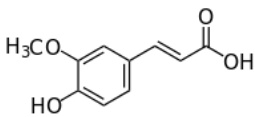
Згідно даних наведених на рис. 3.5 та у табл. 3.5, у коренях в. високого встановлено наявність 4 речовин фенольної природи. За значенням R_f та забарвленням плям до та після обробки парами амоніаку та хромогенними реактивами 3 речовини ідентифіковано як флавоноїди та 1 речовина – як гідроксикорична кислота.

3.2. Дослідження фенольних сполук методом ВЕРХ

Розділення, ідентифікацію та кількісне визначення *фенольних сполук* трави та коренів в. лікарського проводили з використанням методу ВЕРХ (розділ 2.2.2). Результати дослідження *гідроксикоричних кислот* трави та коренів в. лікарського наведені в табл. 3.6 та в Додатку Л.

Таблиця 3.6

Вміст гідроксикоричних кислот у траві та коренях воловика лікарського

№	Субстанція	Формула	Трава		Корені	
			мг/кг	%*	мг/кг	%*
1.	<i>Розмаринова</i> (Естер кавової і 3,4-дигідрокси-феніл молочної кислоти)		4558,86	95,08	1964,66	96,75
2.	<i>Кавова</i> (3,4-дигідроксикорична кислота)		135,0	2,82	65,96	3,25
3.	<i>Ферулова</i> (3-метокси-4-гідроксикорична кислота)		100,66	2,10	-	-
Загальний вміст:			4794,52	100	2030,62	100

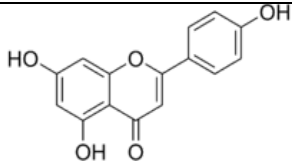
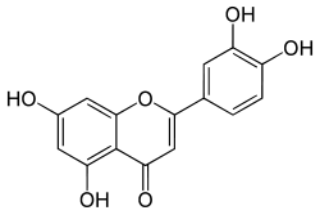
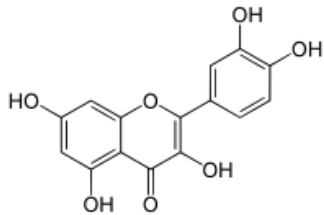
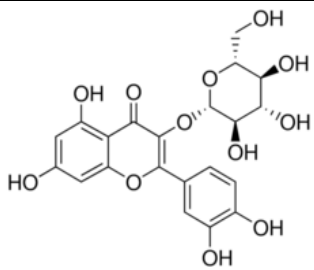
Примітка. * - по відношенню до загального вмісту ідентифікованих гідроксикоричних кислот у сировині.

Дані табл. 3.6 вказують, що переважаючою субстанцією серед гідроксикоричних кислот в траві та коренях в. лікарського є розмаринова кислота (95,08 % та 96,75 % відповідно), а ферулова кислота присутня лише в траві рослини. Загальний вміст ідентифікованих гідроксикоричних кислот у траві в. лікарського становить 0,48 %, в коренях – 0,2 %.

Результати дослідження *флавоноїдів* трави та коренів в. лікарського наведені в табл. 3.7 та в Додатку М.

Таблиця 3.7

Вміст флавоноїдів у траві та коренях воловика лікарського

№	Субстанція	Формула	Трава		Корені	
			мг/кг	%*	мг/кг	%*
Флавори						
1.	Апігенін (5,7,4'-тригідрокси-флавион)		174,51	30,24	389,54	79,09
2.	Лютеолін (5,7,3',4'-тетрагідроксифлавион)		146,58	25,40	17,62	3,58
Флавоноли						
3.	Кверцетин (3,5,7,3',4'-пентагідроксифлавион)		-	-	73,78	14,98
4.	Ізокверцитрин (кверцетин-3-глюкопіранозид)		256,0	44,36	11,57	2,35
Загальний вміст:			577,09	100	492,51	100

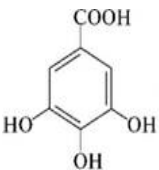
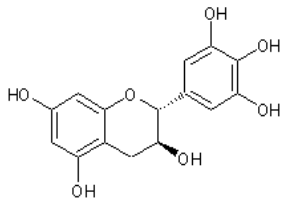
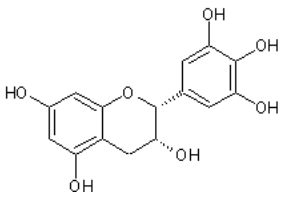
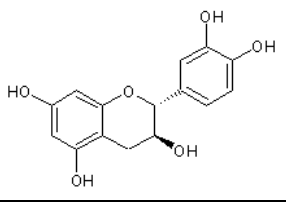
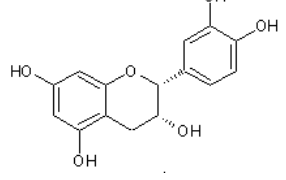
Примітка * - по відношенню до загального вмісту ідентифікованих флавоноїдів у сировині.

Дані табл. 3.7 свідчать, що переважаючою субстанцією серед ідентифікованих флавоноїдів трави в. лікарського є ізокверцитрин (44,36 %), коренів – апігенін (79,09 %). Також встановлено наявність кверцетину в коренях рослини. Загальний вміст ідентифікованих флавоноїдів у траві в. лікарського становить 0,058 %, у коренях – 0,049 %.

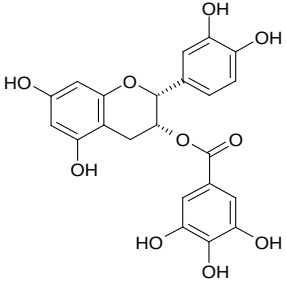
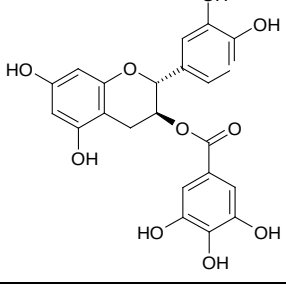
Результати дослідження *танінів* трави та коренів в. лікарського наведені в табл. 3.8 та в Додатку Н.

Таблиця 3.8

Вміст танінів у сировині воловика лікарського

№	Субстанція	Формула	Трава		Корені	
			мг/кг	%*	мг/кг	%*
1	2	3	4	5	6	7
<i>Таніни, що гідролізуються (похідні галової кислоти)</i>						
1.	<i>Галова кислота</i>		100,58	0,24	22,99	0,05
<i>Конденсовані таніни (похідні флаван-3-олу)</i>						
2.	<i>Галокатехін</i>		3811,20	9,03	1753,71	4,09
3.	<i>Епігалокатехін</i>		21864,28	51,79	29850,06	69,56
4.	<i>Катехін</i>		4355,38	10,32	1966,35	4,58
5.	<i>Епікатехін</i>		7092,19	16,80	3168,53	7,38

Продовж. табл.3.8

1	2	3	4	5	6	7
6.	<i>Епікатехіну галат</i>		1036,64	2,45	1673,1	3,90
7.	<i>Катехіну галат</i>		3954,41	9,37	4476,4	10,43
Загальний вміст			42214,68	100	42911,14	100

Примітка * - по відношенню до загального вмісту ідентифікованих танінів у сировині.

Дані табл. 3.8 вказують, що в сировині значно переважають таніни конденсованої групи, а домінуючою субстанцією в траві та коренях в. лікарського є епігалокатехін (51,79 % та 69,56 % від загального вмісту танінів у сировині відповідно). Загальний вміст ідентифікованих танінів у траві в. лікарського становить 4,22 %, у коренях – 4,29 % [240].

3.3 Виділення індивідуальних сполук трави воловика лікарського

З метою виділення індивідуальних БАР із трави в. лікарського та встановлення їх структури проведено послідовну екстракцію 0,3 кг сировини органічними розчинниками. Дослідження здійснювали згідно методики розділу 2.2.2. В результаті були отримані фракції: хлороформна (17,0 г), етилацетатна (7,2 г), бутанольна (10,0 г) та водна (4,4 г). Схему виділення БАР із трави в. лікарського наведено на рис. 3.6.

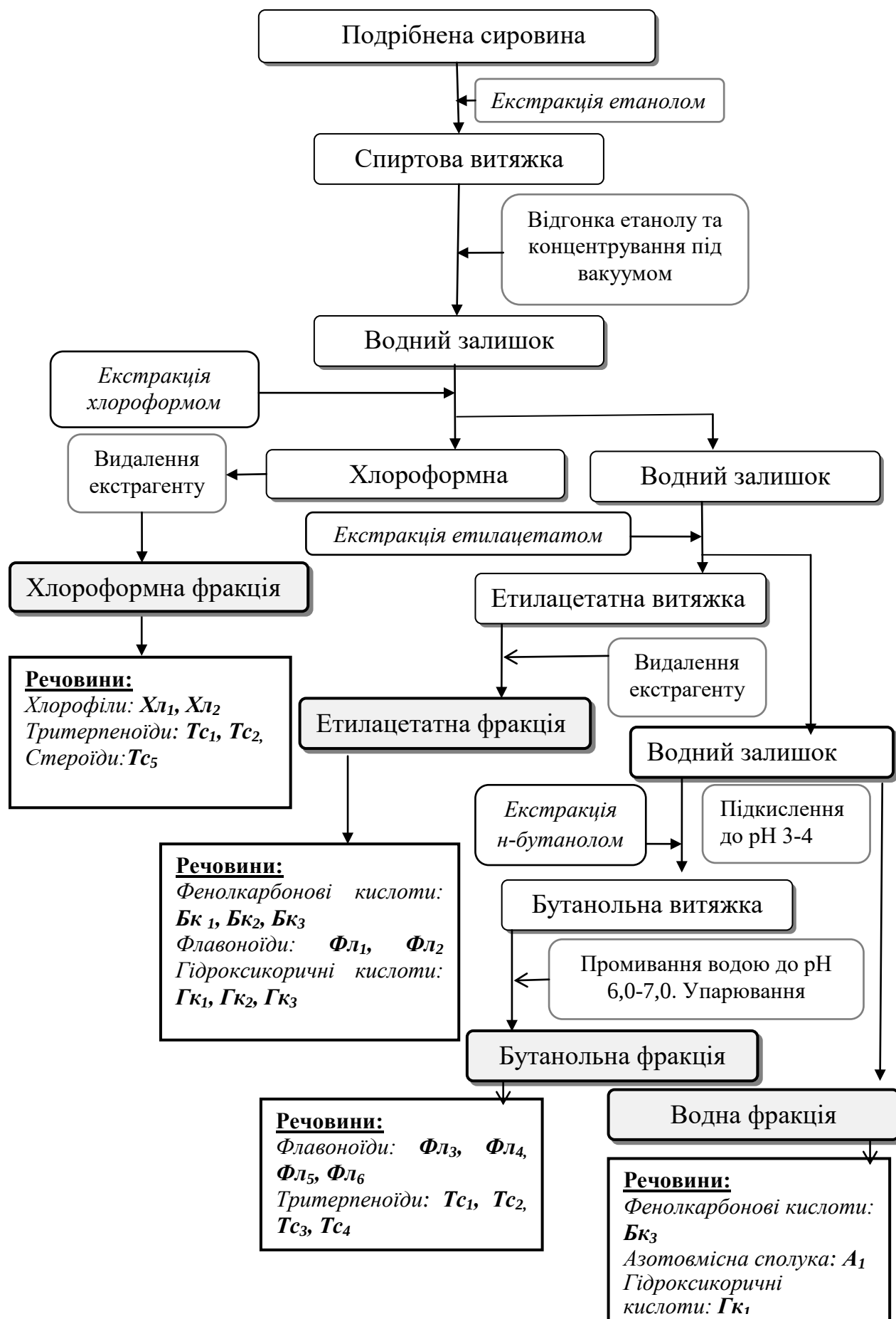


Рис. 3.6. Схема виділення індивідуальних сполук з трави воловика лікарського

Хлороформна фракція

У хлороформній фракції на основі хімічних реакцій, ТШХ та за флуоресценцією в УФ-світлі ідентифіковано хлорофіли. Позитивні реакції Лібермана-Бурхарда та Сальковського свідчать про наявність стероїдів.

Методом ТШХ при обробці ваніліну реактивом у фракції виявили плями фіолетового кольору, що є характерним для фітостеринів та тритерпеноїдів.

15,0 г хлороформної фракції змішували з силікагелем, висушували і наносили на колонку (4×60 см) і елюювали чистим хлороформом, а потім сумішшю хлороформ-бензол (1:2). Компоненти хлороформної фракції розподіляли на колонці силікагелю у співвідношенні фракція – сорбент (1:50). Перебіг процесу контролювали методом ТШХ на пластинках «*Sorbfil*» в системах розчинників № 11 і № 12, а також переглядали колонку в УФ-світлі. З відібраних фракцій перекристалізацією з 96 % етанолу виділено речовини: Хл₁, Хл₂, Тс₁, Тс₂, Тс₅.

Етилацетатна фракція

В етилацетатній фракції на основі хімічних реакцій, ТШХ, ПХ за інтенсивністю забарвлення, флуоресценцією плям в УФ-світлі та під дією хромогенних реактивів виявлено аглікони флавоноїдів, глікозиди флавоноїдів та гідроксикоричні кислоти.

7,0 г етилацетатної фракції розчиняли у 96 % етанолі, змішували з поліамідним сорбентом, підсушували при температурі 30-35°C до видалення запаху етанолу і наносили на підготовлену колонку (4×60 см). Компоненти фракції розподіляли на колонці поліаміду у співвідношенні етилацетатна фракція – сорбент (1:30). Елюювали водою та сумішами води та етанолу з поступовим зростанням частки етанолу в суміші. Контроль процесу проводили переглядом колонки в УФ-світлі та методом ТШХ і ПХ в системах розчинників № 1 і № 2. Фракції збирали по 50 мл. Після хроматографування на папері марки «*Filtrak FN-1*» в 15 % оцтовій кислоті однорідні за вмістом фракції об'єднували та упарювали досуха. Оскільки для деяких речовин було зафіксовано дуже близькі значення *R_f*, необхідним було проведення рехроматографії сумішей на

колонці поліаміду (3×30 см). З відібраних фракцій після перекристалізації з 96 % етанолу були виділені речовини: Бк₁, Бк₂, Бк₃, Фл₁, Фл₂, Гк₁, Гк₂, Гк₃.

Бутанольна фракція

У бутанольній фракції на основі хімічних реакцій, ТШХ, ПХ за інтенсивністю забарвлення, флуоресценцією плям в УФ-світлі та під дією хромогенних реактивів виявлено глікозиди флавоноїдів, катехіни та тритерпеноїди.

10,0 г бутанольної фракції розчиняли в 50 % етанолі, змішували з поліамідним сорбентом, підсушували до сипкості і наносили у вигляді суспензії з водою на підготовлену колонку (4×60 см). Компоненти бутанольної фракції розподіляли на колонці поліаміду у співвідношенні бутанольна фракція – сорбент (1:30). Елюювання проводили водою та сумішами води з етанолом із поступовим зростанням концентрації етанолу в суміші до 80 %. Контроль процесу проводили переглядом колонки в УФ-світлі та методом ТШХ і ПХ в системах розчинників № 1 і № 2. Відбирали фракції по 50 мл, а після упарювання та хроматографування їх об'єднували. З відібраних фракцій після перекристалізації з 96 % етанолу були виділені речовини: Фл₃, Фл₄, Фл₅, Фл₆, Тс₁, Тс₂, Тс₃, Тс₄.

Водна фракція

Методами ТШХ та ПХ за флуоресценцією плям в УФ-світлі та під дією хромогенних реактивів виявлено гідроксикоричні кислоти. При взаємодії компонентів фракції з 1 % спиртовим розчином *n*-диметилбензальдегіду з 5 % кислоти хлоридної після нагрівання до 60 °С з'являлося жовте забарвлення, що свідчить про наявність азотовмісних сполук.

4,0 г водної фракції розчиняли в 150 мл води очищеної, змішували з поліамідним сорбентом, підсушували до сипкості і наносили на підготовлену колонку. Компоненти фракції розподіляли на колонці (4×60 см) у співвідношенні водна фракція – сорбент (1:30). Елюювали водою та сумішами води з етанолом з поступовим зростанням концентрації спирту до 10 %. Процес контролювали шляхом перегляду колонки в УФ-світлі та методами ТШХ і ПХ в

системах розчинників № 1 і № 2. Фракції збирали по 50 мл, упарювали, хроматографували та, у випадку їх ідентичності, об'єднували. З відібраних фракцій після перекристалізації з 96 % етанолу виділено речовини: Бк₃, А₁, Гк₁, Гк₂, Гк₃,

3.3.1. Вивчення та встановлення структури виділених сполук

Фенолкарбонові кислоти

Речовина Бк₁ – безбарвні кристали з т. пл. 213 - 215 °С, розчинні у воді, бензолі, ефірі, легко розчинні в етанолі. Із 3 % розчином феруму (ІІІ) хлориду речовина Бк₁ утворює фіолетове забарвлення. Внаслідок ацетилювання речовини Бк₁ утворилася похідна сполука з однією ацетильною групою, т. пл. якої становить 197 °С, внаслідок метилювання – похідне, яке за т. пл. ідентичне з досліджуваною речовиною і метилбензоатом, що дає можливість охарактеризувати речовину Бк₁ як *n*-гідроксибензойну кислоту.

Речовина Бк₂ – безбарвні кристали з т. пл. 196 - 199 °С, легко розчинні у воді та етанолі. Речовина Бк₂ утворює із 3 % розчином феруму (ІІІ) хлориду синьо-зелене забарвлення, яке при додаванні кальцію карбонату змінюється на фіолетове, а потім – червоне. При змішуванні проби речовини Бк₂ із достовірним зразком протокатехової кислоти депресії т. пл. не спостерігали. Проведені дослідження дають змогу ідентифікувати речовину Бк₂ як 3,4-гідроксибензойну кислоту (протокатехова кислота).

Речовина Бк₃ – безбарвні кристали з т. пл. 256 - 258 °С, легко розчинні в етанолі та метанолі, ацетоні, діетиловому ефірі, воді; практично не розчинні у хлороформі та бензолі. При проведенні УФ-спектроскопії встановлено, що речовина Бк₃ має λ_{max} – 276 нм. Із 3 % розчином феруму (ІІІ) хлориду речовина Бк₃ утворює синє забарвлення. При взаємодії з кальцію гідроксидом при нагріванні (в запаяній ампулі) розпадається до пірогалолу. Із 10 % спиртовим розчином натрію гідроксиду утворює червоно-фіолетове забарвлення, що змінюється на жовте. При ацетилюванні речовини Бк₃ утворюється сполука з

т. пл. 120 - 122 °С, при метилюванні – похідне, яке за т. пл. ідентичне з досліджуваною речовиною і метилгалатом. Хроматографування метильного похідного речовини Бк₃ і достовірного зразка метилгалату методом ПХ в 5 % розчині оцтової кислоти підтверджує даний висновок, що дає можливість ідентифікувати речовину Бк₃ як 3,4,5-тригідроскибензойну кислоту (галова кислота).

Гідроксикоричні кислоти

Речовина Гк₁ – білий кристалічний порошок, т. пл. 167 - 169 °С, на хроматограмах в УФ-світлі флуоресценціює блакитним кольором, який при обробці парами амоніаку стає яскравішим. При УФ-спектроскопії речовина показує максимуми поглинання при $\lambda_{\max}$ 230, 291 і 323 нм, що є характерним для гідроксикоричних кислот. В продуктах лужного плавлення речовини Гк₁ ідентифіковано ванілінову кислоту, а змішана проба її з достовірним зразком ферулової кислоти не призводила до виникнення депресії т. пл. При хроматографуванні методом ПХ вказана проба проявлялася як одна нероздільна пляма. Таким чином речовину Гк₁ можна охарактеризувати як 3-метокси-4-гідроксикоричну кислоту (ферулова кислота).

Речовина Гк₂ – безбарвні кристали, добре розчинні в етанолі, малорозчинні в ацетоні, нерозчинні у хлороформі та бензолі, т. пл. 195 °С. При проведенні ПХ в УФ-світлі речовина флуоресценціює блакитним кольором, який при обробці парами амоніаку стає яскраво-блакитним. Спектральні дослідження в УФ-області показують максимуми поглинання при 245, 299 і 325 нм, що дозволяє віднести досліджувану речовину до гідроксикоричних кислот. Порівняльне хроматографічне дослідження речовини Гк₂ із достовірним зразком кавової кислоти вказує на їх ідентичність, що дає змогу охарактеризувати речовину Гк₂ як 3,4-дигідроксикоричну кислоту (кавова кислота).

Речовина Гк₃ – червоно-оранжевий порошок, погано розчинний у воді, легко розчинний в етанолі, метанолі, хлороформі, діетиловому етері та бензолі, т. пл. 171 - 175°С. При проведенні ПХ в УФ-світлі речовина флуоресціює

блакитним кольором, який при обробці парами амоніаку флуоресценція стає зелено-блакитною. Спектральні дослідження в УФ-області показують максимуми поглинання при 220, 290 і 326 нм. Це дозволяє віднести досліджувану речовину до гідроксикоричних кислот. Порівняльне хроматографічне дослідження речовини Гк₃ із достовірним зразком розмаринової кислоти вказує на їх ідентичність, що дає змогу охарактеризувати речовину Гк₃ як естер кавової і 3,4-дигідроксифеніл молочної кислоти (розмаринова кислота).

Флавоноїди

Речовина Фл₁ – жовті голчасті кристали, добре розчинні в ацетоні, етанолі, нерозчинні в хлороформі та бензолі, т. пл. 345 - 347 °С. На хроматограмах в УФ-світлі дана речовина має темне забарвлення, після обробки парами амоніаку з'являється світло-жовта флуорисценція. В УФ-області спектру встановлені максимуми поглинання речовини (етанол) при 268, 321 нм, що дозволяє віднести її до флавонів. Змішана проба речовини Фл₁ і достовірного зразка апігеніну не показала депресії т. пл. і на хроматограмах проявлялась як одна нероздільна пляма. Згідно одержаних результатів можна ідентифікувати речовину Фл₁ як 5,7,4'-тригідроксифлавіон (апигенин).

Речовина Фл₂ – жовті голчасті кристали, добре розчинні в етанолі, ацетоні, нерозчинні в хлороформі та бензолі, т. пл. 327 - 329 °С. Зафіксовані максимуми поглинання речовини в УФ-області спектру при 350, 252 нм вказують на її належність до флавонів. Змішана проба речовини Фл₂ та достовірного зразка лютеоліну не призводить до депресії т. пл. і на хроматограмах проявлялась як одна нероздільна пляма. На основі одержаних результатів досліджень речовину Фл₂ можна охарактеризувати як 5,7,3',4'-тетрагідроксифлавіон (лютеолін).

Речовина Фл₃ – жовті голчасті кристали, добре розчинні в етанолі, етилацетаті, гарячій воді, нерозчинні в діетиловому ефірі, хлороформі та бензолі, т. пл. 175 - 178 °С. В УФ-світлі речовина дає коричневу флуоресценцію, а при обробці 5 % спиртовим розчином алюмінію хлориду

флуоресціює зеленувато-жовтим кольором. В результаті гідролізу утворювались сполуки, які за результатами хроматографічного дослідження з достовірними зразками ідентифіковані як кемпферол і D-глюкоза. При УФ-спектрометрії досліджуваної речовини встановлено максимуми поглинання (етанол) при 375 і 270 нм. Змішана проба речовини із достовірним зразком астрагаліну не проявляла депресії т. пл. і на хроматограмах проявлялась як одна нероздільна пляма. На основі одержаних результатів можна ідентифікувати речовину Фл₃ як кемпферол-3-глюкопіранозид (астрагалін).

Речовина Фл₄ – жовті кристали, т. пл. 189 - 192 °С. За результатами ціанідинової проби за Бріантом (продукти реакції червоного кольору, які не переходять в октанольний шар), відновлення реактивом Фелінга після кислотного гідролізу та темно-коричнева флуоресценція речовини в УФ-світлі на хроматограмах, яка під дією парів амоніаку переходить в жовту, вказують на глікозидну природу речовини. При УФ-спектрометрії речовини встановлено максимуми поглинання (етанол) при 257, 265, 360 нм. У процесі дослідження продуктів кислотного гідролізу речовини Фл₄ було ідентифіковано аглікон, який за фізико-хімічними властивостями і хроматографічною поведінкою тотожний із кверцетином. В нейтралізованому гідролізаті методом ПХ в системі розчинників № 13 у порівнянні з достовірними зразками було ідентифіковано D-глюкозу і L-рамнозу. Змішана проба речовини Фл₄ з достовірним зразком рутину не призвела до депресії т. пл. і на хроматограмах проявлялась як одна нероздільна пляма. На основі одержаних результатів речовину Фл₄ можна охарактеризувати як кверцетин-3-рамноглюкозид (рутин).

Речовина Фл₅ – яскраво-жовті кристали, розчинні в етанолі, метанолі, малорозчинні в ацетоні, нерозчинні у воді та хлороформі, т. пл. 228 - 230°С. За результатами ціанідинової реакції по Бріанту можна передбачити глікозидну природу сполуки. На хроматограмах в УФ-світлі дана речовина має темно-коричнєве забарвлення, яке після обробки парами амоніаку переходить у жовте, що є характерним для похідних флавонолу. При УФ-спектрометрії речовини встановлено максимуми поглинання (етанол) при 260, 360 нм. У процесі

дослідження продуктів кислотного гідролізу речовини Фл₅ було ідентифіковано аглікон, який за фізико-хімічними властивостями і хроматографічною поведінкою тотожний із кверцетином, а в нейтралізованому гідролізаті методом ПХ в системі розчинників № 13 у порівнянні з достовірними зразками було ідентифіковано D-глюкозу. Речовина Фл₅ гідролізується рамнодіастазою, що вказує на глікозидний зв'язок між агліконом та цукровим залишком. Як результат проведених хімічних та хроматографічних досліджень, речовину Фл₅ було ідентифіковано як кверцетин-3-глюкопіранозид (ізокверцитрин).

Речовина Фл₆ – жовтуваті голчасті кристали, розчинні в етанолі, етилацетаті, нерозчинні в хлороформі та бензолі, т. пл. 175 - 177 °С. Після обробки хроматограм ваніліну реактивом речовина Фл₆ проявляється у вигляді плями червоного кольору, що є характерним для катехінів. Після ацетилювання речовини Фл₆ отримано сполуку з т. пл. 131 - 133 °С, після метилювання діазометаном в діетиловому ефірі утворилося похідне з т. пл. 143 - 145 °С. Як результат проведених хімічних та хроматографічних досліджень, речовину Фл₆ було ідентифіковано як D-3,5,7,3',4'-пентагідроксифлаван (катехін).

Тритерпеноїди

Речовина Тс₁ – білі кристали, добре розчинні в діетиловому ефірі та хлороформі, малорозчинні в етанолі та ацетоні, нерозчинні у воді, т. пл. 284 - 286 °С. Після ацетилювання речовини оцтовим ангідридом в піридині і очистки отриманого продукту на колонці силікагелю було отримано безбарвні кристали з т. пл. 280 - 283 °С, а після метилювання діазометаном в діетиловому ефірі отримано білі кристали з т. пл. 166 - 169 °С. При хроматографуванні речовини Тс₁ методом ПХ в системі розчинників № 1 та подальшій обробці хроматограм ваніліну реактивом проявилася пляма фіолетового кольору, що є характерним для тритерпенових сполук. Як результат проведених хімічних та хроматографічних досліджень, речовину Тс₁ було ідентифіковано як урсолову кислоту.

Речовина Тс₂ – безбарвні голчасті кристали, добре розчинні в етанолі, діетиловому ефірі та хлороформі, нерозчинні у воді, т. пл. 306 - 308 °С. При

хроматографуванні речовини Тс₂ методом ПХ в системі розчинників № 1 та обробці хроматограм ваніліну реактивом проявилася пляма фіолетового кольору, що є характерним для тритерпенових сполук. У процесі ацетилювання сполуки отримано похідне, для якого зафіксовано депресію т. пл. змішаної проби з ацетатом урсолової кислоти. На основі хімічних реакцій та хроматографічної поведінки речовину Тс₂ ідентифіковано як олеанолову кислоту.

Речовина Тс₃ – безбарвні кристали, добре розчинні в етанолі та метанолі, нерозчинні у воді, т. пл. 258 - 259°C. При УФ-спектрометрії речовини Тс₃ встановлено максимум поглинання при 204 нм. При дослідженні речовини Тс₃ методом ПХ в системі розчинників № 1 та обробці хромогенним реактивом (ваніліну реактив) проявлялася фіолетова пляма, що є характерним для тритерпенових сполук. У процесі дослідження продуктів кислотного гідролізу речовини Тс₃ було ідентифіковано аглікон, який за фізико-хімічними властивостями і хроматографічною поведінкою тотожний із олеаноловою кислотою, а в нейтралізованому гідролізаті методом ПХ в системі розчинників № 13 у порівнянні з достовірними зразками було ідентифіковано D-глюкозу. Речовина Тс₃ гідролізується рамнодіастазою, що вказує на глікозидний зв'язок між агліконом та цукровим залишком. Як результат проведених фізико-хімічних та хроматографічних досліджень, речовину Тс₃ було ідентифіковано як олеанол-21-глюкопіранозид.

Речовина Тс₄ – безбарвні кристали, добре розчинні в етанолі та метанолі, нерозчинні у воді, т. пл. 280 - 282°C. При УФ-спектрометрії речовини Тс₄ зафіксовано максимум поглинання при 205 нм. У процесі її дослідженні методом ПХ в системі розчинників № 1 та обробці ваніліну реактивом проявлялася фіолетова пляма, що є властивим для тритерпенових сполук. При дослідженні продуктів кислотного гідролізу речовини Тс₄ було ідентифіковано аглікон, який за фізико-хімічними властивостями і хроматографічною поведінкою ідентичний з олеаноловою кислотою, а в нейтралізованому гідролізаті методом ПХ в системі розчинників № 13 у порівнянні з

достовірними зразками було ідентифіковано D-глюкозу та D-ксилозу. Речовина Тс₄ гідролізується рамнодіастазою, що вказує на глікозидну природу зв'язку між агліконом та цукровими залишками. В результаті проведених фізико-хімічних та хроматографічних досліджень, речовина Тс₄ була ідентифікована як олеанол-21-глюкопіранозидо-3-ксилопіранозид.

Стероїди

Речовина Тс₅ – безбарвні голчасті кристали, жирні на дотик, легко розчинні в хлороформі, ацетоні, діетиловому ефірі та практично нерозчинні у воді, т. пл. 138 - 139°C. На основі хімічних реакцій та хроматографічного аналізу на пластинках «Sorbfil» в системах розчинників № 14 і № 15 з обробкою їх реактивом 10 % розчином сірчаної кислоти та нагріванням до 100°C впродовж 5 – 10 хв речовину Тс₅ віднесено до фітостероїдів. Речовина Тс₅ не знижує т. пл. її змішаної проби з вірогідним зразком β-ситостерину. Таким чином виділену речовину ідентифікували як β-ситостерин.

Хлорофіли

Рослинні пігменти визначали за допомогою методів ТШХ та ПХ на підставі природного зеленого забарвлення плям у денному світлі, яке під дією УФ-світла переходить у червоне. З 10 % розчином купруму сульфату бензолоний шар хлорофілів з темно-зеленого змінювався до яскраво-зеленого кольору. При додаванні до хлорофілів аскорбінової кислоти та подальшому нагріванні впродовж 3-5 хв при температурі 70 - 80 °C з'являлося жовте забарвлення. На підставі хроматографічної поведінки та хімічних реакцій речовини Хл₁ і Хл₂ ідентифіковано як хлорофіл *a* і хлорофіл *b* відповідно.

Азотовмісні сполуки

Речовина А₁ – безбарвні кристали добре розчинні в гарячій воді, погано розчинні – в холодній, нерозчинні в діетиловому ефірі та етанолі, т. пл. 232 - 234°C. Речовина А₁ при взаємодії з 1 % спиртовим розчином *n*-диметил-бензальдегіду з 5 % кислоти хлоридної при нагріванні до 60 °C утворює жовте забарвлення, що є характерним для похідних сечовини. Речовина А₁ не знижує

т. пл. її змішаної проби з вірогідним зразком алантоїну. Таким чином виділену речовину ідентифікували як 5-уреїдогідантоїн (алантоїн).

Фізико-хімічні властивості виділених сполук з трави в. лікарського наведені в табл. 3.9.

Таблиця 3.9

Фізико-хімічні властивості сполук трави воловика лікарського

Сполука	Загальна формула	T _{пл.} , °C	УФ-спектр, λ max, нм	Система розчинників*	R _f в системах розчинників
1	2	3	4	5	6
<i>Фенолкарбонові кислоти</i>					
<i>n</i> -Гідроксибензойна кислота	C ₇ H ₆ O ₃	213 - 215	254	2 4	0,38 0,74
3,4,5-Тригідроксибензойна кислота (галова кислота)	C ₇ H ₆ O ₅	256 - 258	236, 276	2 4	0,45 0,65
3,4-Гідроксибензойна кислота (протокатехова кислота)	C ₇ H ₆ O ₄	196 - 199	217, 258, 295	2 4	0,42 0,86
<i>Гідроксикоричні кислоти</i>					
3-Метокси-4-гідроксикорична кислота (ферулова кислота)	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	167 - 169	230, 291, 323	1 3 4	0,44 0,62 0,86
3,4-Дигідроксикорична кислота (кавова кислота)	C ₉ H ₈ O ₄	195 - розкл.	245, 299, 325	1 3 4	0,31 0,46 0,81
Естер кавової і 3,4-дигідроксифеніл молочної кислоти (розмаринова кислота)	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	171 - 175	220, 290, 326	1 4	0,42 0,89
<i>Флавоноїди</i>					
5,7, 4'-Тригідроксифлавоон (апигенін)	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	345 - 347	268, 321	3 4	0,11 0,92

Продовж. табл. 3.9

1	2	3	4	5	6
5,7,3',4'-Тетра- гідроксифлакон (лютеолін)	$C_{15}H_{10}O_6$	327 - 329	252, 350	1 3 4	0,02 0,08 0,84
Кемпферол-3- глюкопіранозид (астрагалін)	$C_{21}H_{20}O_{11}$	175 - 178	270, 375	1 3 4	0,19 0,43 0,68
Кверцетин-3- глюкопіранозид (ізокверцитрин)	$C_{21}H_{20}O_{12}$	228 - 230	260, 360	1 3 4	0,18 0,36 0,58
Кверцетин-3- рамноглюкозид (рутин)	$C_{27}H_{30}O_{16}$	189 - 192	257, 265, 360	1 3 4	0,32 0,50 0,47
3,5,7,3',4'-Пентагідрокси- флаван (+)-катехін)	$C_{15}H_{14}O_6$	175 - 177	196, 270	2 4	0,51 0,72
<i>Тритерпеноїди</i>					
Урсолова кислота	$C_{30}H_{48}O_3$	284 - 286	310	7 9 10	0,39 0,28 0,58
Олеанолова кислота	$C_{30}H_{48}O_3$	306 - 308	310	7 9 10	0,44 0,34 0,67
Олеанол-21- глюкопіранозид	$C_{36}H_{58}O_{11}$	258 - 259	204	11 12 13	0,42 0,32 0,22
Олеанол-21- глюкопіранозидо- 3-ксилопіранозид	$C_{41}H_{64}O_{14}$	280 - 282	205	11 12 13	0,54 0,52 0,45
<i>Стероїди</i>					
β -Ситостерин	$C_{29}H_{50}O$	138 - 139	-	4 6	0,80 0,36
<i>Азотовмісні сполуки</i>					
5-Уреїдогідантоїн (алантоїн)	$C_4H_6N_4O$ 3	232 - 234	-	1 4	0,90 0,33

Продовж. табл. 3.9

1	2	3	4	5	6
<i>Хлорофіли</i>					
Хлорофіл <i>a</i>	$C_{55}H_{72}MgN_4O$ 5	150 - 153	428, 660	5 8	0,90 0,57
Хлорофіл <i>b</i>	$C_{55}H_{70}MgN_4O$ 6	183 - 185	452, 642	5 8	0,93 0,61

Примітка. *Системи розчинників: 1 – 2 % оцтова кислота; 2 – 5 % оцтова кислота; 3 – 15 % оцтова кислота; 4 – *n*-бутанол – оцтова кислота – вода (4:1:2); 5 – хлороформ / формаїд (25 %); 6 – метилкетон – *m*-ксилол (1:1) / формаїд; 7 – гексан – етилацетат (2:1); 8 – гексан – ацетон (6:2); 9 – хлороформ – етилацетат (9:1); 10 – бензол – ацетон (4:1); 11 – хлороформ – етанол – 15 % амоніак (7:3:1); 12 – *n*-бутанол – етанол – 15 % амоніак (18:3,5:18); 13 – *n*-бутанол – оцтова кислота – вода (4:1:1).

3.4 Дослідження жирнокислотного складу сировини

Жирні кислоти не синтезуються людським організмом, а потрапляють тільки ззовні. Різні види та концентрації жирних кислот присутні у багатьох рослинних та тваринних джерелах. Ненасичені жирні кислоти, зокрема лінолева та ліноленова, регулюють ліпідний обмін, забезпечують ріст та розвиток організму, підвищують його стійкість до впливу шкідливих факторів зовнішнього середовища [127, 129, 139, 140].

Розділення та дослідження *жирних кислот* в. лікарського проводили методом ГХ/МС (розділ 2.2.2), кількісний вміст визначали відносно внутрішнього стандарту за формулою 2.1. Результати дослідження представлено в табл. 3.10 та в Додатку П (рис. П.1).

Дані табл. 3.10 вказують, що у траві в. лікарського ідентифіковано 7 жирних кислот, з них: 2 поліненасичені – лінолева, γ -ліноленова та 5 насичених – пальмітинова, стеаринова, арахінова, бегенова, лігноцеринова.

Таблиця 3.10

Жирні кислоти трави воловика лікарського

№ з/п	Час утримування, хв	Назва кислоти		Формула	Кількісний вміст	
		тривіальна	систематична (IUPAC)		мг/кг	%*
1	2	3	4	5	6	7
1.	12,09	Пальмітинова	Гексадеканова	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	2324,39	28,78
2.	15,84	Лінолева	<i>цис,цис</i> -9,12-Октадекадієнова	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH})_2(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	1498,33	18,55
3.	15,99	γ -Ліноленова	<i>цис,цис,цис</i> -6,9,12-Октадекатрієнова	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH})_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	2696,36	33,38
4.	16,59	Стеаринова	Октадеканова	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	410,16	5,07
5.	20,84	Арахінова	Ейкозанова	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	240,43	2,98
6.	24,79	Бегенова	Докозанова	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$	409,23	5,07
7.	28,47	Лігноцеринова	Тетракозанова	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	498,38	6,17
Сума ненасичених жирних кислот:					4194,69	51,93
Сума насичених жирних кислот:					3882,59	48,07
Загальна сума жирних кислот:					8077,28	100

Примітка. * – по відношенню до загального вмісту ідентифікованих жирних кислот у сировині.

Загальний вміст жирних кислот у траві в. лікарського становить 0,81 % від маси сухої сировини. Встановлено, що переважаючою за вмістом серед жирних кислот у траві в. лікарського є ліноленова кислота –2696,36 мг/кг сухої сировини.

3.5. Визначення вмісту фітостеролів

Фітостероли є підгрупою стероїдів, які наявні у рослинах і схожі за структурою до холестерину. Фітостероли здійснюють широкий спектр біологічних впливів на організм людини, а саме: гіпохолестеринемічний,

імуномодуючий, антимікробний, антиоксидантний, протизапальний та ін. Фітостероли зазвичай застосовують для лікування серцевих захворювань, ревматоїдного артриту, туберкульозу, випадіння волосся та доброякісної гіперплазії передміхурової залози [217, 222, 247].

Компонентний склад фітостеролів трави в. лікарського досліджували методом ГХ/МС (розділ 2.2.2), кількісний вміст визначали відносно внутрішнього стандарту за формулою 2.1. Результати аналізу наведено в табл. 3.11 та в Додатку П (рис. П.2).

Таблиця 3.11

Фітостероли трави воловика лікарського

№ з/п	Час утримування, хв	Субстанція	Кількісний вміст	
			мг/кг	%*
1.	21,75	Кампестерол	104,79	32,95
2.	22,04	Стигмастерол	35,99	11,32
3.	22,55	Ситостерол	133,08	41,84
4.	22,71	Стигмаста-5,24(28)-дієн-3-ол	44,19	13,89
Загальний вміст фітостеролів:			318,05	100

Примітка * - по відношенню до загального вмісту ідентифікованих фітостеролів у сировині.

Загальний вміст фітостеролів у траві в. лікарського становить 0,032% від маси сухої сировини. Найвищий вміст встановлено для ситостеролу – 133,08 мг/кг сухої сировини.

3.6. Визначення вмісту летких сполук

Леткі сполуки у різних кількостях наявні у складі будь-якої рослини. Вони можуть бути ароматичної чи аліфатичної структури. Як правило, вони є складовими компонентами ефірних олій рослин. Найбільш вираженими фармакологічними ефектами летких сполук є антибактеріальний, противірусний, протигрибковий, заспокійливий або тонізуючий, протизапальний, анальгезуючий, спазмолітичний [162, 220, 235].

Розділення та кількісне визначення летких компонентів трави в. лікарського проводили методом ГХ/МС (розділ 2.2.2), кількісний вміст визначали відносно внутрішнього стандарту за формулою 2.1. Результати дослідження представлено в табл. 3.12 та в Додатку Додатку П (рис. П.3).

Таблиця 3.12

Леткі сполуки трави воловика лікарського

№ з/п	Час утримування, хв	Субстанція	Кількісний вміст	
			мг/кг сировини	%*
1.	3,01	2-Гептанон	19,55	13,21
2.	3,06	3-Гептанол	7,74	5,23
3.	3,12	2-Гептанол	9,30	6,28
4.	10,06	Тимол	29,81	20,14
5.	11,26	2,4,5-Триметилбензальдегід	9,90	6,69
6.	13,58	β -Іонон	7,83	5,28
7.	15,67	Гексадеканаль	10,79	7,29
8.	15,93	Лонгіфолен	3,32	2,25
9.	17,82	α -Гексацинамоновий альдегід	4,17	2,82
10.	19,23	Гексагідрофарнезилацетон	27,67	18,70
11.	20,30	Фарнезилацетон	11,78	7,96
12.	27,48	Октакозан	6,14	4,15
Загальний вміст летких сполук:			148,00	100

Примітка. * - по відношенню до загального вмісту ідентифікованих летких сполук у сировині.

Як свідчать дані представлені в табл. 3.12 у траві в. лікарського ідентифіковано та встановлено вміст 12 сполук, з них 4 кетони, 3 спирти, 3 альдегіди та 2 вуглеводні сполуки. Серед спиртів – 2-гептанол, 3-гептанол та ароматичний монотерпеноїд тимол, серед альдегідів – 2,4,5-триметилбензальдегід, гексадеканаль, α -гексацинамоновий альдегід, серед кетонів – 2-гептанон, нортерпеноїд β -іонон, похідні сесквітерпеноїдів: гексагідрофарнезилацетон та фарнезилацетон, серед аліфатичних вуглеводнів – октакозан та трициклічний сесквітерпеноїд лонгіфолен. Загальний вміст ідентифікованих сполук леткої фракції трави в. лікарського становить 0,015 %.

Домінуючими сполуками є монотерпеновий фенол – тимол та похідне сесквітерпену – гексагідро-фарнезилацетон – 29,81 мг/кг та 27,67 мг/кг сухої сировини відповідно.

3.7. Визначення вмісту макро- та мікроелементів

Макро- та мікроелементи приймають участь у здійсненні практично всіх життєво важливих функцій в організмі людини. Разом з водою вони обумовлюють сталість осмотичного тиску та кислотно-основну рівновагу, а також є повноправними учасниками реакцій обміну речовин. Безумовна цінність цих біологічно активних речовин полягає в тому, що вони містяться в рослинній сировині у природних збалансованих комплексах [46, 119].

Макроелементи, а саме кальцій, фосфор, калій, натрій та магній є життєво необхідними компонентами для забезпечення сталості внутрішнього середовища живого організму. Мікро- та ультрамікроелементи, а саме ферум, цинк, купрум, манган, молібден, кобальт, хром, селен та йод, є необхідними для забезпечення фізіологічного перебігу більшості процесів життєдіяльності людини [65]. Дослідження макро- та мікроелементного складу трави та коренів в. лікарського та в. високого проводили методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії згідно розділу 2.3.5. Макро- та мікроелементний склад сировини наведено у табл. 3.13.

Таблиця 3.13

Макро- та мікроелементний склад трави та коренів воловика лікарського і воловика високого

Назва елемента	В. лікарський		В. високий	
	Трава	Корені	Трава	Корені
1	2	3	4	5
мг/кг				
Ca	8121,13	8134,10	8118,14	8111,18
Mg	1552,51	1586,04	1549,13	1561,20
Si	381,60	381,75	381,68	382,20

Продовж. табл. 3.13

1	2	3	4	5
Al	175,10	184,50	171,80	169,83
Fe	77,80	75,92	65,30	63,10
Mn	43,12	45,58	41,51	42,11
Zn	26,20	28,98	16,15	18,26
B	21,85	23,45	20,89	18,55
Ba	15,32	18,27	14,58	15,26
Cu	5,89	13,40	5,66	12,11
Ni	5,318	5,316	5,314	5,292
мкг/кг				
Cr	2010	2018	2011	1962
Se	484,1	485,8	484,9	486,6
Co	356,4	358,4	352,1	342,8
Mo	185,1	185,4	185,0	184,4
Sr	49,52	50,56	48,98	49,63
Cd	1,33	1,47	1,35	1,41
Be	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
I	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02

Дані табл. 3.13 вказують на наявність у траві та коренях в. лікарського та в. високого 19 неорганічних елементів. Значний вміст у сировині зафіксовано для таких елементів, як кальцій (8111,18 – 8134,10 мг/кг сухої сировини), магній (1549,13 – 1586,04 мг/кг сухої сировини), кремній (381,60 – 382,20 мг/кг сухої сировини), алюміній (171,80 – 184,50 мг/кг сухої сировини), залізо (63,10 – 77,80 мг/кг сухої сировини), марганець (41,51 – 45,58 мг/кг сухої сировини), цинк (16,15 – 28,98 мг/кг сухої сировини) та мідь (5,89 – 13,40 мг/кг сухої сировини).

Серед макроелементів у сировині переважає кальцій, магній та залізо: у траві в. лікарського – 8121,13 мг/кг сухої сировини, 1552,51 мг/кг сухої сировини та 77,80 мг/кг сухої сировини відповідно; у траві в. високого – 8118,14 мг/кг сухої сировини, 1549,13 мг/кг сухої сировини та 65,30 мг/кг сухої сировини відповідно; у коренях в. лікарського – 8134,10 мг/кг сухої сировини, 1586,04 мг/кг сухої сировини та 75,92 мг/кг сухої сировини відповідно; у

коренях в. високого – 8111,10 мг/кг сухої сировини, 1561,20 мг/кг сухої сировини та 63,10 мг/кг сухої сировини відповідно. Вміст важких металів знаходиться в дозволених межах (ДФУ 2.0 – 2.4.27).

Для встановлення впливу мікроелементного складу ґрунту на вміст макро- та мікроелементів в сировині в. лікарського та в. високого ми провели визначення деяких мікроелементів в коренях рослин та в ґрунті з місця зростання рослини (табл. 3.14).

Таблиця 3.14

Вміст макро- та мікроелементів в коренях воловика лікарського та воловика високого і ґрунтах з місця зростання

Назва елемента	В. лікарський, с.Вістова, Калуський р-н, Івано-Франківська обл.		В. високий, сmt. Таїрове, Овідіопольський р-н, Одеська обл.	
	корені	ґрунт	корені	ґрунт
мг/кг				
Mg	1586,04	65,80	1561,20	98,56
Mn	45,58	75,58	42,11	128,16
Zn	28,98	54,86	18,26	12,16
Fe	75,92	40,28	63,10	68,87
Cu	5,11	16,21	4,92	5,36
мкг/кг				
Cr	2010	5,45	2011	13,2
Co	356,4	0,98	352,1	5,36
Cd	1,33	1,56	1,35	2,5

Аналіз вмісту макро- і мікроелементів (табл. 3.14) коренів в. лікарського, в. високого та аналіз ґрунтів, на яких зростали рослини, показує, що елементний склад зразків ґрунту з с. Вістова, Калуського р-ну, Івано-Франківської обл. та зразків ґрунту з сmt. Таїрове, Овідіопольського р-ну, Одеської обл. відрізняються за вмістом елементів, а саме, вміст магнію становив 65,80 мг/кг та 98,56 мг/кг відповідно; марганцю – 75,58 мг/кг та 128,16 мг/кг відповідно, цинку – 54,85 мг/кг та 12,16 мг/кг відповідно, заліза – 40,20 мг/кг та 68,87 мг/кг відповідно, міді – 16,21 мг/кг та 5,36 мг/кг відповідно, хрому 5,45 мкг/кг та 13,2 мкг/кг відповідно, кобальту 0,98 мкг/кг та 5,36 мкг/кг

відповідно. Вміст важких металів знаходиться в дозволених межах для лікарської рослинної сировини (ДФУ 2.0 – 2.4.27). У всіх зразках коренів виявили високий вміст Mg, Mn, Zn, Fe, Cu і спостерігали незначні коливання рівня елементів.

Вказані елементи мають низку важливих ефектів і є незамінними в забезпеченні процесу життєдіяльності організму людини. Так, магній є одним з найважливіших внутрішньоклітинних елементів. Він бере участь в процесах обміну, взаємодіючи з калієм, натрієм та кальцієм, а також є активатором численних ферментативних реакцій. Ферум входить до складу гемоглобіну (червоного пігменту крові), міоглобіну, цитохромів і виконує важливу роль у процесах виділення енергії, ферментативних реакціях, забезпеченні імунних функцій, метаболізмі холестерину. Цинк є кофактором багатьох ферментів, що беруть участь у білковому та інших видах обміну, а тому необхідний для нормального перебігу значної кількості біохімічних процесів. Купрум є компонентом білка церулоплазміну, а також каталізатором клітинних процесів, що стосуються обміну вуглеводів. Манган є компонентом різних ферментів та виконує в організмі численні функції, зокрема антиоксидантну та мембраностабілізуючу. Кобальт є одним з основних компонентів вітаміну B₁₂ (ціанокобаламіну), а також елементом, що підвищує засвоєння феруму [3, 65].

3.8. Вивчення вуглеводів

Вуглеводи відіграють визначальну роль у життєвих процесах всіх живих організмів, оскільки є джерелом енергії для біологічних систем. Вони поширені як в рослинному, так і в тваринному світі та є основними компонентами, які формують клітини організмів людей і тварин. Вуглеводи поділяють на такі групи: моносахариди, олігосахариди та полісахариди [57]. Основними фармакологічними ефектами полісахаридів є відхаркувальний, пом'якшувальний, протизапальний, противиразковий, ранозагоювальний та обволікаючий. Окрім того, для рослинних полісахаридів характерною є

антимікробна, протівірусна, дезінтоксикуюча, антисклеротична, цитостатична, імуномодуюча та гіполіпідемічна активність. Полісахариди мають здатність виводити з організму шкідливі метали, зокрема радіонукліди [7, 102, 104, 109].

3.8.1. Дослідження фракцій полісахаридів

Виділення фракцій полісахаридів трави та коренів в. лікарського проводили у зразках сировини, заготовлених у с. Вістова Калуського району Івано-Франківської області у 2016 р. згідно розділу 2.2.4. Схема виділення фракцій наведена в Додатку Р. Вихід фракцій ВРПС, ПР, ГЦ А і ГЦ Б у перерахунку на абсолютно суху сировину у відсотках представлено на рис. 3.7.

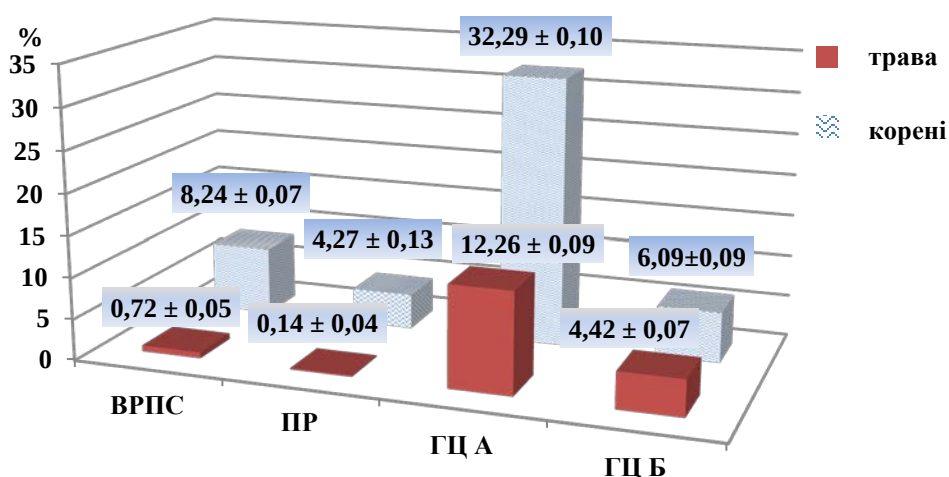


Рис. 3.7. Вміст фракцій полісахаридів у сировині в. лікарського

Як свідчать дані рис. 3.7, найбільший вміст серед фракцій полісахаридів трави та коренів в. лікарського зафіксовано для ГЦ А (32,29 % та 12,26 % відповідно) [22, 27].

Хроматографічне вивчення моноцукрового складу полісахаридних фракцій проводили після кислотного гідролізу згідно розділу 2.2.2. За результатами проведеного хроматографічного аналізу у траві та коренях в. лікарського ідентифіковано вільні цукри: D-глюкозу та D-фруктозу, а у фракціях полісахаридів – нейтральні та кислі цукри: D-глюкозу, D-фруктозу, L-рамнозу, D-ксилозу, L-арабінозу та D-галактуронову кислоту. Моносахаридний склад виділених фракцій наведено в табл. 3.15.

Таблиця 3.15

Моносахариди фракцій трави воловика лікарського

Фракція полісахаридів	Моносахаридний склад					
	D-глюкоза	L-арабіноза	D-ксилоза	D-фруктоза	L-рамноза	D-галакту- ронова кислота
ВРПС	+	+	+	+	+	+
ПР	+	+	-	-	+	+
ГЦ А	+	+	+	+	-	+
ГЦ Б	+	+	+	+	-	+

Примітки: «+» - моносахарид ідентифіковано; «-» - моносахарид не ідентифіковано.

Аналіз даних табл. 3.15 вказує, що моносахаридами, які були ідентифіковані у всіх фракціях, є D-глюкоза та L-арабіноза та D-галактуронова кислота.

3.8.2. Визначення кількісного вмісту полісахаридів та слизу

Кількісне визначення вмісту *полісахаридів* проводили гравіметрично за формулою 2.5 згідно фармакопейної методики (розділ 2.2.4). Результати визначення наведені в табл. 3.16.

Таблиця 3.16

Вміст полісахаридів у досліджуваній сировині

Досліджувана сировина		Місце зростання	Вміст суми полісахаридів, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n=6
1	2	3	4
В. лікарський	трава	Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова	$8,32 \pm 0,12$
		Тернопільська область, Кременецький район, с. Млинівці	$6,57 \pm 0,22$

Продовж. табл. 3.16

1	2	3	4
В. лікарський	трава	Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин	$8,21 \pm 0,18$
		Закарпатська обл., Виноградівський р-н, м. Виноградів	$8,40 \pm 0,14$
	корені	Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова	$0,72 \pm 0,05$
		Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин	$0,71 \pm 0,04$
В.високий	трава	Одеська обл., Овідіопольський р-н., смт. Таїрове	$5,75 \pm 0,13$
		Одеська обл., Овідіопольський р-н., с. Бурлача балка	$6,58 \pm 0,11$
	корені	Одеська обл., Овідіопольський р-н., смт. Таїрове	$0,56 \pm 0,04$

Аналіз даних табл. 3.16 вказує, що вміст полісахаридів у надземній частині рослин роду Воловик є значно вищим, ніж у підземній і становить від 5,75 % до 8,4 % та 0,56 – 0,72 % відповідно.

Метрологічна характеристика результатів кількісного визначення вмісту полісахаридів у досліджуваній сировині наведена в табл. 3.17.

Таблиця 3.17

Метрологічна характеристика кількісного вмісту полісахаридів у сировині

n	f	S^2	S_{xc}	P	t (P, f)	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$	E, %
6	5	$0,378497 \times 10^{-3}$	$0,79425 \times 10^{-2}$	0,95	2,57	$0,71 \pm 0,04$	5,63

Дослідження вмісту *слизу* проводили гравіметрично за формулою 2.6 (розділ 2.2.4). Отримані результати наведено в табл. 3.18.

Встановлено, що вміст *слизу* у надземній частині в. лікарського є значно вищим, ніж у підземній та сировині в. високого і становить 2,08 – 4,12 %, 1,19 – 1,28 % та 0,77 – 1,02 % та 1,21 % для трави та коренів в. лікарського та в. високого відповідно.

Таблиця 3.18

Вміст слизу у досліджуваній сировині

Досліджувана сировина		Місце зростання	Вміст слизу, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n=6
В. лікарський	трава	Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова	3,32± 0,15
		Тернопільська область, Кременецький район, с. Млинівці	2,08 ± 0,21
		Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин	3,13± 0,05
		Закарпатська обл., Виноградівський р-н, м. Виноградів	4,12 ± 0,13
	корені	Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова	1,28 ± 0,24
		Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин	1,19 ± 0,11
В. високий	трава	Одеська обл., Овідіопольський р-н., смт. Таїрове	1,02 ± 0,17
		Одеська обл., Овідіопольський р-н., с. Бурлача балка	0,77 ± 0,07
	корені	Одеська обл., Овідіопольський р-н., смт. Таїрове	1,21 ± 0,09

Метрологічна характеристика результатів кількісного визначення вмісту слизу у сировині наведена в табл. 3.19.

Таблиця 3.19

Метрологічна характеристика кількісного вмісту слизу у сировині

n	f	S^2	S_{xc}	P	t (P, f)	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$	E, %
6	5	0,183184×10 ⁻²	0,17473×10 ⁻¹	0,95	2,57	1,19±0,11	9,24

3.9. Встановлення кількісного вмісту БАР

Для раціонального використання рослинної сировини, а також розробки можливих методів її стандартизації, важливим завданням є проведення визначення кількісного вмісту основних груп БАР у зразках, заготовлених у різні фази вегетації рослин та з різних місць зростання.

3.9.1. Кількісне визначення груп діючих речовин залежно від місця зростання та виду сировини

Вміст суми поліфенолів визначали за формулою 2.7 згідно фармакопейної методики (розділ 2.2.5.). Результати кількісного визначення суми поліфенолів представлені в табл. 3.20.

Таблиця 3.20

Вміст суми поліфенолів у досліджуваній сировині

Досліджувана сировина		Місце зростання	Вміст суми поліфенолів, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n=6
В. лікарський	трава	Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова	3,68±0,10
		Тернопільська область, Кременецький район, с. Млинівці	3,22±0,12
		Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин	3,81±0,08
		Закарпатська обл., Виноградівський р-н, м. Виноградів	3,13±0,13
	корені	Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова	2,65±0,15
		Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин	2,48±0,03
В.високий	трава	Одеська обл., Овідіопольський р-н., смт. Таїрове	2,80±0,04
		Одеська обл., Овідіопольський р-н., с. Бурлача балка	2,23±0,11
	корені	Одеська обл., Овідіопольський р-н., смт. Таїрове	2,20±0,07

Аналіз даних табл. 3.20 вказує, що трава в. лікарського вміщує більше поліфенольних сполук (від 3,13 до 3,81 %), ніж інші види сировини (від 2,20 до 2,80 %). Метрологічна характеристика результатів кількісного визначення вмісту суми поліфенолів у сировині наведена в табл. 3.21.

Таблиця 3.21

Метрологічна характеристика кількісного вмісту суми поліфенолів у сировині

n	f	S^2	S_{xc}	P	t (P, f)	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$	E, %
6	5	$0,136261 \times 10^{-3}$	$0,47655 \times 10^{-2}$	0,95	2,57	$2,48 \pm 0,03$	1,21

Кількісне визначення *танінів* проводили за формулою 2.8 згідно фармакопейної методики (розділ 2.2.5). Результати визначення танінів представлені в табл. 3.22.

Таблиця 3.22

Вміст танінів у досліджуваній сировині

Досліджувана сировина		Місце зростання	Вміст танінів, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n=6
В.лікарський	трава	Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова	$2,01 \pm 0,06$
		Тернопільська область, Кременецький район, с. Млинівці	$1,68 \pm 0,07$
		Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин	$2,14 \pm 0,06$
		Закарпатська обл., Виноградівський р-н, м. Виноградів	$1,57 \pm 0,02$
	корені	Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова	$1,19 \pm 0,09$
		Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин	$1,01 \pm 0,04$
В.високий	трава	Одеська обл., Овідіопольський р-н., смт. Таїрове	$1,43 \pm 0,04$
		Одеська обл., Овідіопольський р-н., с. Бурлача балка	$1,20 \pm 0,11$
	корені	Одеська обл., Овідіопольський р-н., смт. Таїрове	$1,03 \pm 0,04$

Аналіз даних табл. 3.22 вказує, що трава в. лікарського та в. високого вміщує більше танінів, ніж корені ($1,2 - 2,14$ % та $1,01 - 1,19$ % відповідно).

Метрологічна характеристика результатів кількісного визначення вмісту танінів у сировині наведена в табл. 3.23.

Таблиця 3.23

Метрологічна характеристика кількісного вмісту танінів у досліджуваній сировині

n	f	S^2	S_{xc}	P	t (P, f)	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$	E, %
6	5	$0,24224 \times 10^{-3}$	$0,63541 \times 10^{-2}$	0,95	2,57	$1,01 \pm 0,04$	3,96

Вміст окиснюваних фенолів у сировині визначали титриметричним методом за формулою 2.4 (розділ 2.3.3). Результати кількісного визначення окиснюваних фенолів представлено в табл. 3.24.

Таблиця 3.24

Вміст окиснюваних фенолів у досліджуваній сировині

Досліджувана сировина		Місце зростання	Вміст окиснюваних фенолів, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n=6
В. лікарський	трава	Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова	$3,53 \pm 0,12$
		Тернопільська область, Кременецький район, с. Млинівці	$1,85 \pm 0,14$
		Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин	$3,35 \pm 0,08$
		Закарпатська обл., Виноградівський р-н, м. Виноградів	$2,60 \pm 0,10$
	корені	Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова	$3,00 \pm 0,12$
		Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин	$2,54 \pm 0,09$
В. високий	трава	Одеська обл., Овідіопольський р-н., смт. Таїрове	$2,31 \pm 0,10$
		Одеська обл., Овідіопольський р-н., с. Бурлача балка	$2,23 \pm 0,04$
	корені	Одеська обл., Овідіопольський р-н., смт. Таїрове	$1,83 \pm 0,11$

Аналіз даних табл. 3.24 вказує, що вміст окиснюваних фенолів в траві та коренях в. лікарського та траві в. високого залежить від місця зростання

сировини і становить 1,83 – 3,53 %. Метрологічна характеристика результатів кількісного визначення вмісту окиснюваних фенолів наведена в табл. 3.25.

Таблиця 3.25

Метрологічна характеристика кількісного вмісту окиснюваних фенолів у сировині

n	f	S^2	S_{xc}	P	t (P, f)	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$	E, %
6	5	$0,122636 \times 10^{-2}$	$0,1429663 \times 10^{-1}$	0,95	2,57	$2,54 \pm 0,09$	3,54

Визначення вмісту *флавоноїдів* проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на ізокверцитрин у траві за формулою 2.9 та у перерахунку на апігенін – у коренях видів за формулою 2.10 (розділ 2.2.5). Результати кількісного визначення флавоноїдів представлені в табл. 3.26.

Таблиця 3.26

Вміст флавоноїдів у досліджуваній сировині

Досліджувана сировина		Місце зростання	Вміст флавоноїдів, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n=6
В. лікарський	трава	Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова	$0,44 \pm 0,03$
		Тернопільська область, Кременецький район, с. Млинівці	$0,42 \pm 0,03$
		Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин	$0,45 \pm 0,05$
		Закарпатська обл., Виноградівський р-н, м. Виноградів	$0,42 \pm 0,02$
	корені	Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова	$0,21 \pm 0,04$
		Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин	$0,19 \pm 0,02$
В. високий	трава	Одеська обл., Овідіопольський р-н., смт. Таїрове	$0,39 \pm 0,05$
		Одеська обл., Овідіопольський р-н., с. Бурлача балка	$0,31 \pm 0,04$
	корені	Одеська обл., Овідіопольський р-н., смт. Таїрове	$0,19 \pm 0,05$

Аналіз даних табл. 3.26 вказує, що трава в. лікарського та в. високого вміщує більше флавоноїдів, ніж корені (0,31 – 0,45 % та 0,19 – 0,21 % відповідно). Метрологічна характеристика результатів кількісного визначення вмісту флавоноїдів у сировині наведена в табл. 3.27.

Таблиця 3.27

Метрологічна характеристика кількісного вмісту флавоноїдів у сировині

n	f	S^2	S_{xc}	P	t (P, f)	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$	E, %
6	5	$0,60561 \times 10^{-4}$	$0,380552 \times 10^{-2}$	0,95	2,57	$0,19 \pm 0,02$	10,53

Вміст *гідроксикоричних кислот* визначали спектрофотометричним методом за формулою 2.11 (розділ 2.2.5). Результати кількісного визначення гідроксикоричних кислот у сировині представлені в табл. 3.28.

Таблиця 3.28

Вміст гідроксикоричних кислот у досліджуваній сировині

Досліджувана сировина		Місце зростання	Вміст гідрокси-коричних кислот, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n=6
В. лікарський	трава	Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова	$1,80 \pm 0,04$
		Тернопільська область, Кременецький район, с. Млинівці	$1,34 \pm 0,07$
		Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин	$2,19 \pm 0,05$
		Закарпатська обл., Виноградівський р-н, м. Виноградів	$1,44 \pm 0,09$
	корені	Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова	$1,09 \pm 0,05$
		Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин	$1,11 \pm 0,04$
В. високий	трава	Одеська обл., Овідіопольський р-н., смт. Таїрове	$1,40 \pm 0,04$
		Одеська обл., Овідіопольський р-н., с. Бурлача балка	$1,71 \pm 0,05$
	корені	Одеська обл., Овідіопольський р-н., смт. Таїрове	$0,96 \pm 0,09$

Аналіз даних табл. 3.28 вказує, що трава в. лікарського та в. високого містить більше гідроксикоричних кислот, ніж корені, а їх вміст становить 1,34 – 2,19 %, та 0,96 – 1,11 % відповідно. Метрологічна характеристика результатів кількісного вмісту гідроксикоричних кислот наведена в табл. 3.29.

Таблиця 3.29

Метрологічна характеристика кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у сировині

n	f	S^2	S_{xc}	P	t (P, f)	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$	E, %
6	5	$0,242244 \times 10^{-3}$	$0,6354 \times 10^{-2}$	0,95	2,57	$1,11 \pm 0,04$	3,60

Вміст суми *органічних кислот* визначали методом титрування водних витяжок сировини у перерахунку на яблучну кислоту за формулою 2.3, кількісне визначення *аскорбінової кислоти* зокрема, проводили титриметрично за формулою 2.2 (розділ 2.2.3). Результати кількісного визначення органічних кислот представлені в табл. 3.30.

Таблиця 3.30

Вміст органічних кислот у досліджуваних сировині

Досліджувана сировина		Місце зростання	Вміст суми органічних кислот, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n=6	Вміст аскорбінової кислоти, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n=6
1	2	3	4	5
В. лікарський	трава	Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова	$2,23 \pm 0,05$	$0,021 \pm 0,001$
		Тернопільська область, Кременецький район, с. Млинівці	$2,05 \pm 0,09$	$0,018 \pm 0,001$
		Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин	$2,23 \pm 0,11$	$0,019 \pm 0,002$
		Закарпатська обл., Виноградівський р-н, м. Виноградів	$2,26 \pm 0,07$	$0,018 \pm 0,002$
	корені	Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова	$1,39 \pm 0,08$	$0,008 \pm 0,001$

Продовж. табл. 3.30

1	2	3	4	5
В. лікарський	корені	Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин	1,49±0,07	0,006±0,001
В. високий	трава	Одеська обл., Овідіопольський р-н., сmt. Таїрове	1,86±0,05	0,012±0,001
		Одеська обл., Овідіопольський р-н., с. Бурлача балка	2,39±0,04	0,012±0,002
	корені	Одеська обл., Овідіопольський р-н., сmt. Таїрове	1,41±0,11	0,004±0,002

Аналіз даних табл. 3.30 вказує, що органічні кислоти переважно накопичуються в надземній частині рослин роду Воловик. У траві в. лікарського та в. високого вміст суми органічних кислот становить 1,86 – 2,39 %, в тому числі аскорбінової кислоти 0,012 – 0,021 %, у коренях – 1,39 – 1,49 % та 0,006 – 0,008 % відповідно. Метрологічна характеристика результатів кількісного вмісту органічних кислот у досліджуваній сировині наведена в табл. 3.31 та 3.32.

Таблиця 3.31

Метрологічна характеристика кількісного вмісту суми органічних кислот у досліджуваній сировині

n	f	S^2	S_{xc}	P	t (P, f)	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$	E, %
6	5	$0,741873 \times 10^{-3}$	$0,11119603 \times 10^{-1}$	0,95	2,57	1,49±0,07	4,70

Таблиця 3.32

Метрологічна характеристика методу кількісного вмісту аскорбінової кислоти у досліджуваній сировині

n	f	S^2	S_{xc}	P	t (P, f)	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$	E, %
6	5	$0,151 \times 10^{-6}$	$0,158851 \times 10^{-3}$	0,95	2,57	0,006±0,001	16,67

3.9.2. Динаміка накопичення груп БАР у траві воловика лікарського за фазами вегетації

Значна роль у процесі накопичення діючих речовин в рослинній сировині належить фазі її вегетації. Об'єктом дослідження була трава в. лікарського, зібрана у різні фази вегетації у с. Вістова Калуського району Івано-Франківської області у 2017 р. Визначення вмісту груп БАР проводили згідно методик розділів 2.2.3 – 2.2.5. Результати визначення наведено у табл. 3.33.

Таблиця 3.33

Динаміка накопичення БАР у воловику лікарському в онтогенезі

Група БАР	Вміст групи БАР, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n=6				
	Фаза заготівлі				
	Бутонізація	Цвітіння			Плодоношення
		Початок	Масове	Кінець	
Окиснювані феноли	3,25±0,14	3,24±0,12	3,72±0,08	2,32±0,03	2,14±0,10
Сума поліфенолів	6,81±0,18	4,04±0,20	3,44±0,06	3,24±0,11	2,79±0,02
Таніни	4,11±0,10	2,73±0,07	1,92±0,06	1,83±0,02	1,55±0,07
Гідроксикоричні кислоти	1,63±0,04	1,72±0,03	1,82±0,04	1,51±0,08	1,20±0,04
Флавоноїди	0,21±0,02	0,29±0,02	0,39±0,03	0,35±0,02	0,11±0,03
Сума органічних кислот	1,96±0,09	1,97±0,05	2,25±0,05	1,50±0,04	1,52±0,02
Полісахариди	5,02±0,25	7,31±0,17	8,67±0,21	10,28±0,08	11,07±0,13

Як свідчать дані табл. 3.33, поліфенольні сполуки та таніни максимально накопичуються у траві в. лікарського у фазу бутонізації, окиснювані феноли, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди та органічні кислоти – у фазу масового цвітіння, полісахариди – у фазу плодоношення, що є важливим критерієм для стандартизації сировини.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в публікаціях [22, 27, 240].

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3

1. У результаті проведеного фітохімічного аналізу в сировині в. лікарського та в. високого ідентифіковано фенольні сполуки, вуглеводи, тритерпеноїди, стероїди та карбонові кислоти.

2. Вперше методом ПХ досліджено низькомолекулярні карбонові кислоти та амінокислоти трави та коренів в. лікарського та в. високого. В результаті дослідження низькомолекулярних карбонових кислот визначено: у траві в. лікарського 5 сполук, у коренях – 4, у сировині в. високого: у траві 4 сполуки, у коренях – 3 сполуки. У сировині в. лікарського виявлено та ідентифіковано амінокислот: у траві 8 амінокислот, з яких 6 є незамінними, у коренях 5 амінокислот, 4 з яких незамінні, у сировині в. високого: у траві та коренях по 5 однакових амінокислот, 4 з яких є незамінними.

3. Вперше методом ПХ виявлено фенольні сполуки трави та коренів в. лікарського та в. високого. У результаті дослідження у в. лікарському виявлені: 6 речовин у траві, 6 – у коренях; у сировині в. високого виявлені: 5 – у траві та 4 – у коренях; за значенням R_f та забарвленням плям в УФ-світлі до та після обробки парами амоніаку та хромогенними реактивами ці речовини ідентифіковані як флавоноїди та гідроксикоричні кислоти.

4. Вперше методом адсорбційної хроматографії на силікагелі та поліамідному сорбенті у траві в. лікарського виявлено та виділено 20 сполук, які ідентифіковані на основі їх фізико-хімічних властивостей: 3 фенолкарбонові кислоти, 3 гідроксикоричні кислоти, 6 флавоноїдів, 4 тритерпеноїди, 1 стероїдна сполука, 2 хлорофіли і 1 азотовмісна сполука.

5. Вперше методом ВЕРХ у траві та коренях в. лікарського ідентифіковано та визначено вміст 14 сполук, з них 3 гідроксикоричні кислоти, 4 флавоноїди та 7 танінів. Встановлено, що домінуючою сполукою серед ідентифікованих гідроксикоричних кислот у сировині є розмаринова кислота – 4558,86 мг/кг (0,46 %) та 1964,66 мг/кг (0,2 %) сухої сировини відповідно, серед ідентифікованих флавоноїдів переважаючою сполукою у траві в. лікарського є

ізокверцитрин – 256,0 мг/кг (0,03 %), у коренях – апігенін – 389,54 мг/кг (0,04 %) сухої сировини, танінів – епігалокатехін – 21864,28 мг/кг (2,2 %) та 29850,06 мг/кг (3,0 %) сухої сировини відповідно.

6. Вперше методом ГХ/МС у траві в. лікарського ідентифіковано 7 ЖК: 2 поліненасичені – ліолева, γ -ліноленова та 5 насичених – пальмітинова, стеаринова, арахінова, бегенова, лігноцеринова; 4 фітостероли: ситостерол, кампестерол, стигмаста-5,24(28)-дієн-3-ол, стигмастерол та 12 сполук леткої фракції: спирти – 2-гептанол, 3-гептанол та ароматичний монотерпеноїд тимол, альдегіди – 2,4,5-триметилбензальдегід, гексадеканаль, α -гексацинамоновий альдегід, кетони – 2-гептанон, нортерпеноїд β -іонон, похідні сесквітерпеноїдів: гексагідрофарнезилацетон та фарнезилацетон, аліфатичний вуглеводень – октакозан та трициклічний сесквітерпеноїд лонгіфолен. Переважаючою речовиною серед ЖК у траві в. лікарського є ліноленова кислота – 2696,36 мг/кг (0,27 %), фітостеролів – ситостерол – 133,08 мг/кг, сполук леткої фракції – монотерпеновий фенол – тимол – 29,81 мг/кг та похідне сесквітерпену – гексагідрофарнезилацетон – 27,67 мг/кг сухої сировини.

7. Вперше методом атомно-абсорбційної спектроскопії вивчено елементний склад трави та коренів в. лікарського та в. високого і встановлено вміст 19 макро- та мікроелементів. У досліджуваній сировині виявлено значний вміст кальцію – 8111,18 – 8134,10 мг/кг та магнію – 1549,13 – 1586,04 мг/кг сухої сировини. Вміст важких металів знаходиться в дозволених межах (ДФУ 2.0).

8. Вперше визначено кількісний вміст груп БАР у траві та коренях в. лікарського та в. високого. Встановлено, що сировина досліджуваних видів містить від 1,85 % до 3,53 % окиснюваних фенолів, 1,39 – 2,39 % органічних кислот, 2,23 – 3,81 % суми поліфенолів, 1,01 – 2,14 % танінів, 0,21 – 0,45 % флавоноїдів, 1,09 – 2,19 % гідроксикоричних кислот, 0,71 – 8,40 % полісахаридів, 0,77 – 4,12 % слизу. Встановлено, що кількісний вміст груп БАР більше відрізняється за видами сировини і менше – за місцем зростання видів.

9. Вперше у траві в. лікарського встановлено динаміку накопичення основних груп БАР залежно від фази вегетації, що створює передумови для оптимізації заготівлі сировини.

10. Вперше з в. лікарського виділено фракції ВПРС, ПР, ГЦ А і Б. Вміст ВПРС у траві та коренях рослини становить 8,24 % та 0,72 %, ПР – 4,27 % та 0,14 %, ГЦ А – 32,29 % та 12,26 %, ГЦ Б – 6,09 % та 4,42 % від маси сухої сировини відповідно, що свідчить про значну відмінність вмісту фракцій вуглеводів у надземних та підземних органах в. лікарського. Методами ПХ та ТШХ встановлено моносахаридний склад фракцій полісахаридів, який представлений глюкозою, арабінозою, ксилозою, рамнозою, фруктозою та галактурановою кислотою.

РОЗДІЛ 4

ОДЕРЖАННЯ, СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЕКСТРАКТУ ВОЛОВИКА ЛІКАРСЬКОГО ТА РОЗРОБКА ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ НА ЙОГО ОСНОВІ

Незважаючи на значні успіхи в галузі вивчення лікарських рослин, досі не вичерпані всі можливості, пов'язані з їх застосуванням у медицині. В даний час, виділення та дослідження індивідуальних БАР з рослин є основними напрямками наукової роботи при створенні лікарських засобів. Часто, при використанні лікарських рослин активною виявляється не одна будь-яка речовина, а комплекс речовин. Водночас, сприяти терапевтичному ефекту можуть такі речовини, які самостійно вираженої фармакологічної активності не мають.

4.1. Розробка параметрів екстракції біологічно активних речовин з трави воловика лікарського

Для забезпечення повноти екстракції діючих речовин з рослинної сировини важливим є дотримання критеріїв вилучення БАР. До таких показників належать: ступінь подрібнення сировини, вид екстрагенту, співвідношення між рослинним матеріалом та екстрагентом, час та кратність екстракції [97, 106, 111, 123, 133].

На основі вищезазначеного, проведено дослідження залежності виходу БАР з трави в. лікарського від ступеня подрібнення сировини. Даний показник встановлювали з метою розробки технології отримання субстанції – трави в. лікарського екстракту сухого. Параметри екстракції: екстрагент – вода очищена, співвідношення сировина : екстрагент – 1:50, тривалість разової екстракції – 30 хв. Критеріями оцінки ефективності досліджуваних параметрів були вихід суми екстрактивних речовин та окиснюваних фенолів. Результати дослідження наведені в табл. 4.1.

Таблиця 4.1

Залежність повноти екстракції біологічно активних речовин від ступеня подрібнення трави воловика лікарського

Ступінь подрібнення сировини, мм	Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, $\bar{X} \pm \Delta \bar{X}$, n = 6	
	Екстрактивні речовини	Окиснювані феноли
до 0,25 мм	18,21 $\pm$ 0,41	1,28 $\pm$ 0,17
0,25 – 0,5 мм	20,12 $\pm$ 0,28	1,69 $\pm$ 0,09
0,5 – 1,0 мм	23,87 $\pm$ 0,25	2,02 $\pm$ 0,17
1,0 – 2,0 мм	25,51 $\pm$ 0,09	2,67 $\pm$ 0,04
2,0 – 3,0 мм	24,48 $\pm$ 0,18	2,34 $\pm$ 0,09
3,0 – 4,0 мм	23,68 $\pm$ 0,32	1,42 $\pm$ 0,07
4,0 – 5,5 мм	23,10 $\pm$ 0,20	1,28 $\pm$ 0,20
5,5 – 7,0 мм	20,02 $\pm$ 0,34	1,14 $\pm$ 0,11
7,0 мм і більше	19,64 $\pm$ 0,19	1,01 $\pm$ 0,06

На основі даних табл. 4.1, встановлено, що оптимальним ступенем подрібнення трави в. лікарського є частки, що проходять через сита з діаметром отворів від 0,5 до 3,0 мм.

Наступним етапом роботи був вибір типу екстрагенту. Оскільки він безпосередньо впливає не тільки на екстрагування певної групи речовин, але й на загальну кількість екстрактивних речовин, його слід обирати відповідно до природи діючих речовин. Оптимальний екстрагент повинен максимально екстрагувати БАР чи їх комплекси з рослинної сировини і в той же час практично не впливати на вихід баластних речовин, а також добре проникати всередину клітин сировини, бути фармакологічно індиферентним та безпечним. Оскільки в переважній більшості рослинної сировини основою є гідрофільні речовини, то вода очищена, етанол різної концентрації та інші полярні розчинники будуть екстрагувати більше екстрактивних речовин [6, 106, 111].

Також враховано хімічний склад сировини, який представлений, в основному, фенольними сполуками та полісахаридами. Параметри екстракції: ступінь подрібнення сировини – 0,5 – 3 мм, співвідношення сировина : екстрагент – 1:50, тривалість разової екстракції – 30 хв. Результати дослідження впливу виду екстрагенту на повноту екстракції БАР наведені в табл. 4.2.

Таблиця 4.2

Залежність повноти екстракції БАР від виду екстрагенту

Екстрагент	Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, n = 6	
	Екстрактивні речовини	Окиснювані феноли
Вода очищена	24,62 $\pm$ 0,17	2,34 $\pm$ 0,10
Етанол 30 %	24,98 $\pm$ 0,29	2,80 $\pm$ 0,09
Етанол 40 %	25,02 $\pm$ 0,16	3,24 $\pm$ 0,12
Етанол 50 %	25,08 $\pm$ 0,20	3,71 $\pm$ 0,06
Етанол 70 %	20,82 $\pm$ 0,13	3,24 $\pm$ 0,08
Етанол 90 %	13,11 $\pm$ 0,24	2,51 $\pm$ 0,11
Етанол 96 %	6,93 $\pm$ 0,34	1,88 $\pm$ 0,14

На основі даних табл. 4.2 та з урахуванням можливого терапевтичного ефекту отриманих екстрактів, як екстрагенти використано воду очищену, етанол 50 % та етанол 70 %.

Далі необхідно було встановити оптимальний час взаємодії сировини та екстрагенту. Параметри екстракції: ступінь подрібнення сировини – 0,5 – 3 мм, співвідношення сировина : екстрагент – 1:50. Результати наведені в табл. 4.3.

Таблиця 4.3

Залежність повноти екстракції БАР від часу взаємодії

Тривалість разової екстракції, хв		Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, n = 6	
		Екстрактивні речовини	Окиснювані феноли
Вода очищена	15	22,31 $\pm$ 0,23	2,20 $\pm$ 0,15
	30	24,62 $\pm$ 0,19	2,34 $\pm$ 0,07
	60	25,94 $\pm$ 0,25	2,66 $\pm$ 0,20
	90	25,92 $\pm$ 0,17	2,66 $\pm$ 0,19
Етанол 50 %	15	23,95 $\pm$ 0,22	3,39 $\pm$ 0,09
	30	25,08 $\pm$ 0,09	3,71 $\pm$ 0,06
	60	26,03 $\pm$ 0,17	4,03 $\pm$ 0,11
	90	25,99 $\pm$ 0,18	4,03 $\pm$ 0,16
Етанол 70 %	15	19,78 $\pm$ 0,31	2,78 $\pm$ 0,14
	30	20,82 $\pm$ 0,15	3,24 $\pm$ 0,07
	60	21,50 $\pm$ 0,14	3,24 $\pm$ 0,11
	90	21,47 $\pm$ 0,21	3,24 $\pm$ 0,16

На основі даних табл. 4.3 та з урахуванням можливого впливу ферментів, оптимальною тривалістю разової екстракції визначено екстрагування сировини впродовж 30 хв.

Наступний етап – встановлення співвідношення між сировиною та екстрагентом. Параметри екстракції: ступінь подрібнення сировини – 0,5 – 3 мм, тривалість разової екстракції – 30 хв. Результати дослідження наведені в табл. 4.4.

Таблиця 4.4

Залежність повноти екстракції БАР від співвідношення між сировиною та екстрагентом

Співвідношення сировина : екстрагент		Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, n = 6	
		Екстрактивні речовини	Окиснювані феноли
Вода очищена	1:5	17,42 ± 0,42	1,35 ± 0,22
	1:10	18,28 ± 0,26	1,67 ± 0,13
	1:15	20,07 ± 0,21	1,99 ± 0,09
	1:25	21,28 ± 0,24	2,13 ± 0,11
	1:50	24,62 ± 0,19	2,34 ± 0,07
Етанол 50 %	1:5	18,41 ± 0,34	2,14 ± 0,16
	1:10	19,35 ± 0,24	2,60 ± 0,09
	1:15	20,05 ± 0,19	2,92 ± 0,17
	1:25	22,63 ± 0,15	3,06 ± 0,06
	1:50	25,08 ± 0,09	3,71 ± 0,06
Етанол 70 %	1:5	15,90 ± 0,30	2,01 ± 0,19
	1:10	16,93 ± 0,21	2,14 ± 0,14
	1:15	18,14 ± 0,11	2,14 ± 0,09
	1:25	19,07 ± 0,24	2,60 ± 0,04
	1:50	20,82 ± 0,15	3,24 ± 0,07

На основі даних табл. 4.4 та з урахуванням економічної доцільності процесу, оптимальним співвідношенням між сировиною та екстрагентом визначено 1:10.

Завершальним етапом розробки способу екстракції БАР з трави в. лікарського було встановлення оптимальної кратності екстрагування. Параметри екстракції: ступінь подрібнення сировини – 0,5 – 3 мм,

співвідношення сировина : екстрагент – 1:10, тривалість разової екстракції – 30 хв. Результати дослідження наведені в табл. 4.5.

Таблиця 4.5

Залежність повноти екстракції БАР від кратності екстрагування сировини

Кратність екстракції		Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, $\bar{X} \pm \Delta \bar{X}$, n = 6	
		Екстрактивні речовини	Окиснювані феноли
Вода очищена	I	18,28 ± 0,23	1,67 ± 0,12
	II	5,93 ± 0,19	0,75 ± 0,07
	III	3,18 ± 0,21	0,28 ± 0,06
	IV	1,63 ± 0,14	0,19 ± 0,10
Етанол 50 %	I	19,35 ± 0,28	2,60 ± 0,13
	II	6,46 ± 0,24	1,12 ± 0,15
	III	3,09 ± 0,27	0,56 ± 0,05
	IV	0,83 ± 0,08	0,37 ± 0,07
Етанол 70 %	I	16,93 ± 0,19	2,14 ± 0,13
	II	6,35 ± 0,24	0,84 ± 0,06
	III	2,51 ± 0,34	0,37 ± 0,11
	IV	0,67 ± 0,12	0,19 ± 0,09

На основі даних табл. 4.5 та з урахуванням ступеню виснаження сировини та економічної доцільності виробництва екстрактів, оптимальним визначено трикратне екстрагування трави в. лікарського.

Результати проведених досліджень щодо визначення оптимальних критеріїв одержання екстрактів з трави в. лікарського, з подальшим їх висушуванням, наведено в табл. 4.6.

Таблиця 4.6

Оптимальні умови екстракції БАР з трави воловика лікарського

Критерій дослідження	Оптимальні параметри
Ступінь подрібнення, мм	0,5 – 3,0
Екстрагенти	Вода очищена Етанол 50 % Етанол 70 %
Співвідношення сировина:екстрагент	1:10
Тривалість разової екстракції, хв	30
Кратність екстракцій	3

Отже, на основі проведеного дослідження, встановлено, що оптимальним ступенем подрібнення для трави в. лікарського є частки розміром 0,5 – 3 мм; екстрагентами, що забезпечують максимальний вихід БАР є вода очищена та етанол 50 % і 70 %; оптимальним співвідношенням між сировиною та екстрагентами – 1:10; оптимальна тривалість разової екстракції – 30 хв; повноти екстракції БАР з трави в. лікарського можна досягти шляхом трикратного екстрагування.

4.2. Одержання та дослідження екстрактів воловика лікарського

На основі експериментально встановлених оптимальних умов екстракції БАР з трави в. лікарського розроблено технологію отримання екстрактів. Траву в. лікарського попередньо висушують, подрібнюють до розміру частинок з діаметром 0,5 – 3,0 мм та екстрагують водою очищеною (етанолом 50 % або 70 %) впродовж 30 хв у співвідношенні сировина : екстрагент 1:10. Екстракцію повторюють ще двічі згідно аналогічних умов. Об'єднані екстракти фільтрують, етанол відганяють під вакуумом у роторному випарювачі, доводять водою очищеною до початкового об'єму, розливають у флакони на 500 мл та піддають ліофільному висушуванню. Блок-схема та опис технологічного процесу одержання трави в. лікарського екстракту сухого наведені в додатку С.

Характеристики екстрактів в. лікарського наведені в табл. 4.7.

Отримані результати вказують, що сухі екстракти в. лікарського – це пухкі, дуже гігроскопічні порошки від світло-коричневого до зеленувато-коричневого кольору, з характерним запахом. Вихід екстрактів складає від 20,11 % до 22,61 % залежно від виду екстрагенту.

Дослідження екстрактів (АО-0, АО-5 та АО-7) проводили шляхом встановлення їх якісного складу та кількісного вмісту БАР. Вивчення хімічного складу одержаних сухих екстрактів, з урахуванням результатів ідентифікації груп БАР у траві в. лікарського, проводили за допомогою аналітичних реакцій, ТШХ та ПХ [21].

Таблиця 4.7

Характеристики сухих екстрактів воловика лікарського

Екстрагент	Умовне позначення	Вихід, %	Органолептичні характеристики			Втрата в масі при висушуванні, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n = 6
			Консистенція	Колір	Запах	
Вода очищена	АО-0	21,08	дуже гігроскопічний пухкий порошок	світло-коричневий	слабкий, характерний	$4,07 \pm 0,16$
Етанол 50%	АО-5	22,61	дуже гігроскопічний пухкий порошок	світло-коричневий	слабкий, характерний	$4,62 \pm 0,13$
Етанол 70%	АО-7	20,11	дуже гігроскопічний пухкий порошок	зеленувато-коричневий	слабкий, характерний	$4,88 \pm 0,11$

Виявлення фенольних сполук. Внаслідок взаємодії розчинів усіх зразків екстрактів із заліза (III) хлоридом з'явилося темно-зелене забарвлення, що свідчить про наявність у них сполук фенольної природи.

Виявлення танінів. Внаслідок взаємодії розчинів усіх зразків екстрактів з розчином желатину з'явилася каламуть, яка розчинялася при додаванні надлишку желатину, що свідчить про наявність у них танінів. В результаті взаємодії з феруму (III) амонію сульфатом розчини набули чорно-зеленого забарвлення, що свідчить про наявність у них танінів переважно конденсованої групи.

Виявлення флавоноїдів. Внаслідок взаємодії розчинів усіх зразків екстрактів із спиртовим розчином алюмінію хлориду з'явилося жовте забарвлення, в результаті ціанідинової проби – рожеве забарвлення, що свідчить про наявність у них флавоноїдів.

Виявлення вільних цукрів. В результаті взаємодії розчинів досліджуваних екстрактів з мідно-тартратним реактивом в зразку АО-0 відбулося утворення

цегельно-червоного осаду (купруму (I) оксиду), що свідчить про наявність вільних цукрів у цьому зразку.

Виявлення полісахаридів. В результаті взаємодії розчинів досліджуваних екстрактів з 96% етанолом у зразку АО-0 з'явився білий аморфний осад, що свідчить про наявність полісахаридів у вказаному зразку.

Наступним етапом дослідження сухих екстрактів екстрактів в. лікарського було хроматографування в тонкому шарі сорбенту. Як рухомі фази використано системи № 1, 2 та перегляд в УФ-світлі до та після обробки парами амоніаку.

В результаті проведених досліджень підтверджено наявність в досліджуваних екстрактах сполук фенольної природи, зокрема гідроксикоричних кислот (розмаринової та кавової) і флавоноїдів (ізокверцитрину та апігеніну).

Кількісний вміст суми поліфенольних сполук, гідроксикоричних кислот та флавоноїдів було визначено спектрофотометрично, окиснюваних фенолів – титриметрично згідно розділів 2.2.5 та 2.2.3 відповідно. Отримані результати наведено у табл. 4.8.

Таблиця 4.8

Вміст БАР в екстрактах воловика лікарського

Вид екстракту	Вміст БАР, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n = 6			
	Окиснювані феноли	Сума поліфенолів	Гідроксикоричні кислоти	Флавоноїди
АО-0	6,95±0,13	8,65±0,23	5,38±0,07	1,17±0,02
АО-5	6,13±0,16	7,29±0,09	6,96±0,02	1,21±0,02
АО-7	6,98±0,07	8,32±0,17	7,97±0,06	1,37±0,09

Аналіз даних табл. 4.8 вказує, що в екстрактах в. лікарського у значимих концентраціях наявні поліфенольні сполуки та гідроксикоричні кислоти. Оскільки притаманними ефектами для цих груп БАР є антимікробний, протизапальний та противиразковий, то доцільним є подальше дослідження екстрактів з метою вивчення вказаних ефектів.

4.3 Дослідження гострої токсичності та фармакологічної активності екстрактів

Доклінічні випробування лікарських засобів є обов'язковим етапом у процесі створення лікарських засобів. Належне виконання комплексу досліджень щодо вивчення нешкідливості та специфічної активності потенційних лікарських засобів гарантує їх безпеку та ефективність при застосування у медичній практиці [176].

4.3.1. Гостра токсичність

Необхідною складовою комплексу доклінічних досліджень нових ЛЗ є проведення токсикологічних досліджень. Першим етапом такого вивчення є визначення гострої токсичності досліджуваної субстанції, тобто одержання інформації щодо її впливу на організм в умовах короткотривалого прийому високих доз [176].

Результати дослідження гострої токсичності екстрактів в. лікарського наведено в табл. 4.9.

Таблиця 4.9

Дослідження гострої токсичності екстрактів воловика лікарського

Вид екстракту	LD50, мг/кг	Відношення кількості загиблих тварин до загальної кількості тварин у групі
АО-0	> 5000	0/6
АО-5	> 5000	0/6
АО-7	> 5000	0/6

Дані табл. 4.9 вказують, що внаслідок одноразового внутрішньо-шлункового введення тваринам водного та водно-етанольних екстрактів в. лікарського у дозі 5000 мг/кг маси тіла тварини летальних випадків не зафіксовано.

У процесі дослідження також встановлено, що загальний стан тварин та їх життєвоважливі показники були задовільними, змін кольору сечі та калу не відбулося, кратність уринацій та дефекацій не змінилася. Тварини були

охайними, поведінка залишалася характерною для даного виду особин. Усі тварини продовжували набирати масу, що відображено в табл. 4.10.

Таблиця 4.10

Динаміка маси тіла експериментальних та інтактних тварин

№ з/п	Група тварин	Маса тіла тварини, г; $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n = 6			
		1-й день	3-й день	7-й день	14-й день
1.	АО-0	19,42±0,62	20,03±0,5	20,7±0,31	21,92±0,29
2.	АО-5	18,92±0,51	19,44±0,25	20,11±0,54	21,2±0,61
3.	АО-7	19,51±0,36	20,12±0,19	20,95±0,34	22,07±0,24
4.	Інтактний контроль	19,27±0,34	19,75±0,28	20,42±0,13	21,78±0,25

При оглядовому макроскопічному дослідженні внутрішніх органів тварин, яким вводили досліджувані екстракти, жодних проявів патологічних процесів не виявлено. За розмірами, кольором та консистенцією внутрішні органи піддослідних тварин не відрізнялися від органів особин контрольної групи. Масові показники внутрішніх органів представлені в табл. 4.11.

Таблиця 4.11

Маса внутрішніх органів дослідних тварин

№ з/п	Група тварин	Маса органів тварини, г; $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n = 6		
		Серце	Легені	Печінка
1.	АО-0	0,2±0,03	0,23±0,02	1,39±0,11
2.	АО-5	0,19±0,01	0,26±0,03	1,41±0,06
3.	АО-7	0,18±0,02	0,22±0,03	1,36±0,1
4.	Інтактний контроль	0,19±0,02	0,25±0,01	1,37±0,08

Результати аналізу біохімічного дослідження крові дослідних тварин на вміст ферментів АсАТ і АлАТ вказують, що вказані показники та їхні співвідношення у межах дослідних груп значимо не відрізняються, що свідчить про відсутність негативного впливу досліджуваних екстрактів на організм експериментальних тварин (табл. 4.12).

Таблиця 4.12

Вміст АсАТ і АлАТ у крові дослідних тварин

№ з/п	Група тварин	Показник, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n = 6		
		АлАТ, мккат/л	АсАТ, мккат/л	АсАТ/АлАТ
1.	АО-0	0,070±0,002*	0,092±0,002*	1,31
2.	АО-5	0,080±0,003*	0,087±0,005*	1,09
3.	АО-7	0,076±0,007*	0,093±0,004*	1,22
4.	Інтактний контроль	0,078±0,003	0,089±0,004	1,14

Примітка. * - достовірність відхилення по відношенню до даних групи інтактних тварин ($p \leq 0,05$).

Таким чином, внутрішньошлункове введення водного та водно-етанольних екстрактів в. лікарського у дозі 5000 мг/кг не приводить до загибелі тварин, а також до морфологічних та функціональних змін в їх організмі, що дає підставу віднести їх до сполук IV класу токсичності – малотоксичні [27].

4.3.2. Протизапальна дія

Дослідження протизапальної дії екстрактів в. лікарського проводили згідно методики розділу 2.7.2 за формулою 2.15. Результати дослідження подано в табл. 4.13 та 4.14.

Таблиця 4.13

Вплив досліджуваних екстрактів на розвиток набряку кінцівки щура

№ групи	Досліджувана субстанція	Доза мг/кг	Приріст об'єму лапи щура, %		
			1 год	2 год	4 год
I	АО-0	100	40,99±2,10*	65,32±3,02*	112,6±1,83*
II	АО-5	100	42,89±1,75*	73,35±1,89*	132,2±2,01*
III	АО-7	100	40,65±2,22*	65,01±1,82*	111,5±2,40*
IV	Кверцетин	50	41,95±1,84*	70,54±2,13*	123,1±1,95*
V	Диклофенак натрію	8	35,36±1,43*	43,34±2,05*	75,7±1,48*
VI	Контрольна патологія	-	43,11±1,23	74,14±1,5	134,8±1,15

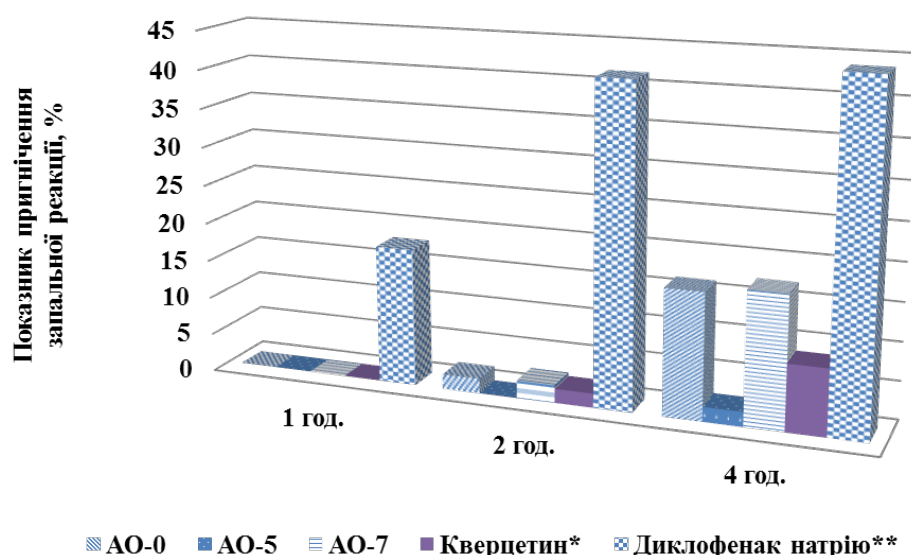
Примітка. * - достовірно по відношенню до групи контрольної патології ($p \leq 0,05$).

Таблиця 4.14

**Вплив досліджуваних екстрактів на пригнічення запальної реакції
кінцівки щура**

№ групи	Досліджувана субстанція	Доза, мг/кг	Показник пригнічення запальної реакції %		
			1 год	2 год	4 год
I	АО-0	100	4,9	11,9	16,47
II	АО-5	100	0,5	1,07	1,93
III	АО-7	100	5,7	12,31	17,28
IV	Кверцетин	50	2,7	4,85	8,68
V	Диклофенак натрію	8	17,98	41,54	43,84

Графічне зображення антиексудативних ефектів екстрактів в. лікарського у дозі 100 мг/кг та препаратів порівняння подане на рис. 4.1.



Примітки: * доза препарату 50 мг/кг; ** доза препарату 8 мг/кг.

Рис. 4.1. Вплив водного та водно-спиртових екстрактів в. лікарського та препаратів порівняння на пригнічення набряку кінцівки щура

Результати табл. 4.13, 4.14 та рис. 4.1 вказують, що антиексудативний ефект екстрактів АО-0 та АО-7 та кверцетину проявлявся поступово і досягав свого максимуму через 4 год від початку експерименту, що свідчить про помірний вплив даних субстанцій на пригнічення дії всіх медіаторів запалення, але найбільше на дію простагландинів. Ефект натрію диклофенаку

проявляється відразу, значимо зростає вже через 2 год і досягає максимуму через 4 год від початку експерименту, що вказує на значне пригнічення всіх груп медіаторів запального процесу. В контрольній групі тварин набряк збільшувався впродовж чотирьох годин.

Спосіб одержання екстракту трави в. лікарського з протизапальною активністю захищено патентом України на корисну модель № 125931 [101].

4.3.3. Антимікробна активність

Результати проведених досліджень щодо антимікробної та антифунгальної активності водного та водно-етанольних екстрактів в. лікарського представлені в табл. 4.15 та у Додатку Ф.

Отримані дані вказують, що екстракти в. лікарського у концентрації 100 мг/мл проявляють незначний вплив на ріст переважної більшості патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів. Водночас, щодо бактерій групи стрептококів, а саме: α -гемолітичного (*Streptococcus gordonii*), β -гемолітичного групи А (*Streptococcus pyogenes*) та β -гемолітичного групи G (*Streptococcus group G*), АО-5, АО-7 та АО-9 показали бактерицидну дію.

Таким чином, отримані результати дослідження протимікробної дії екстрактів в. лікарського вказують, що АО-5 здійснює помірний ефект щодо α -гемолітичного (*Streptococcus gordonii*), β -гемолітичного групи А (*Streptococcus pyogenes*) та β -гемолітичного групи G (*Streptococcus group G*) стрептококів, вплив АО-0 є незначимим, АО-9 має слабку дію (у порівнянні з контролем) щодо α -гемолітичного стрептококу (*Streptococcus gordonii*). Найкращу дію щодо β -гемолітичного стрептококу групи G (*Streptococcus group G*) проявив АО-7.

Надалі вивчали протимікробну активність екстрактів в. лікарського відносно β -гемолітичних стрептококів, а саме: 2 штамів *Streptococcus pyogenes* (групи А) та 1 штаму *Streptococcus group G*. Результати дослідження наведено на рис 4.2.

Таблиця 4.15

Результати дослідження протимікробної та антифунгальної активності екстрактів воловика лікарського

Вид мікроорганізму	Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів, мм						
	50% етанол	70% етанол	90% етанол	АО-0	АО-5	АО-7	АО-9
1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Staphylococcus aureus</i> MS	4,02±0,12	4,26±0,25	4,11±0,25	4,28±0,23	4,55±0,16	4,45±0,09	4,76±0,34
<i>Staphylococcus epidermidis</i> MS	4,38±0,35	4,61±0,31	4,13±0,10	4,93±0,17	4,71±0,32	4,89±0,23	4,46±0,31
<i>Staphylococcus aureus</i> MR	4,54±0,34	4,02±0,25	4,43±0,44	4,27±0,46	4,96±0,40	5,32±0,36	4,84±0,46
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> MR	0	4,00±0,13	4,89±0,25	0	5,03±0,24	0	0
α-гемолітичний <i>Streptococcus sanguis</i>	0	0	0	0	0	0	0
α-гемолітичний <i>Streptococcus mitis</i>	0	0	0	0	0	0	0
α-гемолітичний <i>Streptococcus gordonii</i>	4,83±0,32	9,81±1,09	14,97±0,49	4,93±0,37	12,05±0,50*	14,56±1,96*	16,28±0,76
β-гемолітичний групи A <i>Streptococcus pyogenes</i>	4,85±0,36	[11,12±0,41]	[12,37±0,53]	0	11,98±0,54*	13,22±0,39*	10,42±0,71
β-гемолітичний групи G <i>Streptococcus group G</i>	4,52±0,18	4,92±0,36	[13,04±1,21]	0	11,34±0,43*	16,37±0,42*	12,82±0,39
β-гемолітичний групи B <i>Streptococcus agalacticae</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>Enterococcus faecalis</i>	5,16±0,42	5,05±0,09	4,99±0,27	3,94±0,46	4,74±0,39	4,76±0,13	5,25±0,39
<i>Klebsiella ozaenae</i>	3,68±0,13	4,30±0,33	3,72±0,10	0	0	0	0
<i>Citrobacter freundii</i>	4,51±0,26	4,33±0,25	4,85±0,52	4,26±0,28	0	0	6,42±0,37
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	9,24±0,61	11,90±0,49	0	0	0	8,39±0,34

Продовж. табл. 4.15

1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,15±0,17	4,31±0,22	4,44±0,28	0	0	4,53±0,31	5,61±0,31
<i>Candida albicans</i>	5,09±0,34	5,23±0,17	6,17±0,17	0	0	5,65±0,30	7,00±0,56
<i>Candida tropicalis</i>	5,13±0,52	6,46±0,26	10,64±0,54	0	0	5,59±0,57	6,39±0,62
<i>Candida lipolytica</i>	6,12±0,31	6,57±0,71	6,09±0,18	4,83±0,37	5,17±0,18	5,75±0,32	6,89±0,44
<i>Candida lipolytica</i> Фунгіцидна	4,80±0,47	6,37±0,71	5,79±0,29	0	0	0	5,66±0,42
<i>Candida lusitaniae</i>	4,67±0,35	5,29±0,26	6,85±1,02	4,44±0,25	0	5,56±0,43	6,06±0,26
<i>Candida lusitaniae</i> Фунгіцидна	4,15±0,66	4,81±0,19	5,03±1,26	0	0	5,19±0,24	5,17±0,47
<i>Candida kefyr</i>	4,85±0,29	6,37±0,27	6,61±0,22	0	4,62±0,18	6,18±0,26	5,59±0,23
<i>Candida kefyr</i> Фунгіцидна	0	5,65±0,22	6,63±1,01	0	4,08±0,09	5,62±0,52	5,06±0,35
<i>Aspergillus niger</i>							
Проростання спор	0	0	8,52±0,73	0	0	0	0
Міцеліальний ріст	0	0	4,97±0,25	0	0	0	0
Утворення спор	0	0	0	0	0	0	0
Фунгіцидна	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus flavus</i>							
Проростання спор	0	0	0	0	0	0	0
Міцеліальний ріст	0	0	0	0	0	0	0
Утворення спор	0	0	0	0	0	0	0
Фунгіцидна	0	0	0	0	0	0	0

Примітки: 1. MS – метіцилінчутливі, MR – метіцилінрезистентні стафілококи;

2. у квадратних дужках наведено зони часткового пригнічення росту мікроорганізмів (бактеріостатична дія);

3. * – $p < 0,01$ при порівнянні з контролем (розчин етанолу відповідної концентрації).

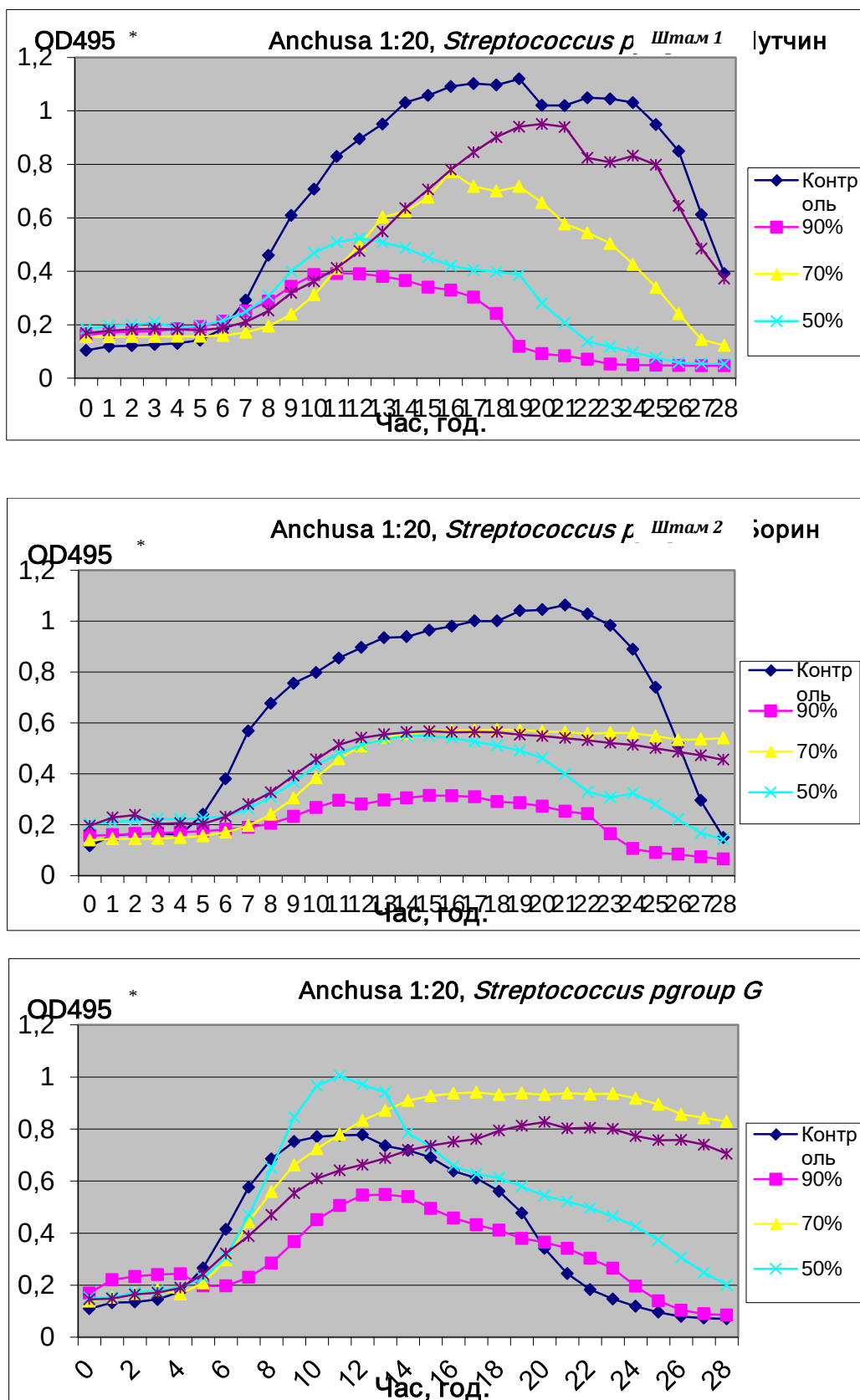


Рис. 4.2. Активність екстрактів трави воловика лікарського щодо β -гемолітичних стрептококів

Примітка. * OD₄₉₅ – приріст оптичної густини середовища.

Результати досліджень, наведені на рис. 4.2 вказують, що вплив екстрактів в. лікарського на розвиток мікроорганізмів коливається залежно від часу дослідження та штаму мікроорганізму. Проте, загальна дія досліджуваних екстрактів щодо *Streptococcus pyogenes* є помірною, а щодо *Streptococcus group G* в динаміці проявляється значно гірше.

4.3.4. Противиразкова дія

Лікування виразкової хвороби шлунка і дванадцятипалої кишки залишається проблемою сучасності. У структурі поширеності захворювань органів травлення на пептичну виразку шлунка та дванадцятипалої кишки припадає 12,83% [73].

Результати досліджень ринку противиразкових лікарських препаратів свідчать про значний конкурентний потенціал сегментів нових противиразкових ліків, що є більш ефективними та безпечними [98].

Дослідження противиразкової дії екстрактів в. лікарського проводили згідно методики розділу 2.7.2 за формулами 2.16 та 2.17. Результати досліджень наведені в табл. 4.16.

Таблиця 4.16

Противиразкова активність досліджуваних екстрактів та препарату порівняння на моделі спиртово-преднізолонової виразки шлунка щура

Група тварин (n=6)	Доза препарату, мг/кг	Вживання, %	Кількість тварин з виразками у групі T _v , %	Середній показник інтенсивності виразкових дефектів у СОШ, (ВД _{сер}) бал M±m	ВІ	ПВА, %
1	2	3	4	5	6	7
Інтактні тварини	-	100	-	-	-	-
Контрольна патологія	-	100	100	3,33 ± 0,31	3,33	-
АО-0	50	100	83	1,33 ± 0,42*	1,1	66,97

Продовж. табл. 4.16

1	2	3	4	5	6	7
АО-5	50	100	83	$1,0 \pm 0,21^*$	0,83	75,08
АО-7	50	100	83	$1,5 \pm 0,37^*$	1,25	54,96
Альтан	1	100	100	$1,17 \pm 0,21^*$	1,17	64,86

Примітка. * - достовірно по відношенню до групи контрольної патології ($p \leq 0,05$).

Аналіз результатів, наведених у табл. 4.16, показав, що всі досліджувані тварини впродовж терміну експерименту залишалися живими. Загальний стан інтактних тварин був у нормі, вони залишалися активними, адекватно реагували на зовнішні подразники. СОШ даної групи тварин була з природньою складчастістю, без гіперемії та виразок.

В умовах спиртово-преднізолонової виразки частота виникнення уражень у групі нелікованих тварин становила 100 %, тобто виразкові дефекти відмічалися у всіх особин даної групи. У ній спостерігали посилене вживання води тваринами, зниження їх рухової активності, слабку реакцію на зовнішні подразники. При макроскопічному огляді шлунків даної групи виявлено, що введення спиртово-преднізолонової суміші призвело до утворення множинних глибоких виразок, значної гіперемії, порушення складчастості СОШ. У декількох тварин відбулося здуття всього ШКТ. Таким чином, кількість тварин з виразками у цій групі склала 100 % при середньому показнику інтенсивності виразкових дефектів у СОШ $3,33 \pm 0,31$, а виразковий індекс – 3,33.

Тварини з модельною патологією, які отримували екстракти в. лікарського та препарат порівняння зовні та поведінково практично не відрізнялися від групи інтактних тварин. У цих групах тварин здуття ШКТ спостерігалось лише в однієї особини з групи АО-0. В кожній групі тварин, лікованих екстрактами в. лікарського, спостерігали відсутність уражень шлунка у однієї тварини та відсутність виразок ще в однієї (група АО-7) чи двох (групи АО-0 та АО-5) тварин. Також відзначено значно меншу кількість та розміри виразок та крововиливів. Зміни кольору та складчастості СОШ у тварин з груп

АО-0 та АО-5 та лікованих «Альтаном» не знайдено, а у групі АО-7 – спостерігали зміни у вигляді помірної гіперемії СОШ з деяким порушенням складчастості у кількох особин. Середній показник інтенсивності виразкових дефектів СОШ у групах тварин, які отримували екстракти в. лікарського (АО-0, АО-5 та АО-7) становив $1,33 \pm 0,42$, $1,0 \pm 0,21$ та $1,5 \pm 0,37$ бали відповідно. Виразковий індекс при цьому склав 1,1; 0,83 та 1,25 відповідно, противиразкова активність – 66,97 %, 75,08 % та 54,96 % відповідно. Середній показник інтенсивності виразкових дефектів у СОШ у групах тварин, лікованих «Альтаном» – $1,17 \pm 0,21$ бали, виразковий індекс – 1,17, противиразкова активність – 64,86 %.

Слизова оболонка шлунка тварин інтактної групи на світлооптичному рівні представлена характерною вираженою складчастістю (рис. 4.3).



Рис. 4.3. Слизова оболонка шлунка інтактних тварин. Заб.: гематоксилін і еозин. Зб.: ок. 10, об. 4. Позначення: 1 – слизова оболонка, 2 – залози шлунка, 3 – м'язова оболонка, 4 – серозна оболонка

Залозисті епітеліоцити циліндричної форми з ядрами в цитоплазмі біля базального полюса. Глибокі шлункові ямки містять щільно розташовані власні залози шлунка, у яких звичне представництво клітин (рис. 4.4). Пухка сполучна тканина власної пластинки слизової оболонки без особливостей. М'язова пластинка слизової оболонки представлена гладкими міоцитами. Підслизовий прошарок та м'язова оболонка візуалізується за притаманними їм морфологічними ознаками. Серозною оболонкою є тонкий шар пухкої сполучної тканини з мезотелієм.

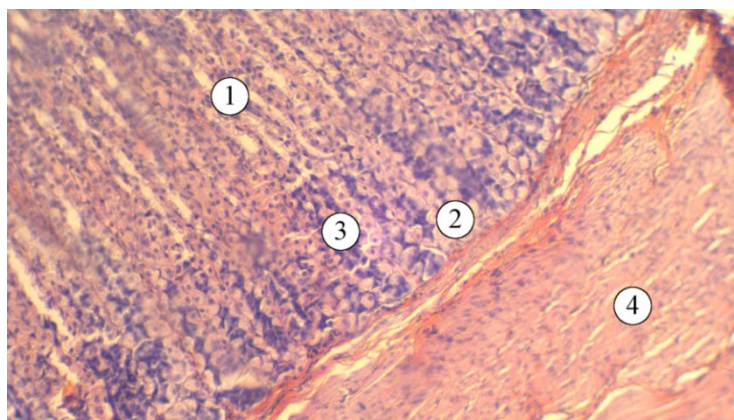


Рис. 4.4. Залози слизової оболонки шлунка інтактних тварин. Заб.: гематоксилін і еозин. Зб.: ок. 10, об. 20. Позначення: 1 – залози шлунка, 2 – кислотний екзокриноцит, 3 – головний екзокриноцит, 4 – м'язова оболонка

У тварин контрольної групи, яким моделювали спирто-преднізолонову виразку, виявляли множинні виразки різної глибини. Епітеліальна пластинка слизової оболонки в багатьох полях зору деструктивно змінена, залозисті структури не прослідковуються, ядра погано контуруються. Краї та дно виразки представлені некротизованою тканиною, в оточенні лейкоцитарно-лімфоцитарної інфільтрації. Капіляри гемомікроциркуляторного русла дилатовані, дрібні артерії переважно звужені. Підслизовий прошарок з ознаками набряку. В судинах помітний гемостаз (рис. 4.5, 4.6).

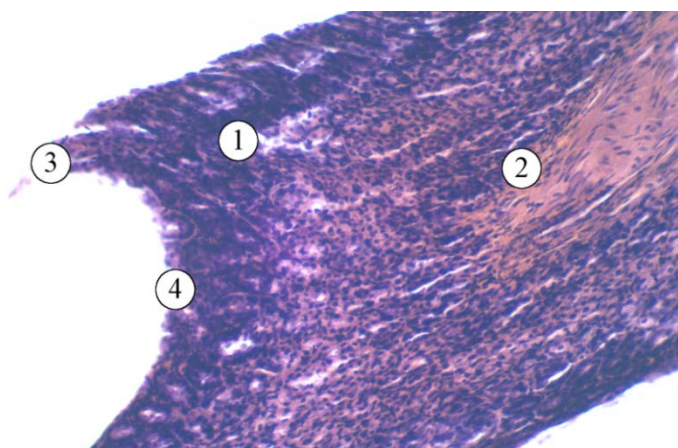


Рис. 4.5. Виразка слизової оболонки шлунка. Заб.: гематоксилін і еозин. Зб.: ок. 10, об. 20. Позначення: 1 – некротичні маси, 2 – лейкостаз, 3 – краї виразки, 4 – дно виразки

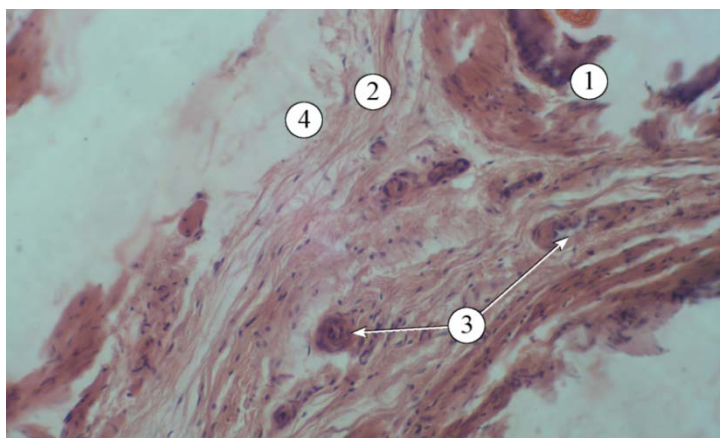


Рис. 4.6. Глибока виразка слизової оболонки шлунка. Заб.: гематоксилін і еозин. Зб.: ок. 10, об. 20. Позначення: 1 – зруйнована епітеліальна пластинка, 2 – деструктивні зміни сполучнотканинних елементів, 3 – звужені артерії, 4 – сполучнотканинний набряк

У слизовій оболонці шлунка тварин, які отримували водно-спиртовий екстракт трави в. лікарського (АО-7) візуалізуються структурні порушення організації залозистого епітелію слизової оболонки шлунка, набряк сполучнотканинних елементів. Різко розширена венозно-лімфатична ланка судинного русла з явищами гемостазу. Зменшена складчатість слизової оболонки вона у всіх полях зору стоншена (рис. 4.7, 4.8).

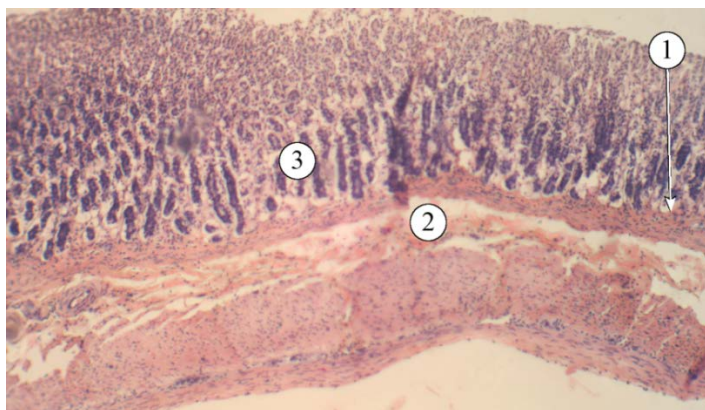


Рис. 4.7. Гістоструктура слизової оболонки шлунка тварин п'ятої групи. Заб.: гематоксилін і еозин. Зб.: ок. 10, об. 10. Позначення: 1 – стоншена епітеліальна пластинка, 2 – сполучнотканинний набряк, 3 – порушення організації залозистих структур

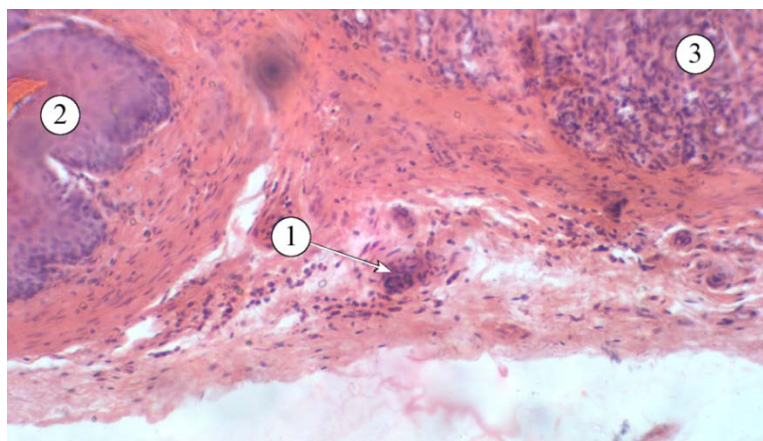


Рис. 4.8. набряк підслизового прошарку з ознаками гемостазу. Заб.: гематоксилін і еозин. Зб.: ок. 10, об. 20. Позначення: 1 – артеріальний гемостаз, 2 – епітелій стравоходу, 3 – епітелій кардіальної частини шлунка

У слизовій оболонці шлунка тварин, які отримували водний екстракт в. лікарського (АО-0) мікроскопічно відмічається небагато виразкових дефектів слизової оболонки. Спостерігаються гіперплазовані складки слизової оболонки на фоні помірно виражених ознак епітеліального набряку. Межі між клітинами стерті. Шлункові ямки невеликі. Артеріоли власної пластинки звужені, їх ендотелій має вигляд «штахет». Наявні виразкові ділянки оточені незначними лімфоцитарними вогнищами (рис. 4.9, 4.10).

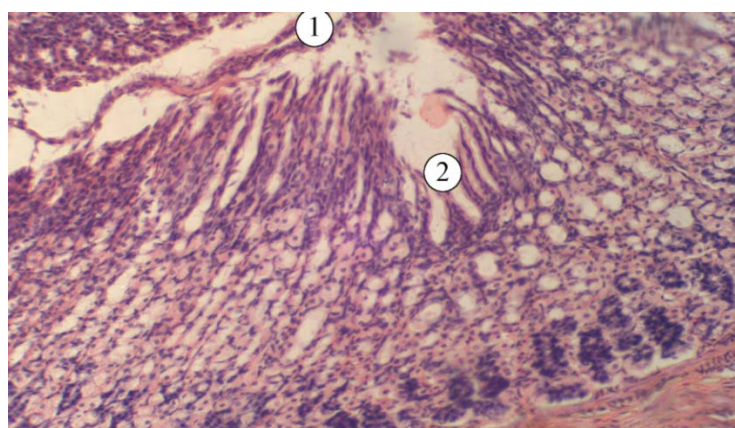


Рис. 4.9. Епітеліальний набряк з виразкою у стінці шлунка тварин 3-ої групи. Заб.: гематоксилін і еозин. Зб.: ок. 10, об. 20. Позначення: 1 – десквамовані епітеліоцити, 2 – виразковий дефект.

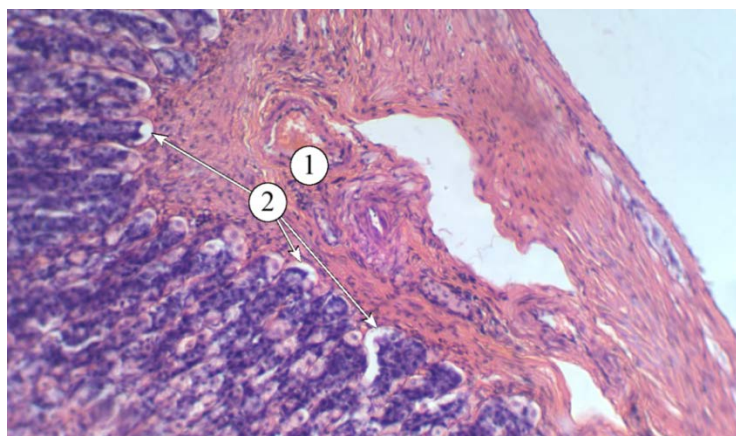


Рис. 4.10. Ознаки порушення гемо- та лімфообігу слизової оболонки шлунка. Заб.: гематоксилін і еозин. Зб.: ок. 10, об. 20. Позначення: 1 – артеріальний гемостаз, 2 – підепітеліальний набряк

Результати вивчення впливу «Альтану» демонструють зменшення кількості виразок, що підтверджується макроскопічно та мікроскопічно. Їх глибина незначна. Складчатість слизової оболонки збережена. Подекуди виявляються точкові крововиливи. Локально утримується лімфостаз та підепітеліальний набряк. Товщина епітеліальної пластинки візуально наближена до такої в інтактних тварин. У товщі слизової оболонки спостерігається збільшення та ущільнення волокнистих структур, що свідчить про формування рубця (рис. 4.11, 4.12).

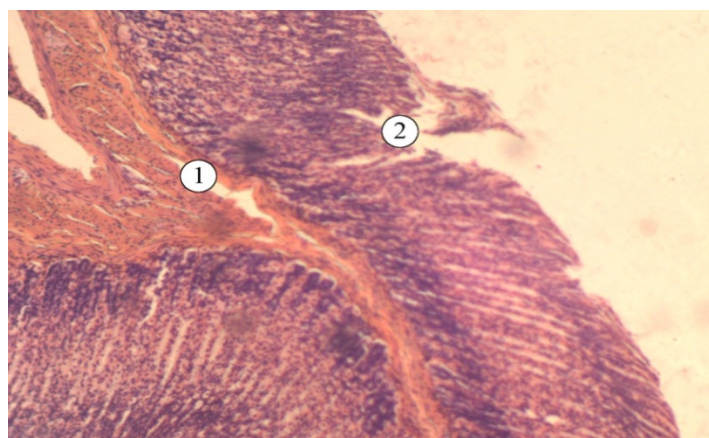


Рис. 4.11. Слизова оболонка шлунка тварин, 6-ої групи. Заб.: гематоксилін і еозин. Зб.: ок. 10, об. 10. Позначення: 1 – лімфостаз, 2 – виразковий дефект

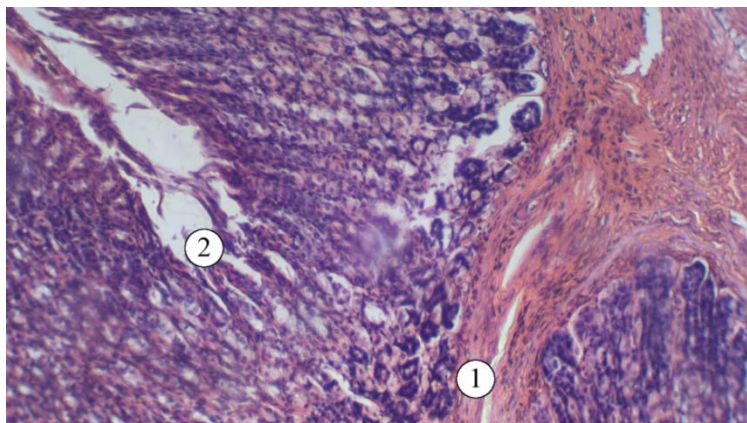


Рис. 4.12. Формування рубця. Заб.: гематоксилін і еозин. Зб.: ок. 10, об. 20. Позначення: 1 – волокнисті структури, 2 – виразковий дефект

Слизова оболонка шлунка тварин, які отримували водно-спиртовий екстракт трави в. лікарського (АО-5) майже на всьому протязі має звичайний вигляд, хоча, подекуди спостерігаються поодинокі поверхневі ерозивні зміни. Шлункові ямки глибокі, вкриті залозистими епітеліоцитами циліндричної форми з незміненими морфологічними ознаками. У власній та м'язовій пластинці помітні ознаки незначного набряку на фоні вазодилатації окремих судин (рис. 4.13).

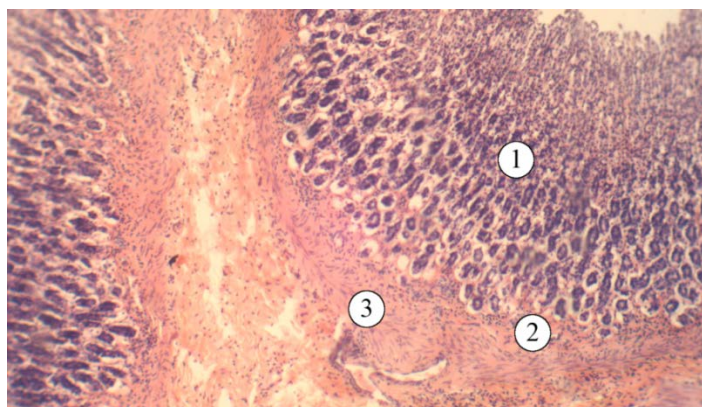


Рис. 4.13. Слизова оболонка шлунка тварин 4-ої групи. Заб.: гематоксилін і еозин. Зб.: ок. 10, об. 10. Позначення: 1 – епітеліальна пластинка, 2 – власна пластинка слизової оболонки, 3 – м'язова пластинка

Таким чином, отримані результати свідчать, що пероральне застосування водно-спиртового екстракту трави в. лікарського (АО-5) призводить до суттєвого зменшення деструктивно-дегенеративних змін складових елементів

стілки шлунка, має противиразкові та протизапальні властивості. Водночас водний (АО-0) та водно-спиртовий (АО-7) екстракти трави в. лікарського проявляють менш виражену гастропротекторну дію.

Для підтвердження результатів макроскопічного та гістологічного дослідження проводили забір крові тварин для біохімічного вивчення інтенсивності процесів вільно радикального окислення (ВРО), стану антиоксидантної системи (АОС) та процесів цитолізу. Біохімічні дослідження плазми крові проводили з використанням стандартних тест-наборів ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна) проведено відповідно до загальноприйнятих методик [85]. Враховуючи те, що процеси ВРО відіграють важливу роль у розвитку запальних та виразкових уражень, важливим є визначення загального білка та маркерів цитолізу – АсАТ та АлАТ у сироватці крові. Маркером інтенсивності ВРО та стану АОС був рівень малонового діальдегіду (МДА). Результати впливу екстрактів в.лікарського та препарату порівняння на біохімічні показники крові на моделі спирто-преднізолонової виразки у щурів представлено в табл. 4.17.

Таблиця 4.17

Вплив екстрактів в. лікарського та препарату порівняння на біохімічні показники крові досліджуваних тварин

Група тварин (n=6)	Доза, мг/ кг	АлАТ, ммоль/л•год	АсАТ, ммоль/л•год	Загальний білок, г/л	МДА, нмоль/мл
Інтактні тварини	-	0,33 ± 0,02	0,38 ± 0,01	72,98 ± 1,15	5,08 ± 0,11
Контрольна патологія	-	0,68 ± 0,04*	0,79 ± 0,05 *	53,07 ± 2,90*	17,85 ± 0,66*
АО-0	50	0,49 ± 0,01*	0,50 ± 0,02*	63,72 ± 2,41*	6,75 ± 0,11*
АО-5	50	0,41 ± 0,03*	0,42 ± 0,04*	60,97 ± 2,02*	6,20 ± 0,17*
АО-7	50	0,49 ± 0,02*	0,55 ± 0,04*	62,35 ± 1,44*	7,96 ± 0,30*
Альтан	1	0,52 ± 0,02*	0,57 ± 0,03*	64,77 ± 0,84*	6,52 ± 0,12*

Примітка. * - достовірно по відношенню до даних груп інтактних тварин ($p \leq 0,05$).

Результати табл. 4.17 свідчать, що наслідком введення тваринам групи контрольної патології спиртово-преднізолонової суміші стало значне посилення процесів ВРО, про що вказує підвищення рівня МДА в 3,5 рази та процесів цитолізу – підвищення рівня АсАТ та АлАТ в 2,1 та 2 рази відповідно. Рівень білка навпаки – знизився у 1,4 рази, що свідчить про розвиток патологічного процесу, при якому відбувається посилений розпад протеїнів. Лікувально-профілактичне введення експериментальним тваринам екстрактів в. лікарського та «Альтану» сприяло покращенню наведених показників у крові щурів у порівнянні з групою тварин контрольної патології. Під впливом АО-0, АО-5 та АО-7 на фоні індукованої спирто-преднізолонової виразки шлунка у щурів пригнічення процесів ВРО відобразилось зниженням рівня МДА у 2,6 разів, 2,9 разів та 2,2 рази відповідно, під впливом препарату порівняння – у 2,7 разів. Процеси цитолізу під впливом екстрактів сповільнилися в 1,4 - 1,6 рази, 1,7 - 1,9 разів та 1,4 рази відповідно, під впливом Альтану – в 1,3 - 1,4 рази. Оскільки активність АсАТ та АлАТ знизилася у порівнянні з контрольною патологією, можна вважати, що дані препарати здійснюють мембраностабілізуючий та антиоксидантний ефекти. Рівень білка в сироватці крові під впливом усіх досліджуваних субстанцій, навпаки, мав тенденцію до підвищення у 1,2 рази, що свідчить про зниження деструкції тканин.

Таким чином, в умовах індукованої виразки шлунка у експериментальних щурів, отримано дані, що вказують на наявність противиразкової дії екстрактів в. лікарського. Встановлено, що досліджувані екстракти та препарат порівняння «Альтан» сповільнюють перебіг реакцій ВРО та посилюють дію ендогенних систем антиоксидантного захисту. Серед досліджуваних екстрактів найбільш виражену дію проявив екстракт АО-5, ефект якого у дозі 50 мг/кг маси тіла тварини є помітно вищим від впливу препарату порівняння.

Отже, вивчення противиразкової дії екстрактів в. лікарського на моделі гострої спиртово-преднізолонової виразки шлунка у щурів, проведене за показниками морфологічного, гістологічного та біохімічного досліджень, свідчить, що вказані субстанції мають противиразкову активність.

4.4. Стандартизація воловика лікарського трави екстракту сухого

На основі результатів аналізу вмісту біологічно активних речовин в екстрактах в. лікарського та вивчення їх фармакологічної активності, перспективною субстанцією для розробки лікарських засобів визначено АО-7.

Наступним етапом роботи було проведення дослідження з метою встановлення показників якості екстракту АО-7. Для стандартизації в. лікарського екстракту сухого використовували 5 серій екстракту. Стандартизацію проводили згідно вимог монографії ДФУ 2.0 Т.1 «Екстракти» за такими показниками: опис, ідентифікація, кількісний вміст діючих речовин, втрата в масі при висушуванні, мікробіологічна чистота [31].

В результаті роботи запропоновано проект Методів контролю якості субстанції «Воловика лікарського трави екстракт сухий» (Додаток ІІІ).

Аналізу щодо відповідності встановленим вимогам підлягали ще 5 зразків досліджуваного екстракту. Встановлено, що усі зразки відповідають зазначеним вимогам згідно органолептичних ознак, якісного складу та кількісного вмісту БАР. Показники якості в. лікарського екстракту сухого наведені в табл. 4.18.

4.5. Розробка і дослідження мазі на основі екстракту воловика лікарського

На сьогодні лікарські засоби на основі рослинної сировини є альтернативою синтетичним препаратам на фармацевтичному ринку. Основними вимогами до таких засобів є доведена терапевтична ефективність, безпека, стабільність в процесі зберігання та використання [100, 110].

З метою забезпечення терапевтичної дії мазі та зведення до мінімуму можливих побічних ефектів, раціональним є здійснення науково-обґрунтованого дозування діючої субстанції, підбору допоміжних речовин та технологічної схеми виробництва [110].

Таблиця 4.18

Параметри стандартизації воловика лікарського екстракту сухого

Серія	Опис	Ідентифікація	Втрата в масі при висушуванні	Гідроксикоричні кислоти
Проект МКЯ	Дуже гігроскопічний аморфний порошок зеленувато- коричневого кольору зі слабким характерним запахом	Поліфенольні сполуки та гідроксикоричні кислоти (ТШХ). Рухома фаза: мурашина кислота безводна P : вода P : етилацетат P – 10:10:80. Проявлення після обробки розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру P у метанолі P , потім розчином 50 г/л макрогону 400 P у метанолі P , висушування впродовж 30 хв та перегляду в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм. На хроматограмі випробуваного розчину повинні виявлятися жовта флуоресціююча зона на рівні зони ізокверцитрину на хроматограмі розчину порівняння; вище неї – блакитна зона, що відповідає зоні розмаринової кислоти на хроматограмі розчину порівняння; іще вище – блакитна флуоресціююча зона, що відповідає кавовій кислоті на хроматограмі розчину порівняння. На хроматограмі можуть проявлятися також інші флуоресціюючі зони	Не більше 5,00 %	Не менше 7,5 %
001	Відповідає	Відповідає	4,78 %	7,97 %
002	Відповідає	Відповідає	4,82 %	7,63 %
003	Відповідає	Відповідає	4,76 %	8,05 %
004	Відповідає	Відповідає	4,80 %	7,70 %
005	Відповідає	Відповідає	4,89 %	7,59 %

4.5.1. Розробка складу та технології мазі

Першим етапом досліджень став вибір типу носія. В сучасній фармацевтичній практиці найчастіше використовують гідрофільні та дифільні системи які забезпечують оптимальне вивільнення лікарських речовин з лікарської форми, не перешкоджають газо- та теплообміну шкіри, а також мають хороші органолептичні характеристики [110]. Склад та властивості дослідних мазевих основ наведено у Додатку Т.

На базі запропонованих основ, було приготовлено зразки мазей з екстрактом АО-7 в 5 % концентрації діючої субстанції. Органолептичний аналіз отриманих мазей показав, що поєднання екстракту зі зразками основ № 6 і 8 утворюють системи, що відразу втрачають структурно-механічні властивості, а саме розріджуються, що утруднює їх нанесення на шкіру; зі зразком № 7 – утворюється нестійка система, яка розшаровується ще в процесі гомогенізації мазі; зі зразком № 1 – утворюється достатньо густа мазь, яка в через кілька годин від часу приготування втрачає структурно-механічні властивості, а саме твердне і кришиться, що унеможлиблює її розподіл по поверхні шкіри.

Зразки мазі № 2 – 5 мали задовільні структурно-механічні та органолептичні характеристики (однорідні, від негустої до середньо густої консистенції, з хорошою мажучою здатністю, від кремового до світло-коричневого кольору та зі слабким специфічним приємним запахом), що дало підставу для їх використання у процесі подальших досліджень.

Для забезпечення оптимального терапевтичного ефекту мазі, важливе значення має повнота та швидкість вивільнення лікарської речовини з лікарської форми [75]. Тому, наступним етапом скринінгу було проведення біофармацевтичних досліджень отриманих зразків методами *in vitro*, зокрема дифузії в желатиновий гель та діалізу у рідке середовище через напівпроникну мембрану.

Метод дифузії ґрунтувався на утворенні забарвленої зони в результаті взаємодії групи діючих речовин екстракту (фенольних сполук) із 10 %

розчином феруму (III) хлориду з утворенням зелено-фіолетового забарвлення (розділ 2.6). Желатиновий гель використано як середовище у зв'язку із вищою спорідненістю до шкіри у порівнянні з агаром, оскільки желатин є продуктом гідролізу її структурного елементу – колагену.

Досліджувані зразки мазі в середовищі витримували в термостаті при температурі $+37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ впродовж 6 год, вимірюючи для кожного зразка діаметри забарвлених зон кожні пів години до кінця експерименту. Динаміка дифузії фенольних сполук екстракту з мазі в желатиновий гель наведена в табл. 4.19.

Таблиця 4.19

**Дифузія фенольних сполук екстракту воловика лікарського в
желатиновий гель**

Час дифузії, год	Діаметр забарвленої зони, мм, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ n=5			
	Зразок № 2	Зразок № 3	Зразок № 4	Зразок № 5
1,0	11,2	18,6	11,0	14,4
2,0	11,7	21,3	11,2	15,3
3,0	12,3	22,0	11,9	16,8
4,0	13,3	22,7	12,8	17,5
5,0	13,7	23,8	12,9	20,1
6,0	13,8	24,7	13,0	21,4

Згідно результатів табл. 4.19, найкраще вивільнення діючих речовин екстракту спостерігали для мазей, що виготовлені на основах № 3 і 5.

Ступінь вивільнення фенольних сполук з мазі також визначали спектрофотометрично у модифікації методики ДФУ 2.0 Т.1 згідно розділу 2.17. Забір проб для аналізу проводили кожну годину впродовж 6 год.

Вивільнення фенольних сполук з усіх дослідних зразків мазей відбулося вже через 1 год від початку експерименту. Найбільша кількість БАР вивільнилася з мазі на основі № 3 і впродовж 6 год становила 2,1 %. Деяко нижчий показник зафіксовано для мазі на основі № 5, який становив 1,8 % за 6 год. Зразки мазей на основах № 2 і 4 показали значно нижчий ступінь вивільнення діючих речовин, який вже після 4 год змінювався незначно і становив 0,66 % і 0,76 % відповідно. В той же час, у зразка мазі на основі № 3 в

процесі зберігання спостерігалось порушення структури та однорідності, що дало привід відмовитися від його подальшого використання. Таким чином, на основі експериментальних досліджень встановлено склад мажевої основи, яка забезпечує оптимальний ступінь вивільнення діючих речовин мазі з АО-7, зберігаючи при цьому задовільні структурно-механічні та органолептичні характеристики. Такою основою є зразок № 5.

Дана основа є практично нейтральною (рН 6,5), нетоксичною, відносно індиферентною, легко наноситься, рівномірно розподіляється по поверхні шкіри та не заважає її газообміну. Компоненти основи дозволені до застосування як допоміжні речовини, що входять до складу лікарських засобів [32, 72, 181].

Наступним етапом дослідження було встановлення оптимальної концентрації екстракту в мазі. На основі № 5 ми виготовили зразки мазей з 3 %, 5 %, 7 % та 10 % концентрацією АО-7 та провели визначення їх антимікробної та протигрибкової активності. Визначення базувалося на здатності зразків мазі затримувати навколо себе ріст патогенної мікрофлори. Результати проведених досліджень представлено в табл. 4.20 та в Додатку Ф.

Таблиця 4.20

Протимікробна активність мазей з екстрактом воловика лікарського

	Різниця між діаметрами зон затримки росту мікроорганізмів та діаметрами лунок з препаратами, мм			
	АО 3%	АО 5%	АО 7%	АО 10%
1	2	3	4	5
<i>Staphylococcus aureus</i> MS	1,20±0,07	2,10±0,19	1,90±0,34	4,54±0,61
<i>Staphylococcus epidermidis</i> MS	0	0	1,58±0,18	6,46±1,09
<i>Enterococcus faecalis</i>	2,14±0,93	2,77±0,42	[5,24±0,48]	3,16±0,20
<i>Klebsiella ozaenae</i>	0	0	0	0
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	2,51±0,09	4,88±0,30
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	0

Продовж. табл. 4.20

1	2	3	4	5
<i>Candida albicans</i>	2,14±0,23	0,99±0,13	1,27±0,47	3,64±0,07
α-гемолітичний <i>Streptococcus gordonii</i>	0	0	0	0
β-гемолітичний групи G <i>Streptococcus group G</i>	1,19±0,45	0	0	0
<i>Aspergillus niger</i>				
Проростання спор	0	0	0	0
Міцеліальний ріст	0	0	0	0
Утворення спор	0	0	0	0
Фунгіцидна	0	0	0	0

Примітки: 1. MS – метіцилінчутливі, MR – метіцилінрезистентні стафілококи;

2. У квадратних дужках наведено зони часткового пригнічення росту мікроорганізмів (бактеріостатична дія).

Аналіз даних, наведених у табл. 4.20 вказує, що мазі з екстрактом АО-7 в концентрації 3 - 5 % проявляють незначний вплив на ріст переважної більшості патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів. Найбільш виражений ефект притаманний мазі у 10 % концентрації екстракту, зокрема проти *Staphylococcus epidermidis* MS. Дещо слабший ефект проявляє вказана мазь у відношенні до *Citrobacter freundii*, *Staphylococcus aureus* MS, *Candida albicans* та *Enterococcus faecalis*.

Таким чином, на підставі біофармацевтичних та мікробіологічних досліджень, розроблено склад мазі з екстрактом трави в. лікарського:

Екстракт трави в. лікарського сухий 10,0 (АО-7)

ПЕО-4000 45,0

Гліцерин 27,0

Вода очищена до 100,0.

Ґрунтуючись на особливостях виду дисперсної системи, фізико-хімічних властивостях екстракту в. лікарського та перспективі терапевтичного

застосування мазі, запропоновано технологію її приготування. Технологічну схему та опис технології наведено в Додатку У.

Отримана мазь однорідна, світло-коричневого кольору, зі слабким характерним запахом, не містить механічних домішок, добре намазується та легко знімається з поверхні шкіри.

4.5.2. Стандартизація мазі воловика лікарського

Якість розробленої мазі оцінювали згідно фармако-технологічних показників, що регламентуються вимогами статті «М'які лікарські засоби для нашкірного застосування» ДФУ 2.0 Т.1 [31].

Для розробки методик стандартизації мазі проводили вивчення її органолептичних (однорідність, запах, колір) властивостей, кількісне визначення діючих речовин, рН водного розчину відразу після приготування та в процесі зберігання мазі. Отриману мазь перевіряли кожні 3 місяці впродовж одного року на прикладі зразків 5 серій. Результати досліджень наведено у табл. 4.21.

Отримані дані свідчать, що впродовж одного року зберігання мазь є стабільною за вмістом діючих речовин, а відносно низьке коливання рН вказує на дуже незначний перебіг окисно-відновних реакцій в мазі, що дає підставу запропонувати показники якості мазі та встановити її термін придатності не менше одного року.

4.5.3. Токсикологічне та фармакологічне дослідження мазі

Вивчення *гострої токсичності* мазі та маzewої основи проводили згідно розділу 2.7.2. Через 2 год після нанесення мазі та основи, на фіксовані в скляних пробірках хвості, у тварин спостерігали зменшення активності і рухливості, відмову від їжі та води. Через 24 год після накладання препаратів стан тварин в першій та другій групах був задовільний, вони добре їли,

Таблиця 4.21

Показники якості мазі з екстрактом воловика лікарського в процесі зберігання

Серія мазі	Опис	Однорідність	pH	Вміст гідроксикоричних кислот, %	Термін зберігання	Висновок
1	2	3	4	5	6	7
95	Мазь світло-коричневого кольору, середньогустої консистенції зі слабким характерним запахом	Однорідна	5,4±0,2	0,61±0,05	Первинна	Придатна
	—//—	—//—	5,4±0,1	0,56±0,07	3 місяці	—//—
	—//—	—//—	5,4±0,2	0,57±0,04	6 місяців	—//—
	—//—	—//—	5,3±0,1	0,49±0,05	9 місяців	—//—
	—//—	—//—	5,3±0,1	0,47±0,07	12 місяців	—//—
С.002	Мазь світло-коричневого кольору, середньогустої консистенції зі слабким характерним запахом	Однорідна	5,4±0,1	0,54±0,09	Первинна	Придатна
	—//—	—//—	5,5±0,1	0,52±0,04	3 місяці	—//—
	—//—	—//—	5,4±0,2	0,48±0,05	6 місяців	—//—
	—//—	—//—	5,3±0,2	0,44±0,07	9 місяців	—//—
	—//—	—//—	5,2±0,2	0,46±0,04	12 місяців	—//—
С.003	Мазь світло-коричневого кольору, середньогустої консистенції зі слабким характерним запахом	Однорідна	5,5±0,1	0,67±0,02	Первинна	Придатна
	—//—	—//—	5,4±0,1	0,59±0,03	3 місяці	—//—

Продовж. табл. 4.21

1	2	3	4	5	6	7
	--	--	5,3±0,2	0,61±0,05	6 місяців	--
	--	--	5,4±0,1	0,55±0,04	9 місяців	--
	--	--	5,3±0,3	0,49±0,05	12 місяців	--
С.004	Мазь світло-коричневого кольору, середньогустої консистенції зі слабким характерним запахом	Однорідна	5,4±0,2	0,59±0,05	Первинна	Придатна
	--	--	5,4±0,2	0,59±0,07	3 місяці	--
	--	--	5,4±0,1	0,51±0,05	6 місяців	--
	--	--	5,3±0,1	0,42±0,04	9 місяців	--
	--	--	5,2±0,2	0,44±0,05	12 місяців	--
92	Мазь світло-коричневого кольору, середньогустої консистенції зі слабким характерним запахом	Однорідна	5,5±0,1	0,60±0,02	Первинна	Придатна
	--	--	5,4±0,1	0,55±0,04	3 місяці	--
	--	--	5,4±0,2	0,52±0,07	6 місяців	--
	--	--	5,3±0,1	0,46±0,01	9 місяців	--
	--	--	5,3±0,2	0,45±0,05	12 місяців	--

споживали воду, були рухливими. Еритеми, набряку, тріщин, виразок на шкірі і хвості за час спостереження виявлено не було. На зовнішні тактильні та больові подразники впродовж терміну експерименту тварини відповідали адекватно.

Після внутрішньошлункового введення мазі впродовж всього терміну спостереження змін зовнішнього вигляду тварин, їх поведінки, стану дихання, сечовиділення та дефекації, відношення до споживання їжі та води не зареєстровано.

Через 14 діб всі миші залишалися живими, стан їх був задовільним. Відмінностей в групах тварин щодо фізіологічних показників стану мишей не виявлено. Мишей виводили з експерименту шляхом введення в наркоз із подальшою декапітацією з метою проведення макроскопічного огляду та встановлення масових показників внутрішніх органів.

Результати дослідження гострої токсичності мазі з екстрактом в. лікарського подано в табл. 4.22.

Таблиця 4.22

**Результати дослідження гострої токсичності мазі з екстрактом
воловика лікарського**

№ з/п	Група тварин	Шлях введення	Доза, мг/кг	Відношення кількості загинувших тварин до загальної кількості тварин у групі	LD ₅₀ , мг/кг
1	I	Аплікації на шкіру	15000	0/6	>15000
2	II			0/6	>15000
3	III	Внутрішньо-шлунково	25000	0/6	>25000
4	IV			0/6	>25000

Результати, наведені в табл. 4.22 вказують, що значення LD₅₀ мазі та мажевої основи при нанесення на шкіру є вищим від 15000 мг/кг маси тіла тварини, при внутрішньошлунковому введенні – вищим від 25000 мг/кг маси тіла тварини. Усі тварини (експериментальні та інтактні) продовжували набирати масу, що відображено в табл. 4.23.

Таблиця 4.23

Зміна маси тіла експериментальних та інтактних тварин

№ з/п	Група тварин	Шлях введення	Маса тіла тварини, г; $\bar{X} \pm \Delta \bar{X}$, n = 6	
			1-й день	14-й день
1.	I	Аплікації на шкіру	18,94±0,32*	21,21±0,20*
2.	II		19,07±0,61*	21,43±0,42*
3.	III	Внутрішньо-шлунково	18,58±0,36*	22,01±0,27*
4.	IV		19,52±0,54*	21,12±0,31*
5.	V	-	19,41±0,39	21,90±0,19

Примітка. * - достовірно по відношенню до групи контролю ($p \leq 0,05$).

При оглядовому макроскопічному дослідженні внутрішніх органів всіх груп піддослідних тварин жодних проявів патологічних процесів не виявлено. Колір, форма, розмір та консистенція органів в межах досліджуваних груп не відрізнялися. В грудній та черевній порожнинах всі органи розташовані анатомічно правильно. Серцевий м'яз на розрізі темно-червоний, легені повітряні, листки плеври не змінені. Слизова оболонка шлунка з вираженим рельєфом складок. Слизова оболонка кишківника не змінена. Поверхня печінки та нирок гладка, однорідна. Підшлункова залоза сірувато-рожевого кольору, однорідна. Селезінка пружна та повнокровна. Масові показники внутрішніх органів представлені в табл. 4.24.

Таблиця 4.24

Маса внутрішніх органів дослідних тварин

№ з/п	Група тварин	Шлях введення	Маса органів тварини, г; $\bar{X} \pm \Delta \bar{X}$, n = 6		
			Серце	Легені	Печінка
1.	I	Аплікації на шкіру	0,19±0,01*	0,27±0,02*	1,42±0,10*
2.	II		0,21±0,01*	0,23±0,02*	1,50±0,07*
3.	III	Внутрішньо-шлунково	0,24±0,02*	0,20±0,01*	1,39±0,03*
4.	IV		0,18±0,01*	0,26±0,03*	1,34±0,11*
5.	V	-	0,19±0,02	0,26±0,02	1,38±0,05

Примітка. * - достовірно по відношенню до групи контролю ($p \leq 0,05$).

Аналіз даних табл. 4.24 вказує, що показники маси внутрішніх органів тварин в межах досліджуваних груп значимо не відрізняються. Це свідчить про відсутність негативного впливу мазі на фізіологічний розвиток тварин.

Таким чином, встановлено, що при одноразовому нанесенні на шкіру та внутрішньошлунковому введенні тваринам мазі з екстрактом в. лікарського та мазевої основи в зазначених дозах змін фізіологічних показників стану піддослідних мишей та морфологічної структури їх внутрішніх органів не відбувається. Тому, на основі наведених результатів досліджень можна зробити висновок про нешкідливість даного препарату в умовах гострого експерименту та віднести класу відносно нешкідливих препаратів згідно класифікації К. К. Сидорова, що рекомендована ДФЦ МОЗ України.

Після моделювання патології жодних змін у поведінці та процесах життєдіяльності досліджуваних тварин не спостерігали. В першу добу після відтворення рани відбулося активне утворення зони патології з вираженими почервонінням та набряком. Краї рани дещо розійшлися, гнійного ексудату не було. У тварин всіх дослідних груп відбулося утворення первинної кірки. Тенденцію до зниження запального процесу спостерігали на третю-п'яту добу. Достовірне зменшення розмірів рани у всіх експериментальних тварин відбулося на п'яту добу, повне загоєння ран з відновленням шкірного покриву у тварин, яким наносили досліджувану мазь на 13-ту добу, препарат порівняння – на 15-ту добу, основу та контроль – на 17-ту добу. Результати дослідження подано на рис 4.14, 4.15 та в табл. 4.25.

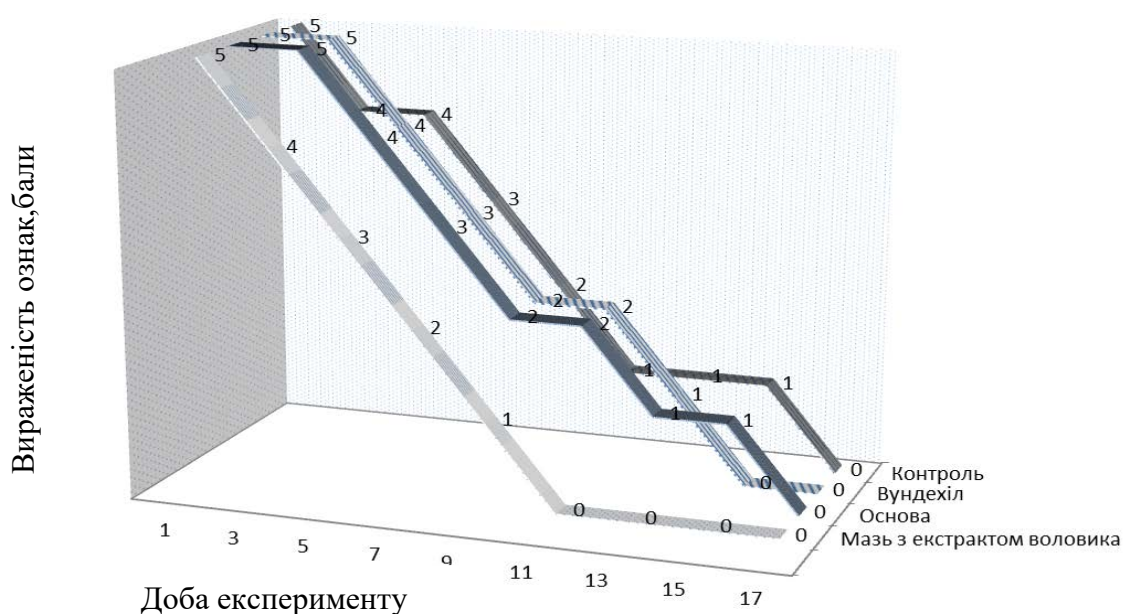


Рис. 4.14. Вираженість ознак запального процесу у досліджуваних тварин

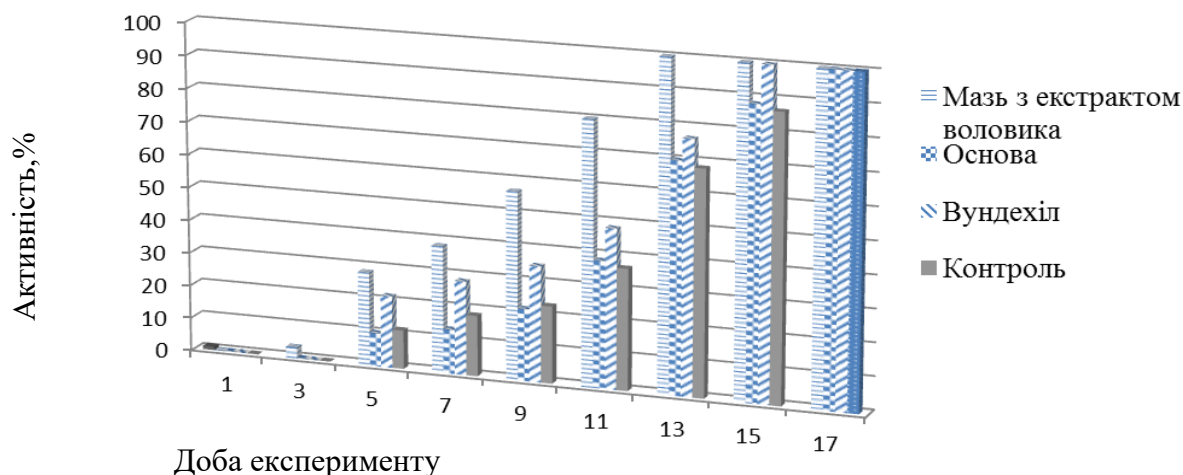


Рис. 4.15. Ранозагоювальна активність досліджуваних субстанцій

Таблиця 4.25

Динаміка ранозагоювальної активності досліджуваних субстанцій

Група тварин (n=6)	5-та доба	9-та доба	11-та доба	13-та доба	15-та доба	17-та доба
I	28,3±0,7*	56,7±1,3*	80,0±1,0*	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0
II	10,0±0,3*	21,7±0,3*	38,3±0,3*	70,0±0,7*	88,3±1,3*	100,0±0,0
III	21,7±0,3*	35,0±0,3*	48,3±0,7*	76,7±0,7*	100,0±0,0	100,0±0,0
IV	11,7±1,0	23,3±1,3	36,7±1,0	68,3±0,3	86,7±0,3*	100,0±0,0

Примітки. * - достовірно по відношенню до групи контролю ($p \leq 0,05$);

I – мазь з екстрактом в. лікарського, II – мазева основа, III – препарат-порівняння, IV – контрольна патологія.

Результати, наведені в табл. 4.25 вказують, субстанцій найвищою ранозагоювальною здатністю здійснює мазь з екстрактом в. лікарського, застосування якої пришвидшує процес в 1,3 рази у порівнянні з групою контрольної патології та у 1,15 разів у порівнянні з референс-препаратом.

Таким чином, встановлено, що при нанесенні на раневу поверхню досліджуваної мазі репарація шкірного покриву пришвидшується практично в 1,3 рази. Тому, на основі наведених результатів досліджень можна зробити висновок про ранозагоювальну дію мазі з екстрактом в. лікарського.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в публікаціях [21, 27, 75, 101].

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 4

1. На основі експериментальних досліджень розроблено технологічні параметри екстракції БАР з трави в. лікарського та проведено скринінгове дослідження їх фармакологічних ефектів. Встановлено, що оптимальним ступенем подрібнення для трави в. лікарського є частки розміром 0,5 – 3 мм; екстрагенти – вода очищена, етанол 50 % і 70 %; оптимальне співвідношення сировина : екстрагент – 1:10; оптимальна тривалість разової екстракції – 30 хв; повноти екстракції БАР можна досягти шляхом трикратного екстрагування.

2. Отримані екстракти є пухкими порошками від світло-коричневого до зелено-коричневого кольору зі слабким специфічним запахом, вихід їх становить від 20,11 % до 22,61 % залежно від виду екстрагенту.

3. За допомогою хроматографічних методів аналізу в досліджуваних екстрактах ідентифіковано розмаринову та кавову кислоти, ізокверцитрин та апігенін.

4. Методом перманганатометричного титрування встановлено, що кількісний вміст окиснюваних фенолів в екстрактах становить від 6,13 % до 6,98 % залежно від виду екстрагенту. Методами спектрофотометрії встановлено, що вміст суми поліфенолів становить 7,29 – 8,65 %, вміст флавоноїдів, становить 1,17 – 1,37 %, та гідроксикоричних кислот – 5,38 – 7,97 % залежно від виду екстрагенту.

5. Встановлено, що внутрішньошлункове введення водного та водно-спиртових екстрактів трави в. лікарського у дозі 5000 мг/кг не приводить до загибелі тварин, а також до морфологічних та функціональних змін в їх організмі. Це свідчить про малотоксичність даних екстрактів і дає підставу віднести їх до сполук IV класу токсичності (К. К. Сидоров) – малотоксичні. Проведені дослідження протизапальної дії одержаних субстанцій вказують, що

екстракти АО-0 та АО-7 проявляють протизапальну активність. Найбільш виражену антиексудативну активність проявляє екстракт АО-7, пригнічуючи запальну реакцію на 17,28 %. Спосіб одержання екстракту трави в. лікарського протизапальною активністю захищено патентом України на корисну модель № 125931.

6. Вивчення противиразкової дії екстрактів трави в. лікарського на моделі гострої спиртово-преднізолонової виразки шлунка у щурів, проведене за показниками морфологічного, гістологічного та біохімічного досліджень, свідчить, що вказані екстракти мають противиразкову активність. Серед досліджуваних субстанцій найбільш виражену дію проявляє екстракт АО-5 (50 % етанол), противиразкова активність якого у дозі 50 мг/кг маси тіла тварини є на 16 % вищою від впливу препарату порівняння («Альтан», доза – 1 мг/кг маси тіла тварини).

7. Одержані дані щодо антимікробної та антифунгальної дії досліджуваних екстрактів вказують, що екстракти трави в. лікарського у концентрації 100 мг/мл проявляють незначний вплив на ріст переважної більшості патогенних та умовно-патогенних бактерій та грибів. Водночас, екстракт АО-5 має помірну дію щодо α -гемолітичного (*Streptococcus gordonii*), β -гемолітичного групи А (*Streptococcus pyogenes*) та β -гемолітичного групи G (*Streptococcus group G*) стрептококів. Найкращу дію щодо β -гемолітичного стрептококу групи G (*Streptococcus group G*) проявляє екстракт АО-7.

8. Встановлено перспективну субстанцію для стандартизації та розробки м'якої лікарської форми – АО-7 (70 % етанол), яка найбільш проявляє протизапальну та антимікробну дію, що забезпечується більшим вмістом фенольних сполук (з переважанням розмаринової кислоти) у порівнянні з АО-5 та АО-0.

9. Розроблено склад та запропоновано технологію мазі з екстрактом в. лікарського. Результати досліджень гострої токсичності даного препарату дають підстави віднести мазь з екстрактом в. лікарського до V класу токсичності (К. К. Сидоров) – практично нетоксичні. При нанесенні цієї мазі на

раневу поверхню репарація шкірного покриву прискорюється на 30 %, що свідчить про ранозагоювальну дію мазі.

РОЗДІЛ 5

РЕСУРСОЗНАВЧІ ДОСЛІДЖЕННЯ. СТАНДАРТИЗАЦІЯ СИРОВИНИ ТА РОЗРОБКА НОРМАТИВНОЇ ДОКУМЕНТАЦІЇ

Однією з домінуючих тенденцій розвитку світового фармацевтичного ринку є безперервне зростання частки використання лікарської рослинної сировини при виготовленні ліків. Відповідно до прогнозу фахівців Всесвітньої організації охорони здоров'я, в найближчі десять років така частка сягне 60% у загальних обсягах виробництва та споживання фармацевтичних препаратів [94]. Тому, відродження і подальший розвиток вітчизняного ринку лікарських рослин і фармацевтичних препаратів з них в найближчій перспективі має супроводжуватися створенням нових виробництв із заготівлі та переробки лікарської рослинної сировини, збільшенням обсягів та розширенням асортименту ліків природнього походження.

Вивчення потенційної сировинної бази є невід'ємною частиною процесу впровадження рослини у медичне використання, а отже потребує ґрунтового підходу для визначення закономірностей її розвитку та накопичення БАР.

Необхідними умовами використання рослинної сировини у медицині є її належна якість разом з доведеними безпекою та фармакологічною активністю. На сьогодні, базовим документом, який регламентує якість ЛРС в Україні є монографія ДФУ. Тому розробка методик контролю якості сировини з перспективою подальшого впровадження в медичну практику, є обов'язковим етапом дослідження.

5.1. Ресурсознавчі дослідження

Визначення особливостей зростання лікарських рослин є необхідним етапом у забезпеченні раціонального їх використання, збереження та відновлення в умовах постійного впливу антропогенних чинників. Оскільки зовнішнє середовище є основою існування рослинності, то вивчення їх

взаємозв'язку є важливою складовою частиною процесу дослідження такої взаємодії.

5.1.1. Дослідження умов зростання воловика лікарського та воловика високого у деяких регіонах України

Для встановлення місць та умов зростання в. лікарського та в. високого було проведено геоботанічні дослідження на території Івано-Франківської, Тернопільської, Закарпатської та Одеської областей [23]. Вони включали виявлення локалітетів ценопопуляцій *Anchusa* L., характеристику екологічних та фітоценотичних умов зростання *Anchusa officinalis* L. та *Anchusa procera* Bess., встановлених за допомогою методів та ресурсів наведених пункті 2.4. Об'єктами вивчення стали рослинні угруповання, їх склад, структура та умови зростання.

Вивчення умов зростання *A. officinalis* L. проводили на прикладі чотирьох локалітетів на території Івано-Франківської області (у Калуському та Тисменицькому районах), одного – в Тернопільській області (у Кременецькому районі) та одного – в Закарпатській області (у Виноградівському районі). Результати досліджень місць зростання в. лікарського наведено на рис 5.1.

У Калуському районі *A. officinalis* L. зростає на забур'янених місцях та похилих південно-східних схилах пагорбів поблизу с. Боднарів, с. Вістова, а також вздовж доріг на околицях м. Калуш. Вказаний локалітет знаходиться на висоті 230 - 303 м над рівнем моря, в межах Калуської западини Передкарпатського передгір'я та Прилуквинської височини. За геоботанічним районуванням дана територія належить до Передгорганського підрайону Болехівсько-Берегометського району Карпатського (Рахівсько-Турківсько-Берегометського) округу Східнокарпатської гірської підпровінції Центральноєвропейської провінції Європейської широколистянолісової області. В межах досліджуваних рослинних угруповань *A. officinalis* L. є співдомінантом. Рясність виду відповідає 3 за шкалою Браун-Бланке, середнє

проективне покриття виду в межах зарості – 30 %. Ґрунти – дернові опідзолені та оглеєні.



Рис. 5.1. Досліджувані локалітети зростання воловика лікарського

Разом із *A. officinalis* L. зростають: *Elytrigia repens* (L.) Nevski, *Lamium album* L., *Achillea submillefolium* Klok. et Krytzka, *Plantago media* L., *Vicia cracca* L., *Trifolium pratense* L., *Lactuca serriola* Torner, *Leucanthemum vulgare* Lam., *Holcus lanatus* L.

У Тисменицькому районі виявлено два локалітети виду: перший – на перелогах поблизу залізничної станції с. Хриплин та на забур'янених місцях в околицях м. Івано-Франківськ, другий – на крутих південних схилах пагорбів біля с. Підлісся та на забур'янених місцях біля с. Загвіздя. Вказані локалітети знаходяться на висоті 257 - 280 м над рівнем моря, в межах Бистрицької западини Передкарпатського передгір'я. За геоботанічним районуванням дана територія належить до Івано-Франківсько-Коломийського району Карпатського (Рахівсько-Турківсько-Берегометського) округу Східнокарпатської гірської підпровінції Центральноєвропейської провінції Європейської широколистянолісової області. В межах досліджуваних угруповань

A. officinalis L. є співдомінантом. Рясність виду відповідає 2 за шкалою Браун-Бланке, середнє проективне покриття виду в межах зарості – 20 %. Ґрунти – дернові середньо- і сильнопідзолисті поверхнево-оглєсні. Разом із *A. officinalis* L. зростають: *Cirsium arvense* (L.) Scop., *Elytrigia repens* (L.) Nevski, *Achillea submillefolium* Klok. et Krytzka, *Leucanthemum vulgare* Lam., *Artemisia absinthium* L., *Galium aparine* L., *Melilotus officinalis* (L.) Pall., *Vicia cracca* L., *Erigeron canadensis* L., *Plantago media* L.

У Кременецькому районі *A. officinalis* L. зростає на перелогах і крутих південних схилах пагорбів біля с. Млинівці, с. Устечко та с. Очеретне. Вказаний локалітет знаходиться на висоті 296 - 308 м над рівнем моря, в межах Волино-Подільської височини. За геоботанічним районуванням дана територія належить до Вишнівецького району Теофіпольсько-Ярмолинського (Північноподільського) округу Подільсько-Середньопридніпровської підпровінції Східноєвропейської провінції Європейсько-Сибірської лісостепової області. В межах досліджуваних ценозів *A. officinalis* L. є асектатором. Рясність виду відповідає + за шкалою Браун-Бланке. Ґрунти – темно-сірі опідзолєні. У досліджуваних угрупованнях також зростають *Elytrigia repens* (L.) Nevski, *Achillea submillefolium* Klok. et Krytzka, *Urtica dioica* L., *Plantago media* L., *Artemisia absinthium* L., *Betonica officinalis* L. s.l., *Salvia nutans* L., *Alchemilla acutiloba* Opiz, *Hedera helix* L., *Rubus caesius* L., *Cichorium intybus* L.

У Виноградівському районі *A. officinalis* L. зростає на забур'янєних місцях в околицях м. Виноградів. Вказаний локалітет знаходиться на висоті 130 - 136 м над рівнем моря, в межах Закарпатської низовини. За геоботанічним районуванням дана територія належить до Ужгородсько-Виноградівського району Закарпатського передгірного округу дубових і дубово-букових лісів Східнокарпатської гірської підпровінції Центральноєвропейської провінції Європейської широколистянолісової області. В межах досліджуваних ценозів *A. officinalis* є асектатором. Рясність виду відповідає 1 за шкалою Браун-Бланке. Ґрунти – дернові опідзолєні. У досліджуваних угрупованнях також зростають

Elytrigia repens (L.) Nevski, *Trifolium arvense* L., *Plantago media* L., *Echium vulgare* L., *Achillea submillefolium* Klok. et Krytzka, *Leucanthemum vulgare* Lam, *Cirsium arvense* (L.) Scop.

Вивчення умов зростання *A. procera* Bess. проводили на прикладі одного локалітету на території Одеської області (в Овідіопольському районі) (рис. 5.2).



Рис. 5.2. Досліджуваний локалітет зростання *A. procera* Bess.

A. procera Bess. зростає на перелогах, вздовж доріг та залізниць поблизу смт. Таїрове, с. Бурлача Балка та на забур'янених місцях в околицях м. Чорноморськ. Вказаний локалітет знаходиться на висоті 43 - 47 м над рівнем моря, в межах Причорноморської низовини. За геоботанічним районуванням дана територія належить до Біляївсько-Комінтернівського району Овідіопольсько-Баштансько-Апостолівського (Дністровсько-Дніпровського) округу, смуги типчаково-ковиливих степів Приазовсько-Чорноморської степової підпровінції Причорноморської (Понтичної) степової провінції Європейсько-Азіатсько степової області. В межах досліджуваних угруповань *A. procera* Bess. є співдомінантом. Рясність виду відповідає 3 за шкалою Браун-Бланке, середнє проективне покриття виду в межах зарості – 30 %. Ґрунти –

чорноземи південні малогумусні. Разом із *A. procera* зростають: *Cirsium arvense* (L.) Scop., *Elytrigia repens* (L.) Nevski, *Galium verum* L., *Achillea submillefolium* Klok. et Krytzka. Еколого-ценотичні умови зростання *A. officinalis* L. та *A. procera* Bess. наведені у табл. 5.1.

Таблиця 5.1

Еколого-ценотичні умови зростання воловика лікарського та воловика високого

Досліджуван- ний вид	Локалітет	Супутні види	Тип ґрунту
1	2	3	4
<i>A. officinalis</i> L.	Івано-Франківська область, Калуський район	<i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski, <i>Lamium album</i> L., <i>Achillea submillefolium</i> Klok. et Krytzka, <i>Plantago media</i> L., <i>Vicia cracca</i> L., <i>Trifolium pratense</i> L., <i>Lactuca serriola</i> Torner, <i>Leucanthemum vulgare</i> Lam., <i>Holcus lanatus</i>	Дернові опідзолені та оглеєні
	Івано-Франківська область, Тисменицький район	<i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop., <i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski, <i>Achillea submillefolium</i> Klok. et Krytzka, <i>Leucanthemum vulgare</i> Lam., <i>Artemisia absinthium</i> L., <i>Galium aparine</i> L., <i>Melilotus officinalis</i> (L.) Pall., <i>Vicia cracca</i> L., <i>Erigeron canadensis</i> L., <i>Plantago media</i> L.	Дернові середньо- і сильнопідзолисті поверхневооглеєні
	Тернопільська область, Кременецький район	<i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski, <i>Achillea submillefolium</i> Klok. et Krytzka, <i>Urtica dioica</i> L., <i>Plantago media</i> L., <i>Artemisia absinthium</i> L., <i>Betonica officinalis</i> L., <i>Salvia nutans</i> L., <i>Alchemilla acutiloba</i> Opiz, <i>Hedera helix</i> L., <i>Rubus caesius</i> L., <i>Cichorium intybus</i> L.	Темно-сірі опідзолені

Продовж. табл. 5.1

1	2	3	4
<i>A. officinalis</i> L.	Закарпатська область, Виноградівський район	<i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski, <i>Trifolium arvense</i> L., <i>Plantago media</i> L., <i>Echium vulgare</i> L., <i>Achillea submillefolium</i> Klok. et Krytzka, <i>Leucanthemum vulgare</i> Lam., <i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop.	Дернові опідзолені
<i>A. procera</i> Bess.	Одеська область, Овідіопольський район	<i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop., <i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski, <i>Galium verum</i> L., <i>Achillea submillefolium</i> Klok. et Krytzka	Чорноземи південні малогумусні

Дані табл. 5.1 вказують, що найчастіше в угрупованнях із *A. officinalis* L. та *A. procera* Bess. зростають *Elytrigia repens* (L.) Nevski та *Achillea submillefolium* Klok. et Krytzka.

В межах досліджуваних локалітетів було встановлено кліматичні характеристики. Аналізу підлягали середньорічна температура, максимальна і мінімальна температури в різні періоди вегетації, середня сума опадів за рік загалом та впродовж вегетаційного періоду зокрема, кількість днів без опадів впродовж вегетаційного періоду (табл. 5.2).

Таблиця 5.2

Кліматичні умови зростання воловика лікарського за 2013-2017 рр.

Локалітет	Середньорічна температура, °C	Середня температура у вегетаційний період*, °C						Середня сума опадів за рік / у вегетаційний період*, мм	Кількість днів опадів у вегетаційний період*
		квітень	травень	червень	липень	серпень	вересень		
I	8,4	9,2	13,8	17,3	19,1	18,7	14,2	674/461	67
II	8,8	9,8	14,5	18,1	19,9	19,4	14,5	681/458	95
III	8,6	9,5	14,8	18,0	20,1	19,6	14,7	326/212	41
IV	10,4	11,4	16,1	19,7	21,1	21,0	16,0	482/206	41
V	11,7	10,4	16,8	21,5	23,8	23,9	18,4	494/251	64

Примітки. * - період з початку квітня до кінця вересня.

- I – Івано-Франківська область, Калуський район;
 II – Івано-Франківська область, Тисменицький район;
 III – Тернопільська область, Кременецький район;
 IV – Закарпатська область, Виноградівський район;
 V – Одеська область, Овідіопольський район.

Екотопічні характеристики в. лікарського та в. високого наведені у табл. 5.3

Таблиця 5.3

Екотопічні характеристики досліджуваних видів

Критерій	<i>A. officinalis</i> L.	<i>A. procera</i> Bess.
Біоморф	Гемікриптофіт	
Гідроморф	Мезоксерофіт	
Термоморф	Мезотермофіт	Мегатермофіт
Геліоморф	Геліофіт	
Трофоморф	Мезотроф	
Екоценоморф	Синантропофант	

Дані табл. 5.3 вказують, що досліджувані види відрізняються лише за відношенням до теплового режиму. *A. officinalis* L. та *A. procera* Bess. є синантропними компонентами флори, котрі зростають як на біотопах, створених людиною, так і проникають у напівприродні угруповання [23].

5.1.2. Вивчення сировинних запасів

Облік недеревних рослинних ресурсів загалом та ресурсів лікарських рослин зокрема є визначальною умовою забезпечення їх раціонального використання та збереження [70, 81].

Визначення запасів трави в. лікарського та в. високого проводили в період цвітіння рослин у вищенаведених угрупованнях. Критеріями визначення були площа зарості та її урожайність [47, 69].

Урожайність, площу зарості, біологічний та експлуатаційний запаси сировини, а також можливий об'єм її щорічної заготівлі визначали за методикою, яка наведена в розділі 2.4. Результати визначення запасів трави в. лікарського та в. високого в межах досліджуваних ареалів наведено в табл. 5.4.

Результати наведені в табл. 5.4 вказують, що урожайність трави в. лікарського становить 15,64 – 50,5 г/м² повітряно-сухої сировини, в. високого – 65,13 – 69,03 %, залежно від місця зростання.

Таблиця 5.4

Запаси трави воловика лікарського та воловика високого в межах досліджуваних заростей

Номер зарості	Площа зарості, га	Урожайність (n = 5), г/м ²	Біологічний запас, кг	Експлуатаційний запас, кг	Обсяг можливої щорічної заготівлі, кг
1	0,03	43,07± 2,84	1,29	1,10	0,18
2	0,04	50,50± 1,51	2,02	1,72	0,34
3	0,07	35,63± 3,22	2,49	2,12	0,35
4	0,02	15,64± 2,12	0,31	0,26	0,04
5	0,04	20,37± 1,24	0,82	0,70	0,12
6	0,4	65,13± 0,83	26,05	22,14	3,69
7	0,7	69,03± 1,42	48,32	41,07	6,85

Примітка. 1 – Івано-Франківська область, Калуський район, околиці м. Калуш; 2 – Івано-Франківська область, Калуський район, с.Вістова; 3 – Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин; 4 – Тернопільська область, Кременецький район с. Млинівці; 5 – Закарпатська область, Виноградівський район околиці м. Виноградів; 6 – Одеська область, Овідіопольський район с. Бурлача Балка, 7 – Одеська область, Овідіопольський район, смт. Таїрове.

Зарості в. високого є більшими за щільністю та площею, а встановлений обсяг можливої щорічної заготівлі вказує на достатні сировинні запаси виду. Водночас, отримані дані щодо в. лікарського вказують, щодо запаси виду є

недостатніми для промислової заготівлі з метою виготовлення лікарських засобів. Оскільки у в. лікарському вміст шуканих груп БАР є вищим у порівнянні з в. високим, перспективним стає вивчення параметрів культивування цього виду.

5.1.3. Інтродукція та фенологічні дослідження воловика лікарського

Дослідження щодо вивчення можливості інтродукції в. лікарського в умовах Прикарпаття були проведені спільно із співробітниками Державного дендрологічного парку «Дружба» імені Зеновія Павлика Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника за угодою про співпрацю, за що висловлюємо подяку.

Проходження фенологічних фаз у в. лікарського в умовах вирощування на дослідних ділянках дендрологічного парку наведено у табл. 5.5.

Таблиця 5.5

Проходження фенологічних фаз у воловика лікарського в умовах вирощування на дослідних ділянках дендрологічного парку (2011 р.)

Поява справжніх листків	Бутонізація	Цвітіння			Плодоношення	
		початок	масове	кінець	дозрівання насіння	повна стиглість насіння
13.04	11.05	19.05	25.05	30.05	04.06	20.06

У процесі дослідження спостерігали, що в. лікарський потребує відкритих, сонячних місць, є вологолюбивим, при цьому небажаним є його замокання. Рослина краще росте на щільних нейтральних ґрунтах з рН 6-7. На кислих перезволожених і занадто рихлих ґрунтах, в. лікарський росте помітно гірше. Розмноження рослини можливе як насінням, так і розсадою. При розсадному методі особини висаджують на відстані 20 - 25 см одна від одної, в перші дні регулярно поливаючи. Рослина цілком невибаглива і холодостійка [24, 27].

З метою вивчення фенологічних особливостей розвитку в. лікарського на дослідних ділянках лікарських рослин кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету, у травні 2012 року материнські кущі в. лікарського висаджували на відкриті дослідні ділянки лікарських рослин. Тип ґрунту – дерново-середньопідзолистий поверхнево-оглеєний з гумусовим горизонтом 15 - 20 см у глибину. Внаслідок повільного стоку поверхневих вод та ущільненого ілювіального горизонту, ґрунт періодично надмірно зволожується [90].

Фенологічні спостереження за розвитком рослини проводили впродовж 2013-2017 рр. за такими фазами: поява справжніх листків, бутонізація, початок цвітіння, масове цвітіння, дозрівання насіння, повна стиглість насіння. Дослідження починали в квітні, спостереження за рослинами проводили двічі на тиждень. Результати спостережень у представлено в табл. 5.6 та в Додатку Х.

Таблиця 5.6

**Проходження фенологічних фаз розвитку воловика лікарського
в 2013 – 2017 рр.**

Рік спосте- реження	Поява справжніх листків	Бутоні- зація	Цвітіння		Плодоношення	
			початок	масове	дозрівання насіння	повна стиглість насіння
2013	21.04	17.05	27.05	06.06	16.06	03.07
2014	24.04	25.05	07.06	18.06	29.06	13.07
2015	15.04	11.05	19.05	26.05	10.06	26.06
2016	18.04	16.05	23.05	30.05	08.06	25.06
2017	28.04	01.06	14.06	24.06	05.07	17.07

Аналіз даних табл. 5.6 вказує на швидкий перебіг фаз розвитку в. лікарського в межах дослідних ділянок, що є характерним для всієї вибірки. Найшвидше розвиток рослини проходив у 2015 р, найповільніше – у 2017 р.

На основі даних Українського гідрометеорологічного центру та інформаційних серверів погоди, на досліджуваній території було

проаналізовано середньомісячний тип погодних умов за останні 10 років загалом та особливо в роки спостереження, зокрема [108].

Аналізу підлягали середньомісячна температура, середня сума опадів за місяць, кількість днів з опадами за місяць та відносна вологість повітря. Отримані дані наведено на рис. 5.3 – 5.6.

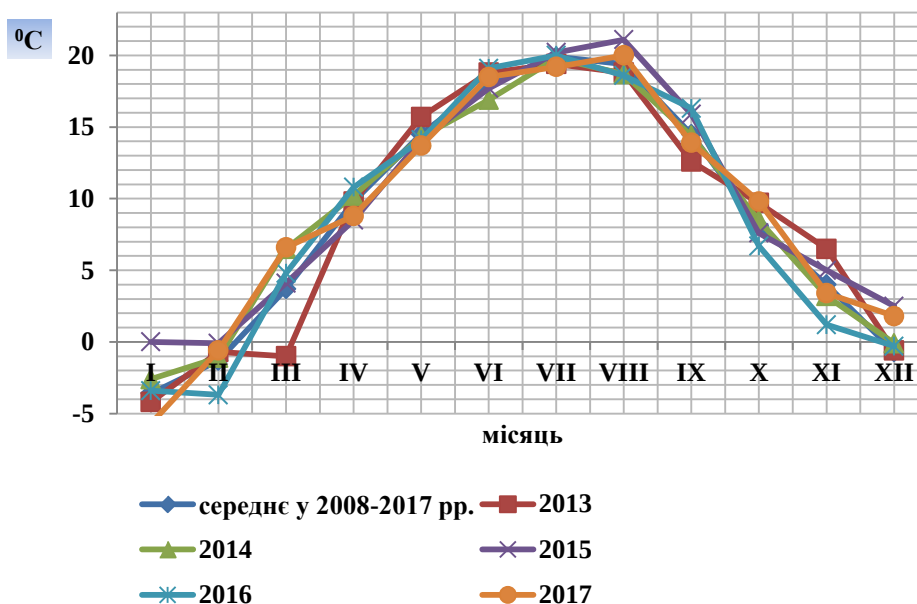


Рис. 5.3. Температура повітря в середньому у 2008 – 2017 рр.

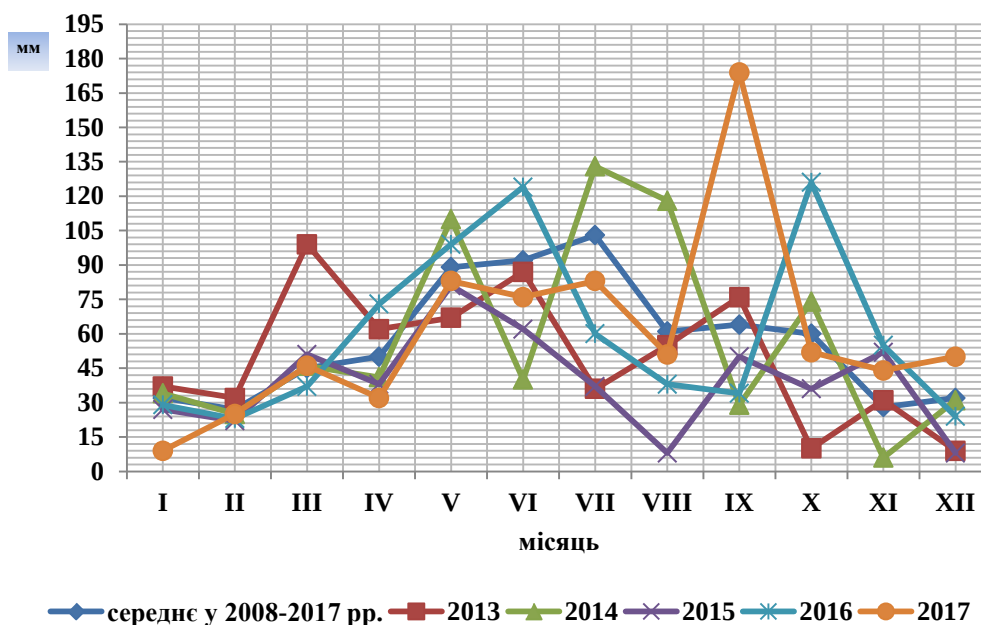


Рис. 5.4. Сума опадів в середньому у 2008 – 2017 рр.

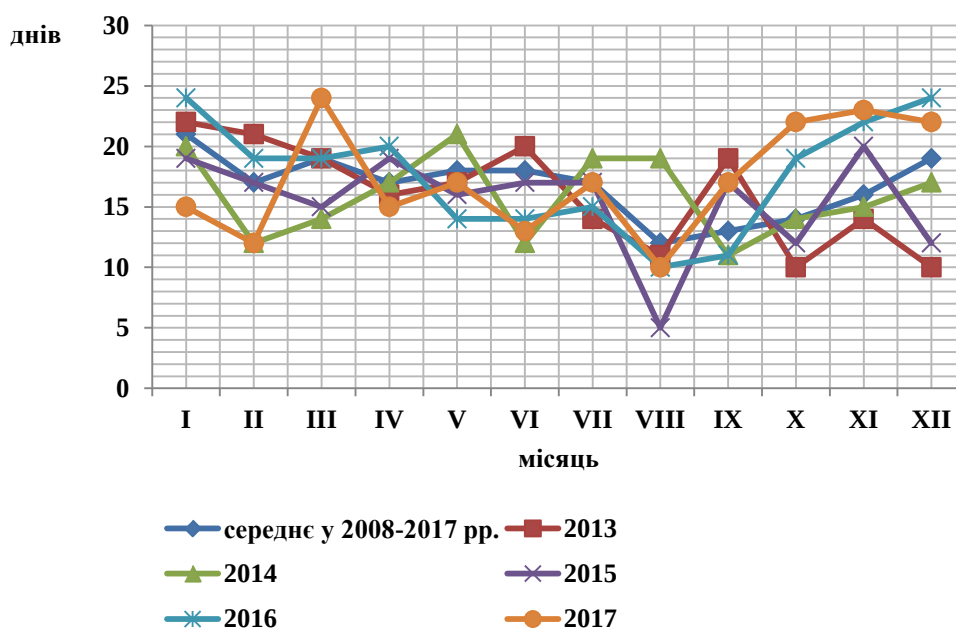


Рис. 5.5. Кількість днів з опадами в середньому у 2008 – 2017 рр.

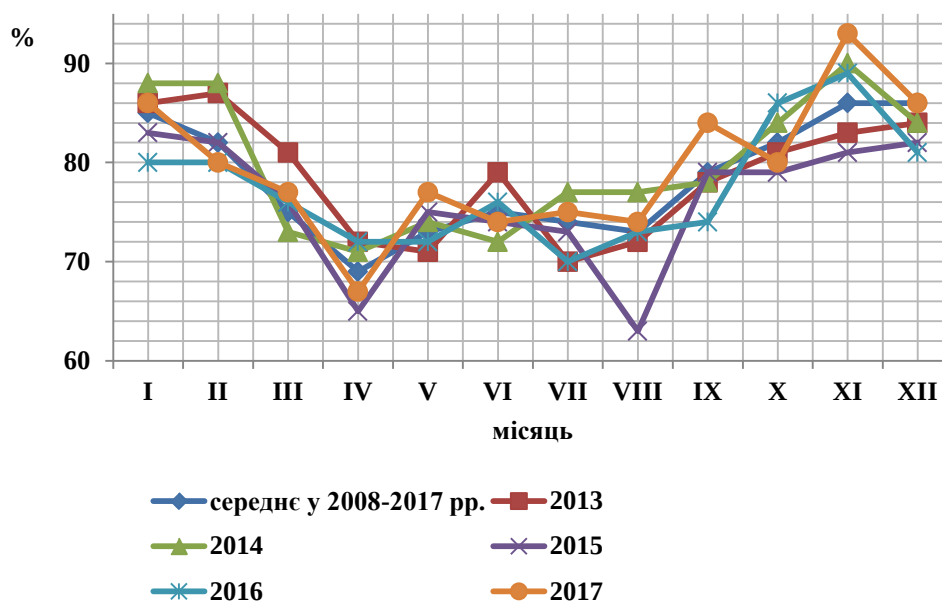


Рис. 5.6. Вологість повітря в середньому у 2008 – 2017 рр.

Аналіз даних рис. 5.3 – 5.6 вказує, що впродовж досліджуваного періоду найвища температура повітря, найменша кількість опадів та найнижча вологість спостерігалася в 2015 р. В цей же рік була найтепліша зима та найжаркіше літо. В той же час, в період вегетаційного розвитку рослини, найвища температура повітря спостерігалася в 2013 р. та 2016 р., найнижча – у 2017 р. Найбільшу кількість опадів зафіксовано для 2016 р., найбільшу кількість бездошових днів у вегетаційний період рослини – у 2017 р.

Надалі, проектуючи отримані дані на показники перебігу фенологічних фаз в. лікарського у 2013 - 2017 рр., можна зробити висновок, що на розвиток рослини впливає коливання температури повітря, та дещо менше – зволоження.

Таким чином, встановлено дані про настання фенологічних фаз у в. лікарського при вирощуванні на дослідних ділянках і вплив погодних умов на їх перебіг та визначено, що періодом найвищої активності розвитку рослини є квітень-липень, протягом яких спостерігається чітка послідовність фенологічних фаз.

5.2. Розробка показників якості трави в. лікарського

У зв'язку з розширенням арсеналу лікарських засобів рослинного походження необхідним є підвищення вимог до якості лікарської рослинної сировини та вдосконалення підходів до її аналізу, стандартизації та контролю якості [63]. Враховуючи дані фітохімічних досліджень в. лікарського та в. високого, а також встановлену можливість забезпечення достатньої сировинної бази, перспективною сировиною для стандартизації визначено траву в. лікарського.

5.2.1. Макро- та мікроскопічний аналіз сировини

Для розробки проекту Методів контролю якості на траву в. лікарського доцільно було провести порівняльний морфолого-анатомічний аналіз видів роду Воловик та встановити основні діагностичні ознаки трави в. лікарського.

Види роду Воловик – трав'янисті, одно- та багаторічні рослини, здебільшого густо вкриті шорсткими волосками. Листки чергові, цілісні, суцільнокрайні, без прилистків, лінійно- або довгасто-ланцетні. Квітки двостатеві правильні, рідко дещо неправильні, в однобічних спірально закручених гронах або колосках (завійках). Завійки розміщені поодинокі або парами на верхівці стебла, іноді утворюють складно-волоподібне,

щиткоподібне, колосоподібне або навіть голівчатє складне суцвіття. Чашечка зрослолиста, п'ятироздільна, при плодах здебільшого розростається. Віночок зрослопелюстковий з довгою трубочкою і п'ятилопатеvim, трубчастим, лійкоподібним або колесоподібним правильним, іноді помітно неправильним або майже двогубим відгином. При його основі є п'ять невеликих лусочок, розміщених супротивно до лопатей віночка і вкритих сосочками або пучками волосків. Тичинок п'ять, вони прикріплені до трубочки віночка. Маточка при основі з диском. Зав'язь верхня, чотиригнізда, рідко двогнізда, складається з двох плодолистиків, звичайно чотирилопатева, рідше суцільна. Стовпчик один, з цілісною або двороздільною приймочкою, довгий, якщо зав'язь чотирилопатева, або короткий, коли вона цілісна. Плід сухий, розпадається на чотири горішки зі зморшкуватою, горбочкуватою або вкритою гачкуватими шипиками поверхнею [26, 62, 79, 116, 135]. Відмінні діагностичні ознаки рослин роду Воловик флори України наведено в Додатку Й.

Проаналізувавши отримані дані, можна виділити такі відмінні ознаки вказаних видів: висота стебла (до 2 м) у в. високого; відносно м'яке опушення у в. вузьколистого та в. Баррельє, глибокоборозенчасте стебло у в. вузьколистого; сірий колір рослини (від надмірного опушення) у в. високого; лінійні листки у в. світло-жовтого та ланцетні у в. несправжньосвітло-жовтого; коротша від чашечки трубочка у в. Баррельє та значно довша (у два рази) у в. Гмеліна; жовтий віночок у в. світло-жовтого і в. несправжньосвітло-жовтого, голубий у в. італійського та в. Баррельє; кутасто-трикутні плоди у в. італійського, вузько-довгасті – у в. фесалійського та довгасті – у в. Баррельє.

Результати порівняльного морфолого-анатомічного дослідження *A. officinalis* L. та *A. procera* Bess. наведено в табл. 5.7.

Отримані дані вказують, що відмінними морфологічними діагностичними ознаками видів є довжина стебла, будова квіток та плодів. Анатомічними діагностичними ознаками видів є форма клітини епідермісу стебла та типи волосків. Особливості морфолого-анатомічної будови *A. officinalis* L. наведено в Додатку Ц.

Таблиця 5.7

Морфолого-анатомічні ознаки сировини видів роду *Anchusa* L.

Діагностичні ознаки	Види роду <i>Anchusa</i> L.	
	<i>A. officinalis</i> L.	<i>A. procera</i> Bess.
1	2	3
<i>Морфологічні ознаки</i>		
Стебло	30 – 100 см завв.	100 – 200 см завв.
	Прямостояче, розгалужене, густо вкрите відстовбурченими щетинками, розміщеними на дрібних білуватих горбочках	
Листки	Довгасто- чи лінійно- ланцетні, цілокраї, інколи по краю трохи хвилясті і нерівнодрібнозубчасті. Сидячі, по краю війчасті, напівстеблообгортні, коротко загострені, з обох боків, густіше зверху, вкриті білими горбочками, на яких розміщені волоски	
Квітки	На дуже коротких, густо опушених, після цвітіння відігнутих донизу квітконіжках, зібрані короткими густими завійками. Чашечка густоволосиста	
	Чашечка трохи більше, ніж досередини, розділена на загострені частки, при плодах дзвоникоподібна	Чашечка на чверть або до половини надрізана на частки, при плодах яйцеподібна
	Віночок фіолетовий	
	Трубочка віночка циліндрична, доверху трохи розширена, рівна або незначно довша від чашечки	Трубочка віночка розширена догори майже рівна чашечці
Плоди	Сірувато-бурі, косо-яйцеподібні, сітчасто-зморшкуваті і дрібно-горбочкуваті горішки	
	Із складчастим валиком навколо округленого і поглибленого рубчика	Із майже гладеньким валиком навколо рубчика
<i>Анатомічні ознаки</i>		
Епідерміс стебла	Клітини витягнуті овально-прямокутні	Клітини витягнуті овальні
	Поверхня вкрита кутикулою	
Епідерміс листка	Клітини верхнього епідермісу із слабохвилястими і рівномірно потовщеними стінками, нижнього – із сильнозвивистими стінками. Вздовж жилок клітини дрібні, в окремих ділянках їх оболонки вервичкоподібно потовщені. Продихи більше розміщені на нижньому епідермісі	

Продовж. табл. 5.7

1	2	3
Продиховий апарат	Аномоцитний тип	
Трихоми	Значна кількість	
	Одно- та багатоклітинні прості та залозисті. На верхній епідермі листка наявні головчасті волоски, на нижній – прості залозисті, по краю над жилками розміщені прості волоски, зігнуті у напрямку до верхівки листка	Одноклітинні прості та залозисті
Епідерміс пелюстки	Клітини із сильнозвивистими стінками і тонкою кутикулою. Внутрішня поверхня вкрита густо розташованими конусо-подібними сосочками. По всій поверхні наявні прості волоски	

На підставі проведених досліджень, запропоновано такі характеристики сировини:

За зовнішніми ознаками трава в. лікарського – це цільні або частково подрібнені стебла, листки, квітки (рис. 5.7, А). Стебло пряме, ребристе, вкрите відстовбурченими волосками, розміщеними на дрібних білих горбочках. Стеблові листки чергові, лінійно-ланцетні, цілокраї дещо хвилясті по краю, коротко загострені, сидячі, біля основи розширені і напівстеблообгортні, вкриті середньої жорсткості волосками, нижня поверхня густо вкрита білими горбочками. Квітки численні, двостатеві, правильні, зібрані короткими густими завійками. Чашечка густоволосиста, ближче до середини розділена на вузько-ланцетні, загострені частки. Віночок фіолетовий, з циліндричною, доверху трохи розширеною трубкою. Запах специфічний. Смак гіркий [25, 91]. Зовнішній вигляд подрібненої сировини представлено на рис 5.7, Б.

При мікроскопічному дослідженні встановлено такі ознаки сировини: у фрагментах порошку трави в. лікарського (рис. 5.8) можна ідентифікувати прямостінні клітини епідермісу стебла, звивистостінні клітини верхнього епідермісу листка, сильнозвивистостінні з продиховими комплексами аномоцитного типу – нижнього епідермісу, три типи волосків: головчастий, простий та залозистий та звивистостінні клітини пелюстки.

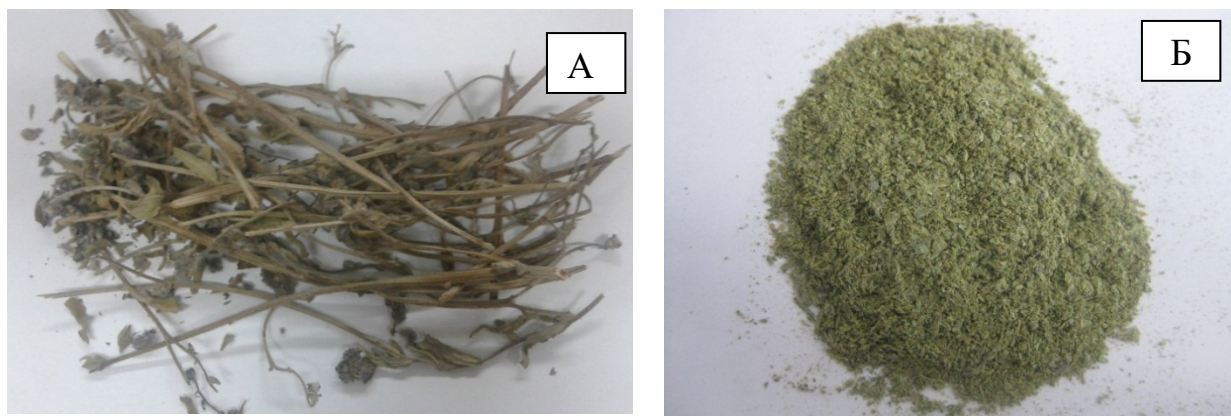


Рис. 5.7 Зовнішній вигляд сировини воловика лікарського: А – цільна сировина, Б – подрібнена сировина

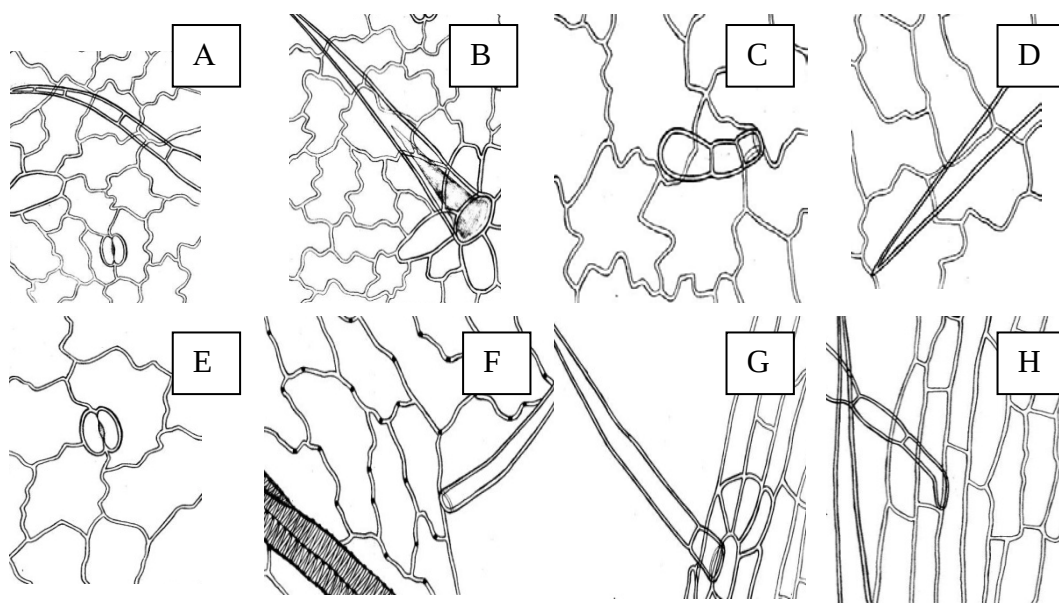


Рис. 5.8. Діагностичні ознаки воловика лікарського трави

- А – Нижній епідерміс листка із продиховим апаратом та багатоклітинним волоском
- В – Нижній епідерміс листка із залозистим волоском з припіднятою над поверхнею епідерми основою
- С – Верхній епідерміс листка із головчастим волоском
- Д – Верхній епідерміс листка із простим волоском
- Е – Верхній епідерміс листка із продиховим апаратом
- Ф – Епідерміс пелюстки біля жилки
- Г – Епідерміс стебла з простим волоском
- Н – Видовжено прямокутні клітини епідермісу стебла

5.2.2. Ідентифікація діючих речовин

Згідно вимог ДФУ експрес-методом ідентифікації діючих речовин рослинної сировини визначено ТШХ [33].

Випробовуваний розчин. До 1,0 г порошку трави в. лікарського додають 25 мл метанолу *P*, нагрівають на водяному нагрівнику зі зворотнім холодильником впродовж 1 год. Суміш охолоджують і фільтрують.

Розчин порівняння. 1,0 мг СЗ розмаринової кислоти, 1,0 мг СЗ кавової кислоти і 2,5 мг СЗ ізокверцитрину розчиняють у 10 мл метанолу *P*.

Пластинка: ТШХ пластинка із шаром силікагелю *P*.

Рухома фаза: кислота мурашина безводна *P* – вода *P* – етилацетат *P* (10:10:80).

Об'єм проб: по 20 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння, смугами.

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

Висушування: при температурі 100 - 105°C.

Виявлення: теплу пластинку обробляють розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру *P* у метанолі *P*, потім розчином 50 г/л макроголу 400 *P* у метанолі *P*, висушують впродовж 30 хв і переглядають в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм.

Результати: на хроматограмі розчину порівняння повинні виявлятися: у середній частині – жовта флуоресціююча зона (ізокверцитрин), у верхній частині – 2 блакитні флуоресціюючі зони (кавова кислота, та вище неї розмаринова кислота). На хроматограмі випробовуваного розчину повинні виявлятися жовта флуоресціююча зона на рівні зони ізокверцитрину на хроматограмі розчину порівняння; вище неї повинні виявлятися блакитна флуоресціююча зона, що відповідає зоні кавової кислоти на хроматограмі розчину порівняння; іще вище – блакитна флуоресціююча зона, що відповідає зоні розмаринової кислоти на хроматограмі розчину порівняння. На хроматограмі можуть проявлятися також інші зони.

5.2.3. Визначення числових показників доброякісності сировини

Визначення числових показників доброякісності рослинної сировини є важливим етапом в процесі одержання стандартних фітопрепаратів із заданим фармакотерапевтичним ефектом. Вміст БАР в різних органах рослин непостійний і залежить від низки факторів: умов та місця вирощування, фази, часу доби та погодних умов заготівлі, способу зберігання [110].

Верхня частина пластинки	
Блакитна флуоресціююча зона	Розмаринова кислота: флуоресціююча зона блакитного кольору
Блакитна флуоресціююча зона	Кавова кислота: флуоресціююча зона блакитного кольору
Жовта флуоресціююча зона	Ізокверцитрин: флуоресціююча зона жовтого кольору
Випробовуваний розчин	Розчин порівняння

Рис. 5.9. Схема хроматограми випробовуваного розчину трави в. лікарського та розчину порівняння

На основі результатів проведеного фітохімічного вивчення трави в. лікарського, вважаємо за доцільне стандартизувати сировину за фенольними сполуками, а саме гідроксикоричними кислотами.

Числові показники доброякісності трави в. лікарського визначали згідно методик розділів 2.2.1 та 2.5 за формулами 2.11 – 2.14 на основі аналізу 10 зразків сировини з різних місць зростання, заготовлених у різні роки. Отримані дані наведено в табл. 5.8.

Таблиця 5.8

Числові показники доброякісності сировини

Місце зростання	Сума гідроксикоричних кислот, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n=5	Втрата в масі при висушу-ванні, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n=5	Зола загальна, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n=5	Сторонні домішки, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n=5
1	1,80±0,04	10,61±0,08	15,20±0,11	4,4±0,1%* 1,4±0,1%**
2	1,95±0,08	10,82±0,10	15,11±0,32	2,9±0,2%* 1,4±0,1%**
3	1,33±0,10	10,69±0,17	14,27±0,29	2,7±0,1%* 1,2±0,1%**
4	1,34±0,07	10,70±0,03	14,90±0,21	2,4±0,1%* 1,2±0,1%**
5	1,97±0,15	10,57±0,22	15,10±0,21	4,6±0,2%* 1,4±0,1%**
6	2,24±0,07	10,18±0,14	15,27±0,03	3,9±0,2%* 1,6±0,1%**
7	2,19±0,05	10,90±0,07	15,30±0,09	4,2±0,2%* 1,6±0,2%**
8	2,28±0,02	10,21±0,19	14,97±0,29	3,4±0,1%* 1,4±0,1%**
9	1,89±0,13	8,86±0,11	14,72±0,15	2,0±0,1%* 1,1±0,1%**
10	1,44±0,09	9,95±0,03	15,01±0,20	3,0±0,2%* 1,7±0,1%**

Примітки: 1. 1 – Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова, 2016 р.; 2 – Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова, 2017 р.; 3 – Тернопільська область, Кременецький район, с. Млинівці, 2014 р.; 4 – Тернопільська область, Кременецький район, с. Млинівці, 2016 р.; 5 – Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин, 2013 р.; 6 – Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин, 2015 р., 7 – Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин, 2016 р., 8 – Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин, 2017 р., 9 – Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Загвіздя, 2012 р., 10 – Закарпатська обл., Виноградівський район, м. Виноградів, 2017 р.

2. * – вміст поживних, побурілих частин сировини; ** – вміст інших сторонніх домішок.

Аналіз табл. 5.8 вказує, що вміст гідроксикоричних кислот у сировині знаходиться в межах 1,33 – 2,28 %, втрата в масі при висушуванні – 8,86 – 10,90 %, загальна зола – 14,27 – 15,30 %, сторонніх домішок (пожовтілих, побурілих частин сировини та інших сторонніх домішок) – 2,0 – 4,6 % та 1,1 – 1,7 % відповідно.

Аналізу щодо відповідності вимогам проекту нормативної документації підлягали 5 зразків трави в. лікарського. Встановлено, що усі зразки відповідають вищезазначеним вимогам. Показники якості трави в. лікарського наведені в табл. 5.9.

5.2.4. Визначення терміну придатності сировини

З метою встановлення терміну придатності трави в. лікарського зразки сировини зберігали в сухому приміщенні при температурі 18 - 20°C впродовж 2012 – 2017 рр., проводячи її товарознавчий аналіз кожні 6 місяців (табл. 5.10). Результати аналізу табл. 5.10 вказують, що втрата в масі при висушуванні та кількісний вміст гідроксикоричних кислот у сировині впродовж трьох років суттєво не змінювалися. Тому, оптимальним терміном придатності трави в. лікарського можна вважати 3 роки.

На основі комплексу проведених досліджень розроблено та запропоновано Проект нормативної документації «Воловика лікарського трава» (Додаток Ш).

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в публікаціях [23 – 25, 27, 90, 91].

Таблиця 5.9

Параметри стандартизації трави воловика лікарського

№ зразка	Макроскопічні ознаки	Мікроскопічні ознаки	Ідентифікація	Втрата в масі при висушуванні	Вміст золи загальної	Вміст сторонніх домішок	Сума гідроксикоричних кислот
1	2	3	4	5	6	7	8
Проект МКЯ	Цільні або частково подрібнені стебла, листки, квітки. Стебло пряме, ребристе, вкрите відстовбурченими волосками, розміщеними на дрібних білих горбочках. Стеблові листки чергові, лінійно-ланцетні, цілокраї дещо хвилясті по краю, коротко загострені, сидячі, біля основи розширені і напівстеблообгортні, вкриті середньої жорсткості волосками, нижня поверхня густо вкрита білими горбочками. Квітки численні, двостатеві, правильні, зібрані короткими густими завійками. Чашечка густоволосиста, ближче до середини розділена.	Епідерміс стебла складається з одного шару прямокутних клітин, поверхня вкрита кутикулою. На поверхні його наявна значна кількість одно- та багатоклітинних простих та залозистих волосків. Клітини верхнього епідермісу листка із слабо-хвилястими і рівномірно потовщеними стінками, нижнього – сильнозвивистими стінками. Продири більше розміщені на нижньому епідермісі, оточені 3-4 побічними клітинами. Вздовж жилок епідермальні клітини дрібні, в окремих ділянках їх оболонки вервичкоподібно потовщені. На нижній та верхній	<i>Фенольні сполуки</i> ТШХ у порівнянні з СЗ розмаринової і кофейної кислот та ізокверцитрину. Рухома фаза: мурашина кислота безводна P : вода P : етилацетат P у співвідношенні 10:10:80. Проявлення після обробки розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру P у метанолі P , потім розчином 50 г/л макрогону 400 P у метанолі P , висушування впродовж 30 хв та перегляду в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм. На хроматограмі випробуваного розчину повинні виявлятися жовта флуоресціююча зона на рівні зони ізокверцитрину на хроматограмі розчину порівняння; вище неї – блакитна зона, що відповідає зоні кавової кислоти на хроматограмі розчину порівняння; іще вище – блакитна флуоресціююча зона, що	Не більше 11 %	Не більше 16 %	Не більше 5 % поживних, побурілих частин сировини; не більше 2 % інших домішок	Не менше 1,3%

Продовж. табл. 5.9

1	2	3	4	5	6	7	8
	на вузько-ланцетні, загострені частки. Віночок фіолетовий, з циліндричною, доверху трохи розширеною трубочкою. Запах специфічний. Смак гіркий	поверхні листка, по краю над жилками розміщені прості волоски, зігнуті у напрямку до верхівки листка, іноді помітні головчаті трихоми. Поверхня пелюстки вкрита епідермісом із сильнозвивистими стінками і тонкою кутикулою. Внут-рішня її поверхня вкрита густо розташованими конусоподібними сосочками	відповідає розмариновій кислоті на хроматограмі розчину порівняння. На хроматограмі можуть проявлятися також інші флуоресціюючі зони.				
1.	Відповідає	Відповідає	Відповідає	10,70 %	15,24 %		1,34 %
2.	Відповідає	Відповідає	Відповідає	10,90 %	15,31 %		2,19 %
3.	Відповідає	Відповідає	Відповідає	10,69 %	15,04 %		1,34 %
4.	Відповідає	Відповідає	Відповідає	10,60 %	15,20 %		1,95 %
5.	Відповідає	Відповідає	Відповідає	10,57 %	15,28 %		2,28 %

Таблиця 5.10

Результати аналізу показників якості трави воловика лікарського в процесі зберігання

Місце і рік заготівлі	Опис сировини	Ідентичність	Втрата в масі при висушуванні	Сума гідроксикоричних кислот, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n=5	Термін придатності, місяці	Висновок щодо зберігання
1	2	3	4	5	6	7
Вимоги проекту МКЯ	Цільні або частково подрібнені стебла, листки, квітки. Стебло пряме, ребристе, вкрите відстовбурченими волосками, розміщеними на дрібних білих горбочках. Стеблові листки чергові, лінійно-ланцетні, цілокраї дещо хвилясті по краю, коротко загострені, сидячі, біля основи розширені і напівстеблообгортні, вкриті середньої жорсткості волосками, нижня поверхня густо вкрита білими горбочками. Квітки численні, двостатеві, правильні, зібрані короткими	Відповідність вимогам проекту МКЯ	Не більше 11 %	Не менше 1,3 %	36 міс	Придатна

Продовж. табл. 5.10

1	2	3	4	5	6	7
	густими завійками. Чашечка густоволосиста, ближче до середини розділена на вузько-ланцетні, загострені частки. Віночок фіолетовий, з циліндрричною, доверху трохи розширеною трубкою. Запах специфічний. Смак гіркий					
Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова, 2016 р.	Відповідний —//— —//— —//— —//—	Позитивна —//— —//— —//— —//—	10,60 % 10,63 % 10,54 % 10,68 % 10,75 %	1,80 % 1,80 % 1,80 % 1,78 % 1,79 %	— 6 12 18 24	Придатна —//— —//— —//— —//—
Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова, 2017 р.	Відповідний —//— —//—	Позитивна —//— —//—	10,82 % 10,90 % 10,88 %	1,95 % 1,95 % 1,92 %	— 6 12	Придатна —//— —//—
Тернопільська область, Кременецький район, с. Млинівці, 2014 р.	Відповідний —//— —//— —//— —//— —//—	Позитивна —//— —//— —//— —//— —//—	10,69 % 10,65 % 10,70 % 10,69 % 10,76 % 10,81 %	1,33 % 1,33 % 1,32 % 1,32 % 1,32 % 1,29 %	— 6 12 18 24 30	Придатна —//— —//— —//— —//— —//—

Продовж. табл. 5.10

1	2	3	4	5	6	7
	--	--	10,87 %	1,31 %	36	--
	--	--	10,98 %	1,19 %	42	--
Тернопільська область, Кременецький район, с. Млинівці, 2016 р.	Відповідний -- -- -- --	Позитивна -- -- -- --	10,70 % 10,73 % 10,80 % 10,80 % 10,80 %	1,34 % 1,33 % 1,33 % 1,34 % 1,33 %	-- 6 12 18 24	Придатна -- -- -- -- --
Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин, 2013 р.	Відповідний -- -- -- -- -- -- --	Позитивна -- -- -- -- -- -- --	10,57 % 10,65 % 10,68 % 10,69 % 10,68 % 10,80 % 10,85 % 10,95 %	1,97 % 1,97 % 1,92 % 1,94 % 1,94 % 1,92 % 1,84 % 1,63 %	-- 6 12 18 24 30 36 42	Придатна -- -- -- -- -- -- -- --
Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин, 2015 р.	Відповідний -- -- -- -- -- --	Позитивна -- -- -- -- -- --	10,18 % 10,35 % 10,32 % 10,45 % 10,46 % 10,45 % 10,48 %	2,24 % 2,25 % 2,21 % 2,21 % 2,21 % 2,17 % 2,14 %	-- 6 12 18 24 30 36	Придатна -- -- -- -- -- -- --

Продовж. табл. 5.10

1	2	3	4	5	6	7
Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин, 2016 р.	Відповідний	Позитивна	10,90 %	2,19 %	–	Придатна
	–//–	–//–	10,90 %	2,19 %	6	–//–
	–//–	–//–	10,90 %	2,15 %	12	–//–
	–//–	–//–	10,94 %	2,17 %	18	–//–
	–//–	–//–	10,93 %	2,15 %	24	–//–
Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин, 2017 р.	Відповідний	Позитивна	10,21 %	2,28 %	–	Придатна
	–//–	–//–	10,21 %	2,29 %	6	–//–
	–//–	–//–	10,24 %	2,26 %	12	–//–
Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Загвіздя, 2012 р.	Відповідний	Позитивна	8,86 %	1,89 %	–	Придатна
	–//–	–//–	8,94 %	1,89 %	6	–//–
	–//–	–//–	8,94 %	1,89 %	12	–//–
	–//–	–//–	8,96 %	1,87 %	18	–//–
	–//–	–//–	9,03 %	1,86 %	24	–//–
	–//–	–//–	9,04 %	1,82 %	30	–//–
	–//–	–//–	9,04 %	1,82 %	36	–//–
	–//–	–//–	9,18 %	1,57 %	42	–//–
Закарпатська обл., Виноградівський р-н, м. Виноградів, 2017 р.	Відповідний	Позитивна	9,95 %	1,44 %	–	Придатна
	–//–	–//–	9,95 %	1,43 %	6	–//–
	–//–	–//–	9,96 %	1,44 %	12	–//–

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 5

1. Встановлено місця зростання в. лікарського та в. високого в 4 областях: Івано-Франківській, Тернопільській, Закарпатській та Одеській. Визначено, що *A. officinalis* та *A. procera* ростуть переважно в умовах помірного зволоження і відрізняються лише за відношенням до теплового режиму. Вказані види є синантропними компонентами флори, котрі зростають як на біотопах, створених людиною, так і проникають у напівприродні угруповання. Найчастіше в угрупованнях із *A. officinalis* та *A. procera* зростають *Elytrigia repens* (L.) Nevski та *Achillea submillefolium* Klok. et Krytzka.

2. Проведено вивчення сировинних запасів вказаних видів. Визначено, що зарості в. високого є значними за щільністю та площею. Встановлений обсяг можливої щорічної заготівлі вказує на достатні сировинні запаси цього виду. Водночас, отримані дані щодо в. лікарського вказують, що запаси виду є недостатніми для промислової заготівлі, тобто він потребує введення в культуру. Оскільки у в. лікарському вміст шуканих груп БАР є вищим у порівнянні з в. високим, перспективним стає вивчення можливості культивування цього виду.

3. Проведено фенологічні спостереження за розвитком в. лікарського на дослідних ділянках Івано-Франківського національного медичного університету та встановлено основні параметри його інтродукції. Встановлено, що в. лікарський потребує відкритих сонячних місць, є вологолюбивим, але при цьому небажаним є його замокання. Рослина краще росте на щільних нейтральних ґрунтах з рН 6-7.

4. Вивчено числові показники доброякісності трави в. лікарського та встановлено параметри стандартизації сировини: втрата в масі при висушуванні – не більше 11 %, вміст загальної золи – не більше 16 %, сторонніх домішок (пожовтілих, побурілих частин сировини та інших сторонніх домішок) – не більше 5 % та 2 % відповідно, вміст гідроксикоричних кислот у сировині повинен становити не менше 1,3 %.

5. Вперше проведено порівняльне морфолого-анатомічне дослідження видів роду Воловик. Встановлено, що морфологічними діагностичними ознаками є довжина стебла, колір та будова квіток і плодів. Анатомічними діагностичними ознаками є форма клітини епідермісу стебла та типи волосків.

6. На основі моніторингу показників якості сировини встановлено термін придатності трави в. лікарського – 3 роки. За результатами проведених досліджень розроблено проекти МКЯ «Воловика лікарського трава», «Воловика лікарського екстракт сухий» та проект інструкції із заготівлі та сушіння трави в. лікарського.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення та експериментальне вирішення наукових завдань, які полягають у пошуку джерел БАР рослинного походження для створення нових лікарських засобів. Встановлено якісний склад і кількісний вміст основних груп БАР рослин роду Воловик, одержано екстракт та лікарську форму на його основі, досліджено їх фармакологічну активність, визначено можливості для забезпечення сировинної бази, розроблено проекти МКЯ на сировину та одержаний екстракт.

1. В результаті проведеного фітохімічного аналізу у траві та коренях в. лікарського і в. високого ідентифіковані фенольні сполуки, вуглеводи, тритерпеноїди, стероїди та карбонові кислоти.

2. Вперше методом адсорбційної хроматографії на силікагелі та поліамідному сорбенті з трави в. лікарського виділено 20 сполук, які ідентифіковані на основі їх фізико-хімічних властивостей – це 3 фенолкарбонові кислоти, 3 гідроксикоричні кислоти, 6 флавоноїдів, 4 тритерпеноїди, 1 стероїдна сполука, 2 хлорофіли та 1 азотовмісна сполука.

3. Вперше методом ВЕРХ у сировині в. лікарського ідентифіковано та визначено вміст 14 сполук, з них 3 гідроксикоричні кислоти, 4 флавоноїди та 7 танінів. Встановлено, що домінуючою сполукою серед ідентифікованих гідроксикоричних кислот у траві та коренях в. лікарського є розмаринова кислота – 4558,86 мг/кг (0,46 %) та 1964,66 мг/кг (0,2 %) сухої сировини відповідно, серед ідентифікованих флавоноїдів переважаючою сполукою у траві в. лікарського є ізокверцитрин – 256,0 мг/кг (0,03 %), у коренях – апігенін – 389,54 мг/кг (0,04 %) сухої сировини, танінів – епігалокатехін – 21864,28 мг/кг (2,2 %) та 29850,06 мг/кг (3,0 %) сухої сировини відповідно.

4. Вперше методом ГХ/МС у траві в. лікарського ідентифіковано 7 жирних кислот: 2 поліненасичені – лінолева, γ -ліноленова та 5 насичених – пальмітинова, стеаринова, арахінова, бегенова, лігноцеринова; 4 фітостероли: ситостерол, кампестерол, стигмаста-5,24(28)-дієн-3-ол, стигмастерол та

12 сполук леткої фракції: спирти – 2-гептанол, 3-гептанол та ароматичний монотерпеноїд тимол, альдегіди – 2,4,5-триметилбензальдегід, гексадеканаль, α -гексацинамоновий альдегід, кетони – 2-гептанон, нортерпеноїд β -іонон, похідні сесквітерпеноїдів: гексагідрофарнезилацетон та фарнезилацетон, аліфатичний вуглеводень – октакозан та трициклічний сесквітерпеноїд лонгіфолен. Переважаючою речовиною серед жирних кислот трави в. лікарського є ліноленова кислота – 2696,36 мг/кг (0,27 %), серед фітостеролів – ситостерол – 133,08 мг/кг, серед сполук леткої фракції – монотерпеновий фенол – тимол – 29,81 мг/кг та похідне сесквітерпену – гексагідрофарнезилацетон – 27,67 мг/кг сухої сировини.

5. Вперше методом атомно-абсорбційної спектrophотометрії встановлено елементний склад трави та коренів в. лікарського і в. високого та визначено вміст 19 макро- та мікроелементів. У досліджуваній сировині виявлено значний вміст кальцію – 8111,18 – 8134,10 мг/кг та магнію – 1549,13 – 1586,04 мг/кг сухої сировини. Вміст важких металів знаходиться в дозволених межах (ДФУ 2.0 – 2.4.27).

6. Вперше визначено кількісний вміст груп БАР у траві та коренях в. лікарського та в. високого. Встановлено, що сировина досліджуваних видів містить від 1,85 % до 3,53 % окиснюваних фенолів, 1,39 – 2,39 % органічних кислот, 2,23 – 3,81 % суми поліфенолів, 1,01 – 2,14 % танінів, 0,21 – 0,45 % флавоноїдів, 1,09 – 2,19 % гідроксикоричних кислот, 0,71 – 8,40 % полісахаридів, 0,77 – 4,12 % слизу. Встановлено, що кількісний вміст груп БАР більше відрізняється за видами сировини і менше – за місцем зростання видів. Вперше з в. лікарського виділено фракції ВПРС, ПР, ГЦ А і Б. Вміст ВПРС у траві та коренях рослини становить 8,24 % та 0,72 %, ПР – 4,27 % та 0,14 %, ГЦ А – 32,29 % та 12,26 %, ГЦ Б – 6,09 % та 4,42 % від маси сухої сировини відповідно, що свідчить про значну відмінність вмісту фракцій вуглеводів у надземних та підземних органах в. лікарського.

7. Розроблено технологічні параметри екстракції БАР з трави в. лікарського та проведено скринінгове дослідження фармакологічних ефектів

отриманих екстрактів. Встановлено, що екстракти трави в. лікарського є нетоксичними та виявляють протизапальну, противиразкову та антимікробну дію (патент України № 125931 від 25.05.2018 р.). Розроблено склад та технологію мазі з екстрактом трави в. лікарського. Встановлено, що одержана лікарська форма є нетоксичною та виявляє ранозагоювальну дію.

8. Встановлено місця зростання в. лікарського та в. високого в 4 областях: Івано-Франківській, Тернопільській, Закарпатській та Одеській. Вивчено виявлені фітоценози та визначено сировинні запаси видів. Встановлений обсяг можливої щорічної заготівлі вказує на достатні сировинні запаси в. високого та недостатні для промислової заготівлі запаси в. лікарського. Встановлено основні параметри інтродукції в. лікарського на дослідних ділянках.

9. Вивчено числові показники доброякісності трави в. лікарського та встановлено параметри стандартизації сировини: втрата в масі при висушуванні – не більше 11 %, вміст загальної золи – не більше 16 %, сторонніх домішок (пожовтілих, побурілих частин сировини та інших сторонніх домішок) – не більше 5 % та 2 % відповідно, вміст гідроксикоричних кислот у сировині повинен становити не менше 1,3 %. Вперше проведено порівняльне морфолого-анатомічне дослідження видів роду Воловик. Встановлено, що морфологічними діагностичними ознаками є довжина стебла, колір та будова квіток і плодів. Анатомічними діагностичними ознаками є форма клітини епідермісу стебла та типи волосків.

10. На основі моніторингу показників якості сировини встановлено термін придатності трави в. лікарського – 3 роки. За результатами проведених досліджень розроблено проекти МКЯ «Воловика лікарського трава», «Воловика лікарського екстракт сухий» та проект інструкції із заготівлі та сушіння трави в. лікарського.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бабій О. В., Ващенко К. Ф., Ващенко О. О. Вивчення вивільнення аміксіну з м'яких лікарських засобів. *Український біофармацевтичний журнал*. 2014. № 1 (30). С. 46–50.
2. Бейдеман И. Н. Методика изучения фенологи растений и растительных сообществ. Новосибирск : Наука, 1974. 155 с.
3. Біоактивність неорганічних сполук: навч. посібн. для аудит. та самост. роботи студентів / за ред. Є. Я. Левітіна. Харків : НФаУ, 2017. 83 с.
4. Біоетична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах: методичні рекомендації / О. Г. Резніков, А. І. Соловйов, Н. В. Добреля, О. В. Стефанов. Київ: Інститут фармакології і токсикології АМН України, Державний Фармакологічний Центр МОЗ України, 2016. 28 с.
5. Биологически активные вещества лекарственных растений / В. П. Георгиевский, Н. Ф. Комиссаренко, С. Е. Дмитрук. Новосибирск: Наука, Сиб. от-ние, 1990. 333 с.
6. Бурлака І. С., Кисличенко В. С. Дослідження гідроксикоричних кислот *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth. *Вісник фармації*. 2013. 1 (73). С. 51–53.
7. Бурцева О. В., Тернинко І. І. Вивчення полісахаридного складу *Avena sativa* L. *Вісник фармації*. 2010. 2(62). С. 46–48.
8. Визначник рослин Українських Карпат / за ред. В. І. Чопика. Київ: Наукова думка, 1977. 434 с.
9. Визначник рослин України / за ред. Д. Зерова. Київ: Урожай, 1965. 878 с.
10. Выделение и анализ природных биологически активных веществ / под. ред. Е. А. Краснова. Томск: Изд-во Томского университета, 1987. 184 с.
11. Вронська Л. В., Демид А. Є. Дослідження щодо стандартизації трави меліси лікарської. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2014. (34). С. 10–15.

- 12.Гамор Ф. Д., Гамор А. Ф., Антосяк Т. М. Регіональний Червоний список судинних рослин Закарпаття та деякі практичні аспекти їх охорони. *Науковий Вісник Ужгородського університету. Серія: Біологія.* 2009. Вип. 25. С. 89–107.
- 13.Геоботанічне районування УРСР. Київ: Наук. думка, 1977. 304 с.
- 14.ГЕО-інформаційний сервіс GIS File. URL: <http://gisfile.com>
- 15.Гланц С. Медико-биологическая статистика: пер. с англ. Москва: Практика, 1998. 459 с.
- 16.Гонтова Т. М. Амінокислотний склад густих екстрактів з трави та коренів живокосту шорсткого. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* 2013. №2 (12). С. 4–5.
- 17.Государственная Фармакопея СССР : вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. МЗ СССР. 11-е изд., доп. Москва: Медицина, 1989. 400 с.
- 18.Гризодуб А. И., Евтифеева О. А., Проскурина К. И. Особенности фармакопейных подходов к количественному определению лекарственного растительного сырья и суммарных фитопрепаратов. *Фармаком.* 2012. № 3. С. 7–31.
- 19.Грисюк Н. М., Гринчак И. Л., Елин Е. Я. Дикорастущие пищевые, технические и медоносные растения Украины. Киев: Урожай, 1989. 200 с.
- 20.Грицик А. Р., Водославський В. М., Мельник М. В. Фармакогнозія і ресурсознавство лікарських рослин: навчальний посібник. Івано-Франківськ: ПП Голіней, 2017. 228 с.
- 21.Грицик А. Р., Свірська С. П. Доказова фармація: дослідження екстракту трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.). *Український вісник психоневрології.* 2013. Т. 21, №. 2 (75), додаток. С. 93–94.
- 22.Грицик А. Р., Свірська С. П. Дослідження вуглеводів воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.). *Медична та клінічна хімія.* 2018. Т. 20, №2 (75). С.45–50.

23. Грицик А. Р., Свірська С. П. Дослідження умов зростання *Anchusa officinalis* L. та *Anchusa procera* Bess. у деяких регіонах України. *Фармаком*. 2018. №1. С. 77–81.
24. Грицик А. Р., Свірська С. П., Козак Т. І. Розповсюдження рослин роду Воловик в Україні та дослідження можливості їх інтродукції. *Фітоанітерапія: здобутки і перспективи*: матеріали міжнародної науково-практичної конференції, Ужгород, 20–21 квітня 2012 р. Ужгород, 2012. С. 267–269.
25. Грицик А. Р., Свірська С. П. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.). *Фармаком*. 2016. №3, додаток. С. 117–123.
26. Грицик А. Р., Свірська С. П. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2012. №3. С. 174–181.
27. Грицик А. Р., Свірська С. П. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія. Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г. М., 2017. 109 с.
28. Грицик Л. М., Тучак Н. І., Грицик А. Р. Ідентифікація та кількісне визначення органічних кислот у траві видів Приворотня. *Фармацевтичний журнал*. 2013. № 3 (16). С. 83–87.
29. Дайнеко Н. М., Шукова Е. В. Опыт выращивания анхузы лекарственной (*Anchusa officinalis* L.) в культуре. *Вісник Київського національного університету імені Т. Шевченка*. Серія: Інтродукція та збереження рослинного різноманіття. 2009. Вип. 25/27. С. 50–52.
30. Дари лісів / Ю. Я. Єлін, М. Я. Зерова, В. І. Лушпа, С. І. Шабарова. Київ: Урожай, 1979. С. 236–237.
31. Державна Фармакопея України. 2-е вид. в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Харків, 2015. Т. 1. 1128 с.
32. Державна Фармакопея України. 2-е вид. в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Харків, 2014. Т. 2. 690 с.

33. Державна Фармакопея України. 2-е вид. в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Харків, 2014. Т. 3. 732 с.
34. Дідух Я. П., Шеляг-Сосонко Ю. Р. Геоботанічне районування України та суміжних територій. *Український ботанічний журнал*. 2003. Том 60, № 1. С. 6–11.
35. Довідник назв рослин України. URL: <http://econtsh.astra.in.ua/system.php?lang=ua>
36. Дослідження фенольних сполук спиртового екстракту з листя брусниці звичайної / М. А. Комісаренко, А. С. Гейдерих, А. М. Ковальова, О. М. Кошовий. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2012. Т. 7, №2. С. 24–26.
37. Дослідження фенольних сполук листя шавлії лікарської / О. М. Кошовий, Є. О. Передерій, А. М. Ковальова [та ін.]. *Фармацевтичний часопис*. 2010. № 1. С. 17–9.
38. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів / В. М. Коваленко, О. В. Стефанов, Ю. М. Максимов, І. М. Трахтенберг. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / за ред. О. В. Стефанова. Київ: Авіцена, 2001. С. 74–97.
39. Експериментальне вивчення нових противиразкових препаратів / Л. В. Яковлева, Г. В. Оболенцева, Л. П. Брюзгінова. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / за ред. О. В. Стефанова. Київ: Авіцена, 2001. С. 321–333.
40. Експериментальне (доклінічне) вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як нестероїдні протизапальні засоби / С. М. Дроговоз, І. А. Зупанець, М. А. Мохорт, Л. В. Яковлева та ін. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / за ред. О. В. Стефанова. Київ: Авіцена, 2001. С. 292–306.
41. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Офіційний переклад. Страсбург, 1986. URL: http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/994_137

42. Заіменко Н. В., Іваницька Б. О. Вплив органічних кислот на ростові процеси рослин різних екоморфотипів. *Інтродукція рослин*. 2013. № 3. С. 108–114.
43. Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». URL: <http://zakon5.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>
44. Залигіна Є. В., Подплетня О. А. Скринінгове дослідження противиразкової активності густих екстрактів з незрілих плодів горіха волоського. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2016. № 6 (51). С. 47–52.
45. Залыгина Е. В., Подплетняя Е. А. Исследование противоязвенной активности густого экстракта незрелых плодов грецкого ореха на модели диклофенак-индуцированной язвы желудка крыс. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2017. Т. 10, №3 (25). С. 324–328.
46. Затильнікова О. О. Елементний склад *Iris sibirica* L. *Український медичний альманах*. 2013. Том 16, № 2. С. 30–31.
47. Зузук Б. М., Зузук Л. Б. Ресурсознавство лікарських рослин: підручник для студентів фармац. факультетів. Вінниця: Нова книга, 2009. 144 с.
48. Ісюк М. В., Бензель І. Л., Бензель Л. В. Дослідження амінокислотного складу герані сибірської. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2012. №3 (10). С. 4–6.
49. Карбушева І. В., Гладух Є. В. Вивчення впливу альтану і салазопіридазину на функціональну активність шлунково-кишкового тракту. *Клінічна фармація*. 2002. Т.6, №2. С. 66–69.
50. Каталог декоративних трав'янистих рослин ботанічних садів і дендропарків України: довідниковий посібник / за ред. С. П. Машковської. Київ, 2015. 282 с.
51. Кацуба І. К., Кисличенко В. С., Новосел О. М. Дослідження фенольних сполук листя мати-й-мачухи. *Український медичний альманах*. 2011. Т. 14, № 6. С. 92–94.

- 52.Кисличенко В. С., Новосел О. М., Абуьюсеф А. Вивчення полісахаридів плодово-ягідних рослин – яблуні домашньої та винограду культурного. *Фізіологічно активні речовини*. 2001. №1 (31). С. 70–73.
- 53.Кількісне визначення органічних кислот у траві *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. / Н. Є. Бурда, І. О. Журавель, В. С. Кисличенко, В. Б. Демьохін. *Український біофармацевтичний журнал*. 2010. № 1(6). С. 59–61.
- 54.Ковальов С. В. *Rubus candicans* Weihe як джерело флавоноїдів. *Фармаком*. 2013. № 1. С. 24 – 27.
- 55.Комендар В. І. Лікарські рослини Карпат. Ужгород: Мистецька Лінія, 2007. 504 с.
- 56.Кононенко Н. М., Шейхалі А. М. Репаративні властивості нового комбінованого крему на моделі термічних пошкоджень шкіри у щурів. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2017. №1 (5). С. 16–21.
- 57.Курта С. А. Природні вуглеводи та полісахариди: навчальний посібник. Івано-Франківськ: Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника, 2012. 100 с.
- 58.Куцик Р. В. Скринінгове дослідження протимікробної активності лікарських рослин Прикарпаття відносно поліантибіотикорезистентних клінічних штамів стафілококів. Повідомлення 1. *Галицький лікарський вісник*. 2004. Т11, №4. С. 44–48.
- 59.Лавренова Г. В., Лавренов В. К. Энциклопедия лекарственных растений. Донецк: Донецчина, 1997. Т. 1. 656 с.
- 60.Лавренова Г. В., Лавренов В. К., Лавренов Ю. В. Лекарственные растения для вас. Донецк: Донецчина, 1994. 352 с.
- 61.Лапач С. М., Чубенко А. В., Бабіч П. М. Статистичні методи в медико-біологічних дослідженнях із застосуванням Excel. Київ: МОРІОН, 2000. 320 с.
- 62.Лікарські рослини: енциклопедичний довідник / відп. ред. А. М. Гродзінський. Київ: Українська енциклопедія імені М. П. Бажана, 1992. С. 93.

63. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати: навч. посіб. з фармакогнозії з основами біохімії лікар. рослин / Н. М. Солодовниченко, М. С. Журавльов, В. М. Ковальов, В. С. Кисличенко. Харків: Вид-во НФаУ, Золотые страницы, 2010. 418 с.
64. Луценко Ю. О., Дармограй Р. Є., Сімонов М. Р. Дослідження амінокислотного складу листя плюща звичайного. *Запорожский медицинский журнал*. 2010. Т. 12. №3. С. 110–112.
65. Макро- та мікроелементи (обмін, патологія та методи визначення): монографія / Погорєлов М. В., Бумейстер В. І., Ткач Г. Ф. та ін. Суми : Вид-во СумДУ, 2010. 147 с.
66. Марчишин С. М., Сушко Н. О. Лікарські рослини Тернопільщини. Тернопіль: Навчальна книга, Богдан, 2007. С. 142–143.
67. Марчишин С. М., Шанайда М. І., Дуб А. І. Органічні кислоти надземної частини видів *Ocimum L.* *Фармацевтичний часопис*. 2014. №4. С. 13–16.
68. Мацку Я., Крейча И. Атлас лекарственных растений. Более двухсот растений, нарисованных с натуры. Братислава: Изд-во Словацкой Академии Наук, 1970. 230 с.
69. Методичні аспекти моніторингу недеревних рослинних ресурсів / В. М. Мінарченко, І. А. Тимченко, Л. А. Глущенко, Л. М. Сивоглаз. *Агроекологічний журнал*. 2008. № 3. С. 32–36.
70. Мінарченко В. М. Державний кадастр рослинного світу. Збереження і стале використання біорізноманіття України: стан, перспективи та заходи вдосконалення. Київ: Фітосоціоцентр, 2003. С. 147–152.
71. Мойсієнко І. І. Флора Північного Причорномор'я (структурний аналіз, синантропізація, охорона). Додатки: дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук. Київ, 2011. 362 с.
72. Наказ МОЗ України N 8 від 15.01.2003 «Про затвердження переліків допоміжних речовин та барвників, дозволених для застосування у виробництві лікарських засобів, що (лікарські засоби) реєструються в Україні та виготовляються в аптечних умовах за рецептами лікарів і

- замовленнями лікувально-профілактичних закладів» URL: <http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/z0069-03/page>
73. Наказ МОЗ України № 613 від 03.09.2014 «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при пептичній виразці шлунка та дванадцятипалої кишки».
 74. Настанова: Лікарські засоби. Належна практика культивування та збирання вихідної сировини рослинного походження СТ-Н МОЗУ 42-4.5:2012.
 75. Нормування біофармацевтичних аспектів розробки препаратів на основі рослинної сировини / А. Р. Грицик, С. П. Свірска, Т. Г. Стасів, Н. І. Ференц. *Біофармацевтичні особливості створення лікарських препаратів в аспекті їх медичного застосування: матеріали науково-практичної інтернет-конференції*. Харків: Вид-во НФаУ, 2011. С. 3.
 76. Олейнікова О. М. Садові декоративні рослини. Харків: «Веста», 2010. 144 с.
 77. Определитель бактерий Берджи: в 2 т. 9-е изд. Справочник: пер. с англ. / под ред. Д. Хоулт, Н. Криг, П. Снит. Москва: Мир, 1997. Т.1. 432 с.
 78. Определитель бактерий Берджи: в 2 т. 9-е изд. Справочник: пер. с англ. / под ред. Д. Хоулт, Н. Криг, П. Снит. Москва: Мир, 1997. Т.2. 368 с.
 79. Определитель высших растений Украины / Ю. Н. Прокудин, М. И. Котов, Д. Н. Доброчаева. Київ: Наукова думка, 1987. С. 272–273.
 80. Офіційні переліки регіонально рідкісних рослин адміністративних територій України (довідкове видання). Київ: ТОВ «Альтерпрес», 2012. 149 с.
 81. Парпан В. І., Мінарченко В. М., Буськанюк М. В. Застосування методу екстраполяції для оптимізації обліку ресурсів видів лікарських та харчових рослин. *Наукові праці Лісівничої академії наук України: збірник наукових праць*. Львів: РВВ НЛТУ України, 2012. Вип. 10. С. 211–217.
 82. Позднякова А. Ю. Експериментальне вивчення противиразкової активності поліфенольного комплексу липи серцелистої та сиропу на його основі на моделі аспіринової виразки шлунка у щурів. *Український біофармацевтичний журнал*, 2012. №4 (21). С. 35–39.

- 83.Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах. *Офіційний вісник України*. Офіц. вид., 2012 р. № 24. С. 82. (Нормативний документ Міністерства освіти, науки, молоді та спорту України. Наказ від 01.03.2012 № 249).
- 84.Прайс В. Аналитическая атомно-абсорбционная спектроскопия. Москва, 1976. 341 с.
- 85.Практикум з біологічної хімії / за ред. О. Я. Складярова. Київ: Здоров'я, 2002. 298 с.
- 86.Пуляев Д. С., Грудько В. О., Чуешов В. І. Біофармацевтичні дослідження з вибору основи-носія гелю «Альгозан». *Вісник фармації*. 2012. 1 (69). С. 36–38.
- 87.Ранозаживляющий эффект композиции фосфомицина с наноструктурированным диоксидом кремния, полученной механо-химически, на модели резаной и ожоговой раны кожи / К. В. Гайдунь, А. П. Лыков, О. Н. Ларина, И. А. Гольдина и др. *Бюллетень СО РАМН*. 2012. Т. 32, № 3. С. 27–33.
- 88.Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Caprifoliaceae–Plantaginaceae. Ленинград: Наука, 1990. С. 110–111.
- 89.Розробка та дослідження гелю з екстрактом лопуха для застосування в дерматології / Є. В. Гладух, Сегі Анан Марсель, Н. О. Ніколайчук, В. В. Шматенко. *Journal «ScienceRise»*. 2016. №2/4 (19). С. 23–27.
- 90.Свірська С. П., Грицик А. Р. Фенологічні спостереження за розвитком воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) на дослідних ділянках лікарських рослин кафедри фармації ІФНМУ. *Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій*: матеріали VI Міжнародної науково-практичної конференції, Полтава, 26-27 грудня 2017 р. Полтава. Лубни: Комунальне видавництво «Лубни», 2018. С. 105–107.
- 91.Свірська С. П. Макроскопічний, мікроскопічний та товарознавчий аналіз трави воловика лікарського. *Сучасні проблеми медицини і фармації в*

- наукових розробках студентів і молодих вчених: тези доповідей 81-ої науково-практичної конференції студентів і молодих учених з міжнародною участю, Івано-Франківськ, 29–30 березня 2012 р. Івано-Франківськ, 2012. С. 218–219.*
92. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з противиразковою дією: матеріали III міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених, Вінниця, 17–18 квітня 2012 р. Вінниця, 2012. С. 98.
 93. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з протидіабетичною дією. *Інновації в медицині: тези доповідей 82-ої науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, Івано-Франківськ, 18–19 квітня 2013 р. Івано-Франківськ, 2013. С. 233–234.*
 94. Семак Б. Б. Наукові засади формування ринку рослинної технічної сировини та його окремих сегментів в Україні: монографія. Львів: Видавництво Львівської КА, 2007. 512 с.
 95. Силы природы. Полный целебный травник. Санкт-Петербург, 1871. 650 с.
 96. Сікорин У. Б. Дослідження сировинних ресурсів стародуба широколистого. *Український медичний альманах*. 2012. Т. 15, № 4. С. 141–142.
 97. Сікорин У. Б. Одержання і стандартизація екстрактів стародуба широколистого. *Медична хімія*. 2012, Т. 14, № 3. С. 83–85.
 98. Слободянюк М. М., Івченко А. В. Оцінка конкурентного потенціалу сегментів противиразкових лікарських препаратів. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2011, Т. 6, № 3. С. 102–105.
 99. 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.
 100. Сологуб В. А. Дослідження стабільності та контроль якості фітозасобу. *Галицький лікарський вісник*. 2014. Т. 21, № 4. С. 109–111.
 101. Спосіб одержання екстракту трави воловика лікарського з протизапальною активністю: пат. 125931 U Україна. № u 201800391; заявл. 15.01.2018 ; опубл. 25.05.2018, Бюл. № 10.

102. Струк О. А., Грицик А. Р. Кількісне визначення вуглеводів видів роду Гадючник. *Фармацевтичний часопис*. 2013. № 2. С. 30–33.
103. Струк О. А., Грицик А. Р., Клименко А. О. Вивчення елементного складу гадючника шестипелюсткового. *Фармацевтичний часопис*. 2009, № 2. С. 29 – 32.
104. Тартинська Г. С., Журавель І. О., Кисличенко В. С. Вивчення полісахаридів у траві талабану польового (*Thlaspi arvense* L.). *Фармацевтичний журнал*. 2012. № 5. С. 67–70.
105. Тернинко І. І., Кисличенко В. С. Амінокислотний склад плодів окремих представників родини Аріасеас. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2009. Т. 4, №4. С. 30–32.
106. Технологія лікарських препаратів промислового виробництва: навчальний посібник. 2-е вид. / за ред. Д. І. Дмитрієвського. Вінниця: Нова книга, 2008. 280 с.
107. Ткачова О. В. Дослідження репаративної та місцевоанестезуючої дії мазі «Пролідоксид». *Український біофармацевтичний журнал*. 2012. №1–2 (18–19). С. 37–41.
108. Український гідрометеорологічний центр. URL: <http://meteo.gov.ua>
109. Фармакогнозія: базовий підруч. для студ. вищ. фармац. навч. закл. (фармац. ф-тів) IV рівня акредитації / за ред. В. С. Кисличенко. Харків: НФаУ: Золоті сторінки, 2015. 736 с.
110. Фармацевтические и биологические аспекты мазей / И. М. Перцев, А. М. Котенко, О. В. Чуешов, Е. Л. Халеева. Харьков: изд-во НФаУ, «Золотые страницы», 2003. 288 с.
111. Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти ліків: Підручник для слухачів інститутів, факультетів підвищення кваліфікації фахівців фармації: у 2 т. / за ред І. М. Перцева, І. А. Зупанця. Харків: Вид-во НФаУ, 1999. Т.2. 448 с.

112. Фенольні сполуки екстракту трави глухої кропиви білої / А. М. Ковальова, О. В. Гончаров, О. В. Очкур, А. П. Осьмачко. *Український біофармацевтичний журнал*. 2015. № 3 (38). С. 72–77.
113. Фіторізноманіття заповідників і національних природних парків України. Ч.1. Біосферні заповідники. Природні заповідники / за ред. В. А. Онищенко і Т. Л. Андрієнко. Київ: Фітосоціоцентр, 2012. 406 с.
114. Фітотерапія Карпатського краю / О. І. Алексєєв, П. І. Гвоздецький, Л. П. Сушко, В. М. Філь. Дрогобич : Редакційно-видавничий відділ Дрогобицького державного педагогічного університету імені І. Франка, 2010. 413 с.
115. Флора Европейской части СРСР. Т. V: Покрытосеменные: двудольные. Ленинград: Изд-во «Наука», Ленингр. отд., 1981. 380 с.
116. Флора УРСР.Т. VIII. Київ: Видавництво Академії Наук Української РСР, 1957. С. 403–425.
117. Футорна О. Еколого-анатомічна характеристика листків та стебел псамофітів з роду *Anchusa* L. (Boraginaceae). *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка*. Інтродукція та збереження рослинного різноманіття, 2013. № 31. С. 60–65.
118. Химический анализ лекарственных растений : учебное пособие для фармац. вузов / под ред. Н. И. Гринкевич, Л. Н. Сафронович. Москва: Высшая школа, 1983. 176 с.
119. 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.
120. Хронопатологічні особливості дії карагеніну / С. М. Дроговоз, С. В. Дмитренко, А. Л. Штробля, Е. М. Вашкеба-Бітлер. *Український біофармацевтичний журнал*. 2014. № 6. (35). С 39–42.
121. Чекман І. С. Клінічна фітотерапія. Київ: Рада, 2000. 510 с.

122. Челін Н. В., Марчишин С. М. Дослідження вільних органічних кислот та аскорбінової кислоти у листках, плодах та кореневищах і коренях любистку лікарського. *Фармацевтичний часопис*. 2010. №3. С. 13–16.
123. Шалата В. Я., Сур С. В. Вивчення технологічних властивостей багатокомпонентної лікарської рослинної сировини. *Запорожский медицинский журнал*. 2012. №2 (71). С. 111–115.
124. Шевцов І. М., Журавель І. О., Кисличенко В. С. Ідентифікація та кількісне визначення вмісту гідроксикоричних кислот в лусках *Allium* сера L. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2009. Т. 4, №4. С. 33–35.
125. Шестакова Т. С., Белоногова В. Д., Петриченко В. М. Спектрофотометрический метод определения содержания флавоноидов в траве *Veronica chamaedrys* (Scrophulariaceae). *Медицинский альманах*. 2016. № 1 (41). С. 127–130.
126. Юрченко Н. С., Ільїна Т. В., Ковальова А. М. Дослідження карбонових кислот трави маренки запашної (*Asperula odorata* L.). *Український біофармацевтичний журнал*. 2012. № 5–6 (22–23) С. 104–107.
127. Ющишена О. В., Цуркан О. О., Корабльова О. А. Жирні кислоти листя, стебел та суцвіть вітексу священного (*Vitex agnus-castus* L.). *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2014. № 1. С. 139–141.
128. Яковлева Л. В., Ткачова О. В., Фаді Алі Саллуб Вивчення лікувальної дії нової мазі «Біофлорин» на моделі асептичної опікової травми у щурів. *Клінічна фармація*. 2005. Т. 9, № 2. С. 57–61.
129. γ -Linolenic acid content and fatty acid profiles of the seed oils of some *Anchusa* species / N. Kukukboyaci, A. Koca, S. Yildirimli, E. Kilinc et al. *Turc J Pharm Sci*. 2013. Vol. 10 (1). P. 87–94.
130. Abbas M., Disi A., Al-Khalil S. Isolation and Identification of Anti-Ulcer Components from *Anchusa Strigosa* Root. *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2009. Vol. 2, № 2. P. 131–139.

131. Abu-Rabia A. Herbs as a Food and Medicine Source in Palestine. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2005. Vol. 6. P. 404–407.
132. Agha H., Lalk M., Lindequist U. Isolation of a new triterpenoid saponin from the root of *Anchusa Strigosa* L., family Boraginaceae. *Arab Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2006. Vol. 3 (2). P. 71–79.
133. Ahmad I., Aqil F., Owais M. Modern Phytomedicine: Turning Medicinal Plants into Drugs. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006. 404 p.
134. Ahmed M., Ari N. Antidiabetic activity of the aqueous extract of *Anchusa strigosa* Lab in streptozotocin diabetic rats. *Int J Pharm*. 2012. № 2 (3). P. 445–449.
135. Akcin T. A., Ulu S., Adnan A. Morphological, anatomical and numerical studies on some *Anchusa* L. (Boraginaceae) taxa from Turkey. *Pak. J. Bot*. 2010. №42 (4). P. 2231–2247.
136. Akcin T. A., Ulu S. Micromorphological Characters of Fruits of Some *Anchusa* L. (Boraginaceae) Species from Turkey. *International Journal of Natural and Engineering Sciences*. 2008. Vol. 2 (1). P. 63–67.
137. Akcin T. A., Ulu S. Morphological and Anatomical Study on *Anchusa leptophylla* Roemer & Schultes (Boraginaceae) Distributed in the Black Sea Region of Turkey. *Turk J Bot*. 2007. №. 31. P. 317–325.
138. Almasi M., Ranjbar M. Diversity of chromosome numbers and meiotic studies in genus *Anchusa* (Boraginaceae) from Iran. *Progress in Biological Sciences*. 2015. Vol. 5, № 2, P. 249–259.
139. Al-Salihi F. G., Al-Ameri A. K., Al-Juobory T. S. Antimicrobial activity of total lipids extracted from *Anchusa strigosa* Lab. *Journal of Surra Man Raa*. 2007. Vol. 3, № 6. P. 11–20.
140. Al-Salihi F. G., Yasseen A. I., Al-Salihi S. F. Antimicrobial activity of volatile oil and fixed oil extracted from *Anchusa strigosa* Lab. *Tikrit Journal of Pure Science*. 2009. Vol. 14, № 2. P. 21–24.

141. Al-Snafi A. E. Therapeutic Properties of Medicinal Plants: A Review of Plants with Cardiovascular Effects (Part 1). *International Journal of Pharmacology & Toxicology*. 2015. № 5 (3). P. 163–176.
142. Al-Snafi A. E. Therapeutic Properties of Medicinal Plants: A Review of Their Antiviral Activity (Part 1). *International Journal of Pharmacological Screening Methods*. 2015. Vol 5, Issue 2, P. 72–79.
143. Al-Snafi A. E. Therapeutic Properties Of Medicinal Plants: A Review of Their Gastro-Intestinal Effects (Part 1). *Indian Journal of Pharmaceutical Science & Research*. 2015. Vol 5, Issue 4. P. 220–232.
144. Al-Snafi A. E. The Pharmacology of *Anchusa italica* and *Anchusa strigosa*. A review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2014. Vol 6, Issue 4. P. 7–10.
145. Al-Snafi A.E. Therapeutic Properties Of Medicinal Plants: A Review Of Plants With Anticancer Activity (Part 1). *International Journal of Pharmacy*. 2015. Vol 5, Issue 3. P. 104–124.
146. Al-Snafi A. E. Therapeutic Properties Of Medicinal Plants: A Review Of Medicinal Plants With Central Nervous Effects (Part 1). *International Journal of Pharmacology & Toxicology*. 2015. № 5 (3). P. 177–192.
147. Al-Snafi A. E. Therapeutic Properties of Medicinal Plants: A Review of Plants with Antifungal Activity (Part 1). *International Journal of Pharmacy Review & Research*. 2015. Vol 5, Issue 3. P. 321–327.
148. Al-Snafi A. E. Therapeutic Properties of Medicinal Plants: A Review of Plants with Antioxidant Activity (Part 1). *International Journal of Pharmacy & Therapeutics*. 2015. № 6 (3). P. 159–182.
149. Amino Acid Composition of the *Alchemilla* L. Genus Plants and *Nepeta cataria* L. / L. M. Grytsyk, N. I. Tuchak, T. G. Stasiv, A. R. Grytsyk. *The Pharma Innovation Journal*. 2013. Vol. 2 (4). P. 50–53.
150. A new oleanolic-type triterpene glycoside from *Anchusa italica* / Wei Dai, Kui Kui Chen, Zhou-Jian Xie, Qi Wang. *Natural Product Research*. 2016.

151. Angelo R., Boufford D Atlas of the flora of New England: families of Vols. 9-13 and 15-16 (except Fabaceae & Rosaceae) of the flora of North America series. *Phytoneuron*. 2014. № 98. P. 1–43.
152. Anti Alzheimer's Disease Related Activities of Israeli Medicinal Plants / L. Tsalkovich, S. Sallon, H. Paavilainen, H. Rosenmann. *JSM Alzheimer's Disease and Related Dementia*. 2015. Vol 2 (1). P. 1–7.
153. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area / M.S. Ali-Shtayeh, R. Yaghmour, Y.R. Faidi, K. Salem et al. *Journal of Ethnopharmacology*. 1998. № 60. P. 265–271.
154. Antioxidant activity and total phenolic content of aqueous and methanolic extracts of Jordanian plants: an ICBG project / F.Q. Alali, K. Tawaha, M. Syouf, T. El-Elimat et al. *Natural Product Research*. 2007. Vol. 21, No. 12. P. 1121–1131.
155. A Review on some Indian Medicinal Plants for Antiulcer Activity / Sh. Badhani, N. Jasrotia, I. Sharma, B. Parashar, R. Gupta. *Journal of Scientific Research in Pharmacy*. 2012. № 1 (2). P. 6–9.
156. A study of Antibacterial potentiality of some plants extracts against multidrug resistant human pathogens / A. Miri, J. Rad, S. H. Alfatemi, M. Rad. *Annals of Biological Research*. 2013. № 4 (8). P. 35–41.
157. Azimova S., Glushenkova A. I. Lipids, Lipophilic Components and Essential Oils from Plant Sources. New York: Springer, 2012. 992 p.
158. Bacchetta G., Fenu G., Mattana E. A checklist of the exclusive vascular flora of Sardinia with priority rankings for conservation. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*. 2012. Vol. 69 (1). P. 81–89.
159. Barbakadze V. Poly[3-(3,4-dihydroxyphenyl)glyceric Acid] from *Anchusa italica* Roots. *Natural Product Communications*. 2010. Vol. 5 (7), P. 1091–1095.
160. Batanouny K. H. Wild Medicinal Plants in Egypt. Cairo: Academy of Scientific Research and Technology, 1999. 208 p.
161. Biological Activities of Polyphenols from Grapes / En-Qin Xia, Gui-Fang Deng, Ya-Jun Guo and Hua-Bin Li. *Int. J. Mol. Sci*. 2010. № 11. P. 622–646.

162. Biological effects of essential oils – A review / F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, M. Idaomar. *Food and Chemical Toxicology*. 2008. № 46. P. 446–475.
163. Biologically active compounds from the rhizomes of *Iris hungarica*. O. O. Mykhailenko, V. M. Kovalyov, S. V. Kovalyov, A. V. Krechun. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2016. Т. 14, 4 (56). С. 63 – 66.
164. Biopharmaceutical research on the selection of base for «Glytacyd» ointment / M. V. Khalavka, O. A. Ruban, D. S. Pulyaev, K. V. Hrudko. *Український біофармацевтичний журнал*. 2014. № 3 (32). С. 8–11.
165. Biotechnological applications for rosmarinic acid production in plant / S. U. Park, R. Uddin, H. Xu, Y. K. Kim et al. *African Journal of Biotechnology*. 2008. Vol. 7 (25). P. 4959–4965.
166. Biotechnology in Agriculture and Forestry Vol. 26 Medicinal and Aromatic Plants VI / ed. By Y.P.S Bajaj, Su, W. W. et al. Springer–Verlag Berlin Heidelberg, 1994. 426 p.
167. Borelli F., Izzo A. A. The Plant Kingdom as a Source of Anti-ulcer Remedies. *Phytother. Res.* 2000. Vol 14. P. 581–591.
168. Boussoulalim N. Anti-bacterial and β -Lactamase inhibitory effects of *Anchusa azurea* and *Globularia alypum* extracts / N. Boussoulalim, H. Trabsa, I. Krache, L. Arrar et al. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2014. Vol. 5 (1). P. 742–749.
169. Chacon J. The borage family (Boraginaceae s.str.): A revised infrafamilial classification based on new phylogenetic evidence, with emphasis on the placement of some enigmatic genera. *Taxon*. 2016. № 65 (3). P. 523–546.
170. Coteli E. Tort (*Anchusa azurea* Miller var. *azurea*) Bitkisindeki A, E, C Vitaminleri, Malondialdehit ve Glutatyon Miktarlarının Araştırılması. *Adıyaman Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*. 2015. № 5 (2). P. 155–162.
171. Council Directive 2010/63/EU of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union*. 2010. L 276. P. 33–79.

172. De-Eknamkul W. Behavior of Free Aromatic Amino Acid Pools in Rosmarinic Acid-Producing Cell Cultures of *Anchusa officinalis* L. *Plant Physiol.* 1989. № 89. P. 429–433.
173. De-Eknamkul W., Ellis B. E. Purification and characterization of tyrosine aminotransferase activities from *Anchusa officinalis* cell cultures. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 1987. Vol. 257, Issue 2, P. 430–438.
174. Disi A. M., Tamimi S. O., Abuereish G. M. Effects of *Anchusa strigosa* root aqueous extract on gastric ethanol-induced ulcer in laboratory animals. *Journal of Ethnopharmacology.* 1998. Vol 60, Issue 3. P. 189–198.
175. Dolatkhahi M., Dolatkhahi A., Nejad J. B. Ethnobotanical Study of medicinal plants used in Arjan-Parishan protected area in Fars Province of Iran. *AJP.* 2014. Vol. 4, №. 6. P. 402–412.
176. El-Shazly A., Wink M. Diversity of Pyrrolizidine Alkaloids in the Boraginaceae Structures, Distribution, and Biological Properties. *Diversity.* 2014. Vol.6. P. 188–282.
177. Enhanced wound healing using collagenase in guinea pig / R. Yavuzer, O. Latifoglu, S. Ayhan, N. Edali *Gazi Medical Journal.* 1997. Vol 8. P. 110–113.
178. Ergonul P., Nergiz G. Determination of Organic Acids in Olive Fruit by HPLC. *Czech J. Food Sci.* 2010. Vol. 28, № 3. P. 202–205.
179. Esimone C. O., Ibezim E. C., Chah K. F. The wound healing effect of herbal ointments formulated with *Napoleona imperialis*. *Journal of Pharmaceutical and Allied Sciences.* 2005. № 3 (1). P. 294–299.
180. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe. Strasbourg, 1986. 53 p.
181. European Pharmacopoeia 8.0, vol. 1, Council of Europe. Strasbourg, 2014. 2133 p.
182. Flora Europaea. Royal Botanic Garden Edinburgh. URL: <http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/PTaxonDetail.asp?NameCache=Anchusa&PTRefFk=7100000>

183. Four New Triterpenes from *Anchusa azurea* var. *Azurea* / A. Kuruuzum-Uz, Z. Guvenalp, C. Kazaz, B. Salih et al. *Helvetica Chimica Acta*. 2010. Vol. 93. P. 457–465.
184. Glasby J. S. Dictionary of Plants Containing Secondary Metabolites. London: Taylor & Francis Ltd, 2005. 1640 p.
185. Grytsyk A., Svirskia S. The ways of application of Bugloss genus plants in folk medicine. *Aktualne problemy nowoczesnych nauk: materiały VIII międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji*. Vol. 38, Medycyna, Przemysł, 07-15 czerwca 2012 roku. Przemysł: «Nauka i studia», 2012. Str. 29–30.
186. Guil-Guerrero J. L., García Marotob F. F., Giménez Giméneza A. Fatty Acid Profiles from Forty-nine Plant Species That Are Potential New Sources of γ -Linolenic Acid. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2001. Vol. 78, № 7. P. 677–684.
187. Handa S. S., Rakesh D. D., Vasisht K. Compendium of Medicinal and Aromatic Plants Asia Volume II, 2006. 305 p.
188. Hormone sensitive lipase inhibition by selected medicinal plants / Y. Bustanji, A. Issa, A. Moulay, M. Hudaib et al. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011. Vol. 5 (18). P. 4405–4410.
189. HPLC Analysis of Poly[3-(3,4-Dihydroxyphenyl) glyceric acid] Preparations from *Symphytum asperum* and *Anchusa italica* (Boraginaceae) Using Different Gel-Filtration Columns / V. Barbakadze, L. Gogilashvili, L. Amiranashvili, M. Merlani et al. *Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences*. 2013. Vol. 7, № 1. P. 83–88.
190. Identification and quantitative determination of flavonoid in *Agrimonia eupatoria* / I. V. Kozak, L. V. Vronska, A. E. Demyd, T. A. Hroshovyy. *Фармацевтичний часопис*. 2017. № 2. С. 38–46.
191. Inhibitory Effects of *Anchusa azurea* Extracts on Xanthine Oxidase Activity and Its Hypouricemic Effects on Mice / N. Boussoualim, A. Baghiani, I. Krache, H. Trabsa, et al. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2015. Vol 7, Issue 8. P. 195–199.

192. Integrated Taxonomic Information System (ITIS) URL:
https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=31718#null
193. Introduction of Medicinal Plants Species with the Most Traditional Usage in Alamut Region / M. Ahvazia, F. Khalighi-Sigaroodib, M. Charkhchiyanc, F. Mojabd et al. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2012. № 11 (1). P. 185–194
194. Investigation on anti-inflammatory and antiulcer activities of *Anchusa azurea* extracts and their major constituent rosmarinic acid / A. Kuruuzum-Uz, H. Suleyman, E. Cadirci, Z. Guvenalp et al. *Z. Naturforsch.* 2012. № 67. P. 360–366.
195. ISTA List of Stabilized Plant Names. 5th Edition. ISTA Nomenclature Committee Chair: Dr. J. H. Wiersema. Switzerland, 2007.
196. Jakovljević D. The content of secondary metabolites and in vitro biological activity of *Anchusa officinalis* L. (Boraginaceae). *Indian Journal of Traditional Knowledge*. 2016. Vol.15 (4). P. 587–593.
197. Javadi B., Emami S. A. Avicenna's contribution to mechanisms of cardiovascular drugs. *Iran J Basic Med Sci*. 2015. Vol. 18, №. 8. P. 721–722.
198. Kazemi M. Essential Oil Composition Of *Anchusa Italica* From Iran. *Chemistry of Natural Compounds*. 2013. Vol. 49, №. 2. P. 369–370.
199. Keshavarzi M., Nasrollahi F., Sheidai M. Stem and fruit anatomical study of the *Anchusa* species (Boraginaceae) in Iran. *Phytologia Balcanica*. 2013. Vol. 19 (2). P. 193–199.
200. Khare C. P. *Indian Medicinal Plants*. New-York:Springer Science, 2007. 900 p.
201. Koz O. Isolation, structural determination and biological activities of Some natural products from *Campanula lyrata* subsp. *lyrata* (Campanulaceae) and *Anchusa undulata* subsp. *hybrida* (Boraginaceae): Doctor Of Philosophy Thesis. Bornova–Izmir, 2007. 216 p.

202. Koz O., Pizza C., Kirmizigul S. Triterpene and flavone glycosides from *Anchusa undalata* subsp. *hybrida*. *Natural Product Research*. 2009. Vol. 23. P. 284–292.
203. Majumdar D. D. Recent Updates on Pharmaceutical Potential of Plant Protease Inhibitors. *International Journal of Medicine and Pharmaceutical Science (IJMPS)*. 2013. Vol. 3, Issue 4. P. 101–120.
204. Manning J., Goldblatt P. Plants of the Greater Cape Floristic Region 1: the Core Cape Flora. *Strelitzia* 29. Pretoria: South African National Biodiversity Institute, 2012. 870 p.
205. Mediterranean non-cultivated vegetables as dietary sources of compounds with antioxidant and biological activity / P. Morales, I. Ferreira, A.-M. Carvalho, M. Sánchez-Matab et al. *LWT–Food Science and Technology*. 2014. Vol 55, Issue 1. P. 389–396.
206. Miraldi E., Ferri S., Mostaghimi V. Botanical drugs and preparations in the traditional medicine of West Azerbaijan (Iran). *Journal of Ethnopharmacology*. 2001. № 75. P. 77–87
207. Molan A., Mahdy A. S. Iraqi medicinal plants: Total flavonoid contents, free-radical scavenging and bacterial beta-glucuronidase inhibition activities. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*. 2014. Vol.13, Issue 5. P. 72–77.
208. Molecular Systematics of Boraginaceae Tribe Boragineae Based on ITS1 and trnL Sequences, with Special Reference to *Anchusa* s.l. / H. H. Hilger, F. Selvi, A. Papini, M. Bigazzi. *Annals of Botany*. 2004. № 94. P. 201–212.
209. Mosyakin S. L., Fedoronchuk M. M. Vascular plants of Ukraine: a nomenclatural checklist. Kyiv: National Academy of Sciences of Ukraine, M. G. Kholodny Institute of Botany, 1999. 345 p.
210. Nasrollahi F., Keshavarzi M., Sheidai M. Fruit morphological and micro-morphological study of the *Anchusa* species (Boraginaceae) in Iran. *Phytologia Balcanica*. 2013. Vol. 19 (1). P. 47–52.
211. National Center for Biotechnology Information (NCBI), Taxonomy Browser. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>

212. New Pyrrolizidine Alkaloids and Glycosides from *Anchusa Strigosa* / A. Braca, A. Bader, T. Siciliano et al. *Planta Med.* 2003. Vol 69. P. 835–841.
213. Novel Biologically Active Phenolic Polymers from Different Species of Genera *Symphytum* and *Anchusa* (Boraginaceae) / V. Barbakadze, L. Gogilashvili, L. Amiranashvili, M. Merlani et al. *J. Chem. Eng. Chem. Res.* 2014. Vol. 1, №1. P. 47–53.
214. On the identity of *Anchusa leucantha* (Boraginaceae) from Northern Greece / K. Tan, E. Gjeta, A. Mullaj, L. Shuka et al. *Phytotaxa.* 2013. Vol 140 (1). P. 35–42.
215. Ozcan T. Amino Acid Patterns in the Aerial Parts of *Echium* L. and *Anchusa* L. Growing in the Sand Dunes of Turkey. *International Journal of Plant & Soil Science.* 2016. Vol. 11 (3). P. 1–9.
216. Ozcan T. Fatty Acid Profiles of the Seed in Two Groups of *Anchusa officinalis* L. *IUFS J Biol.* 2008. № 67 (1). P. 65–71.
217. Peshin T., Kar H. K. Isolation and Characterization of β -Sitosterol-3-O- β -D-glucoside from the Extract of the Flowers of *Viola odorata*. *British Journal of Pharmaceutical Research.* 2017. Vol. 16 (4). P. 1–8.
218. Phenolic Compounds From The Roots of *Anchusa azurea* var. *Azurea* / A. Kuruüzüm-uz, Z. Güvenalp, C. Kazaz, L. Ö. Demirezer. *Turk J Pharm Sci.* 2013. Vol. 10 (2). P. 177–184.
219. Phytochemical Screening of Some Species of Iranian Plants / F. Mojab, M. Kamalinejad, N. Ghaderi, H. Vahidipour. *IJPR.* 2003. № 2. P. 77–82.
220. Pichersky E., Noel J., Dudareva N. Biosynthesis of Plant Volatiles: Nature's Diversity and Ingenuity. *Science.* 2006. Vol. 311. P. 808–811.
221. Polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis / S. Quideau, D. Deffieux, C. Douat-Casassus, L. Plant. *Angewandte Chemie.* 2011. Vol. 50, № 3. P. 586–621.
222. Potential of beta sitosterol in medicinal plants used in BPH: A review / V. K. Bishnoi, K. Kaushal, A. K. Sharma, P. Soni. *International Journal of Chemical Science.* 2017. Vol. 1; Issue 2. P. 65–68.

223. Quercetin Treatment Ameliorates Inflammation and Fibrosis in Mice with Nonalcoholic Steatohepatitis / E. Marcolin, B. San-Miguel, D. Vallejo et al. *The Journal of Nutrition*. 2012. Vol. 142 (10). P. 1821–1828.
224. Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree—*Arbutus unedo* L. (Ericaceae) / Z. Males, M. Plazibat, V. Bilusik Vundac et al. *Acta Pharm*. 2006. № 56. P. 245–250.
225. Radanova S. Endemism and relictness of the Eastern Sredna Gora Mt floristic sub region, South Bulgaria. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci*. 2015. № 2 (11). P. 185–192.
226. Recovery and Purification of Rosmarinic Acid from Rosemary Using Electrodialysis / B. Zelic, M. Hadolin, D. Bauman, D. Vasic-Rackia. *Acta Chim. Slov*. 2005. № 52. P. 126–130.
227. Rong T. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*. 2010. № 2. P. 1231–1246.
228. Saad B. Tradition and Perspectives of Arab Herbal Medicine: A Review. *eCAM*. 2005. № 2 (4). P. 475–479.
229. Said O. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region. *Journal of Ethnopharmacology*. 2002. № 83. P. 251–265.
230. Screening of Possible In Vitro Neuroprotective, Skin Care, Antihyperglycemic, and Antioxidative Effects of *Anchusa undulata* L. subsp. *hybrida* (Ten.) Coutinho from Turkey and Its Fatty Acid Profile / C. Sarikurkcu, G. Zengin, A. Aktumsek, O. Ceylan et al. *International Journal of Food Properties*. 2015. № 18. P. 1491–1504.
231. Searching for health beneficial n-3 and n-6 fatty acids in plant seeds / K. Kuhnt, Ch. Degen, A. Jaudszus, G. Jahreis. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*. 2012. № 114. P. 153–160
232. Selvi F., Bigazzi M. *Anchusa* L. and allied genera (Boraginaceae) in Italy. *Plant Biosystems*. 1998. № 132 (2). P. 113–142.
233. Selvi F., Bigazzi M. Revision of genus *Anchusa* (Boraginaceae-Boragineae) in Greece. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2003. Vol. 142. P. 431–454.

234. Selvi F. Floral biometrics of the *Anchusa undulata* L. group (Boraginaceae) from the central-eastern Mediterranean. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 1998. Vol. 128. P. 251–270.
235. Shellie R. Volatile Components of Plants, Essential Oils, and Fragrances. Chapter 9. *Comprehensive Analytical Chemistry*. 2009. Vol. 55. P. 189–213.
236. Siciliano T. Pyrrolizidine alkaloids from *Anchusa strigosa* and their antifeedant activity. *Phytochemistry*. 2005. № 66. P. 1593–1600.
237. Spectrophotometric quantitative determination of poly[3-(3,4-dihydroxyphenyl)glyceric acid] / V. Barbakadze, L. Gogilashvili, L. Amiranashvili, M. Merlani et al. *Bulletin of The Georgian National Academy of Sciences*. 2010. Vol. 4, №. 3. P. 123–126.
238. Study of Poly[Oxy-1-Carboxy-2-(3,4-Dihydroxyphenyl) Ethylene] from *Symphytum asperum*, *S. caucasicum*, *S. officinale*, *Anchusa italica* by Circular Dichroism / V. Barbakadze, M. Merlani, L. Amiranashvili, L. Gogilashvili et al. *Bulletin of The Georgian National Academy of Sciences*. 2012. Vol. 6, №. 1. P. 143–146.
239. Sukito A., Tachibana S. Isolation of Hyperoside and Isoquercitrin from *Camellia sasanqua* as Antioxydant Agent. *Pak. J. Biol. Sci.* 2014. № 17 (8). P. 999–1006.
240. Svirska S., Grytsyk A. Investigation of tannins in *Anchusa officinalis* L. *The Pharma Innovation*. 2018. Vol. 7., Issue 4. P. 758–761.
241. Svirska S. Systematics and morphology of *Anchusa* genus plants / S. Svirska. *Modern science in Eastern Europe: proceedings of XIII International scientific conference*. Dec 22, 2017, Morrisville, USA: Universum. Morrisville, 2017. P. 95–99.
242. Systematics, phylogenetic relationships and conservation of the taxa of *Anchusa* (Boraginaceae) endemic to Sardinia (Italy) / G. Bacchetta, A. Coppi, C. Pontecorvo, F. Selvi. *Systematics and Biodiversity*. 2008. Vol 6 (2). P. 161–174.

243. Taskin T., Bitis L. In vitro antioxidant activity of eight wild edible Plants in Bursa Province of Turkey. *Farmacia*. 2016. Vol. 64. P. 706–711.
244. The Anti Influenza Virus Activity of *Anchusa Italica* / S. Ketabchi, A. Moatari, M. Shadram, Y. Rostami. *Asian J. Exp. Biol. Sci.* 2011. Vol. 2 (4). P. 758–761.
245. The effect of *Nepeta cataria* extract on adherence and enzyme production of *Staphylococcus aureus* / A. Nostro, M. A. Cannatelli, G. Crisafi, V. Alonzo. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2001. Vol. 18, № 6. P. 583–585.
246. The Plant List is a working list of all known plant species. Cambridge, MA. URL: <http://www.theplantlist.org/tpl/search?q=Anchusa>
247. The story of beta-sitosterol – a review / S. Saeidnia, A. Manayi, A. R. Gohari, M. Abdollahi. *European journal of medicinal plants*. 2014. Vol 4 (5). P.590–609.
248. Total Phenolic and vitamin C content and antiradical activity evaluation of traditionally consumed wild edible vegetables from Turkey / A. Samancioglu, I. G.Sat, E. Yildirim et al. *Indian Journal of Traditional Knowledge*. 2016. Vol. 15 (2). P. 208–213.
249. U.S. National Plant Germplasm System, GRIN: Taxonomy for Plants URL: <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomylist.aspx?category=species&type=genus&value=Anchusa&id=619>
250. Wiersema J. H., Leon B. *World Economic Plants: A Standard Reference*. Second Edition. CRC Press, 2013. 1336 p.
251. Wszelaki N., Kucium A., Kiss A. Screening of traditional European herbal medicines for acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity. *Acta Pharm.* 2010. № 60. P. 119–128.
252. Yildirim H., Gemici Y. A new record for the flora of Turkey: *Anchusa aegyptiaca* (L) A. DC. (Boraginaceae). *Biological Diversity and Conservation*. 2010. № 3/2. P. 68–71.
253. Zengin G., Sarikurkcu C., Aktumsek A. Phenolic composition of *Anchusa undulata* L. subsp.hybrida (Ten.) Coutinho from Turkey. *Journal of Medicinal Herbs and Ethnomedicine*. 2015. Vol. 1 (1). P. 1–3.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

1. Грицик А. Р., Свірська С. П. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин. Український журнал клінічної та лабораторної медицини. 2012. №3. С. 174–181. (Особистий внесок – проведення пошуку літературних даних, обробка матеріалу та написання статті).
2. Грицик А. Р., Свірська С. П. Доказова фармація: дослідження екстракту трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.). Український вісник психоневрології. 2013. Т. 21, №. 2 (75), додаток. С. 93–94. (Особистий внесок – планування та проведення експериментальних досліджень, обробка матеріалу та написання статті).
3. Грицик А. Р., Свірська С. П. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.). Фармаком. 2016. №3, додаток. С. 117–123. (Особистий внесок – планування, проведення та інтерпретація даних експериментальних досліджень, обробка матеріалу та написання статті).
4. Грицик А. Р., Свірська С. П. Дослідження умов зростання *Anchusa officinalis* L. та *Anchusa procera* Bess. у деяких регіонах України. Фармаком. 2018. №1. С. 77–81. (Особистий внесок – планування та проведення досліджень, обробка матеріалу та написання статті).
5. Грицик А. Р., Свірська С. П. Дослідження вуглеводів воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.). Медична та клінічна хімія. 2018. Т. 20, №2 (75). С. 45–50. (Особистий внесок – планування, проведення експериментальних досліджень, інтерпретація результатів роботи та написання статті).
6. Svirskia S., Grytskyk A. Investigation of tannins in *Anchusa officinalis* L. The Pharma Innovation. 2018. Vol. 7., Issue 4. P. 758–761. (Особистий внесок – планування, проведення експериментальних досліджень, інтерпретація результатів роботи та написання статті).
7. Спосіб одержання екстракту трави воловика лікарського з протизапальною активністю: пат. UA 125931 U Україна. № u 201800391; заявл. 15.01.2018; опубл. 25.05.2018, Бюл. № 10. (Особистий внесок – проведення патентного пошуку, планування та проведення експериментальних досліджень, обробка матеріалу та оформлення патенту).
8. Грицик А. Р., Свірська С. П. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія. Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г. М., 2017. 109 с. (Особистий внесок – проведення літературного пошуку, підготовка та проведення експериментальних досліджень, обробка матеріалу та написання монографії).
9. Грицик А. Р., Свірська С. П., Козак Т. І. Розповсюдження рослин роду Воловик в Україні та дослідження можливості їх інтродукції. Фітоапітерапія: здобутки і перспективи: матеріали міжнародної науково-

практичної конференції, Ужгород, 20–21 квітня 2012 р. Ужгород, 2012. С. 267–269. (Особистий внесок – планування та проведення експериментальних досліджень, обробка матеріалу та написання статті).

10. Свірська С. П., Грицик А. Р. Фенологічні спостереження за розвитком воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) на дослідних ділянках лікарських рослин кафедри фармації ІФНМУ. Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій: матеріали VI Міжнародної науково-практичної конференції, Полтава, 26-27 грудня 2017 р. Полтава. Лубни: Комунальне видавництво «Лубни», 2018. С. 105–107. (Особистий внесок – планування та проведення досліджень, обробка матеріалу та написання статті).

11. Grytsyk A., Svirskia S. The ways of application of Bugloss genus plants in folk medicine. Aktualne problemy nowoczesnych nauk: materiały VIII międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji. Vol. 38, Medycyna, Przemysł, 07-15 czerwca 2012 roku. Przemysł: «Nauka i studia», 2012. Str. 29–30. (Особистий внесок – проведення літературного пошуку, обробка матеріалу та написання статті).

12. Svirskia S. Systematics and morphology of *Anchusa* genus plants. Modern science in Eastern Europe: proceedings of XIII International scientific conference. Dec 22, 2017, Morrisville, USA: Universum. Morrisville, 2017. P. 95–99.

13. Нормування біофармацевтичних аспектів розробки препаратів на основі рослинної сировини / А. Р. Грицик, С. П. Свірська, Т. Г. Стасів, Н. І. Ференц. Біофармацевтичні особливості створення лікарських препаратів в аспекті їх медичного застосування: матеріали науково-практичної інтернет-конференції. Харків: Вид-во НФаУ, 2011. С. 3. (Особистий внесок – проведення досліджень, обробка матеріалу та написання тез).

14. Свірська С. П. Макроскопічний, мікроскопічний та товарознавчий аналіз трави воловика лікарського. Сучасні проблеми медицини і фармації в наукових розробках студентів і молодих вчених: тези доповідей 81-ої науково-практичної конференції студентів і молодих учених з міжнародною участю, Івано-Франківськ, 29–30 березня 2012 р. Івано-Франківськ, 2012. С. 218–219.

15. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з противиразковою дією: матеріали III міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених, Вінниця, 17–18 квітня 2012 р. Вінниця, 2012. С. 98.

16. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з протидіабетичною дією. Інновації в медицині : тези доповідей 82-ої науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, Івано-Франківськ, 18–19 квітня 2013 р. Івано-Франківськ, 2013. С. 233–234.

Додаток Б

Апробація результатів дисертації

1. Науково–практична інтернет конференція «Біофармацевтичні особливості створення лікарських препаратів в аспекті їх медичного застосування» (Харків, 22 – 27 листоп. 2011 р., форма участі – публікація тез);
2. 81-а науково-практична конференція студентів і молодих учених з міжнародною участю «Сучасні проблеми медицини і фармації в наукових розробках студентів і молодих вчених» (Івано-Франківськ, 29-30 березня 2012 р., форма участі – усна доповідь, публікація тез);
3. Міжнародна науково-практична конференція „Фітоапітерапія: здобутки і перспективи», (Ужгород, 20-21 квітня 2012 р., форма участі – публікація статті);
4. III міжнародна науково-практична конференція молодих вчених (Вінниця, 17-18 квітня 2012 р., форма участі – публікація тез);
5. VIII międzynarodowa naukowo-praktyczna konferencja «Aktualne problemy nowoczesnych nauk – 2012» (Przemyśl, 07-15 czerwca 2012 roku, форма участі – публікація статті);
6. 82-а науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 18-19 квітня 2013 р., форма участі – публікація тез);
7. XIII International scientific conference «Modern science in Eastern Europe» (Dec 22, 2017, Morrisville, USA, форма участі – публікація статті);
8. VI-й міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій» (Полтава, 26-27 грудня 2017 р., форма участі – публікація статті).

Додаток В.1

“ЗАТВЕРЖУЮ”

Перший проректор
Івано-Франківського національного
медичного університету
проф. Ерстенюк Г. М.
2017 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозицій для впровадження: Фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик

2. Заклад, що розробив його поштова адреса: Івано-Франківський національний медичний університет; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.

3. Прізвище, ім'я, по батькові авторів: А. Р. Грицик, С. П. Свірська.

4. Джерела інформації:

1. Грицик А. Р. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія / А. Р. Грицик, С. П. Свірьська. – Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г.М., 2017. – 109 с.

2. Грицик А. Р. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин / А. Р. Грицик, С. П. Свірьська // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – №3. – С. 174 – 181.

3. Грицик А. Р. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Фармаком. – 2016. – №3, додаток. – С. 117–123.

4. Свірецька С. П. Розробка лікарських засобів з протівиразковою дією / С. П. Свірецька // Матеріали III міжн. науково-практичної конф. молодих вчених, (Вінниця, 17-18 квітня 2012 р.) / Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – Вінниця, 2012. – С. 98.

5. Грицик А. Р. Розповсюдження рослин роду *Воловик* в Україні та дослідження можливості їх інтродукції / А. Р. Грицик, С. П. Свірска, Т. І. Козак // Матеріали міжн. науково-практичної конф. „Фітоанітерапія: здобутки і перспективи”, (Ужгород, 20-21 квітня 2012 р.) / ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, Словацький аграрний університет в Нітрі, Управління охорони здоров'я Закарпатської ОДА. – Ужгород, 2012. – С. 267 – 269.

5. **Виводжено:** в наукову роботу та навчальний процес кафедри фармації ІФНМУ при вивченні студентами III курсу тем: «Методи фармакогнозії. Макроскопічний аналіз листків, трав, квітів, коренів, коренищ, кори, плодів», «Вуглеводи. Глікозиди», «ЛР і сировина, які містять різні біологічно активні речовини».

6. Терміни впровадження: 2017 – 2018 н.р.

7. **Результати впровадження:** поглиблення знань студентів щодо морфологічної та анатомічної будови, розповсюдження, особливостей заготівлі та раціонального використання, хімічного складу та фармакологічної дії рослин роду Воловик, розробка проекту МКЯ.

Завідувач кафедри фармації

проф. Грицик А. Р.

Відповідальний за впровадження:
доцент кафедри фармації

к. фарм. н. Мельник М.В.

« 12 » 12 2017 p.

Додаток В.2



1. Найменування пропозиції для впровадження: Фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик

2. Заклад, що розробив, його поштова адреса: Івано-Франківський національний медичний університет; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.

3. Прізвище, ім'я, по батькові авторів: А. Р. Грицик, С. П. Свірська.

4. Джерела інформації:

1. Грицик А. Р. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія / А. Р. Грицик, С. П. Свірська. – Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г.М., 2017. – 109 с.

2. Грицик А. Р. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – №3. – С. 174 – 181.

3. Грицик А. Р. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Фармаком. – 2016. – №3, додаток. – С. 117 – 123.

4. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з противиразковою дією / С. П. Свірська // Матеріали III міжн. науково-практичної конф. молодих вчених, (Вінниця, 17-18 квітня 2012 р.) / Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – Вінниця, 2012. – С. 98.

5. Грицик А. Р. Розповсюдження рослин роду Воловик в Україні та дослідження можливості їх інтродукції / А. Р. Грицик, С. П. Свірська, Т. І. Козак // Матеріали міжн. науково-практичної конф. „Фітоапітерапія: здобутки і перспективи”, (Ужгород, 20-21 квітня 2012 р.) / ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, Словацький аграрний університет в Нітрі, Управління охорони здоров'я Закарпатської ОДА. – Ужгород, 2012. – С. 267 – 269.

5. Впроваджено: кафедра ботаніки Національного фармацевтичного університету

6. Терміни впровадження: 2017 р.

7. Результати впровадження: навчальний процес та науково-дослідна робота кафедри

Відповідальний за впровадження:

зав. каф. ботаніки, _____

д. фарм. н., проф. _____

Гонтова Т. М. _____

«18» грудня 2017 р.

Додаток В.3



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** Фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик
- 2. Установа, автор:** Івано-Франківський національний медичний університет; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2. Грицик А. Р., Свірська С. П.
- 3. Джерела інформації:**
1. Грицик А. Р. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія / А. Р. Грицик, С. П. Свірська. – Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г.М., 2017. – 109 с.
 2. Грицик А. Р. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – №3. – С. 174 – 181.
 3. Грицик А. Р. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Фармаком. – 2016. – №3, додаток. – С. 117 – 123.
 4. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з противиразковою дією / С. П. Свірська // Матеріали III міжн. науково-практичної конф. молодих вчених, (Вінниця, 17-18 квітня 2012 р.) / Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – Вінниця, 2012. – С. 98.
 5. Грицик А. Р. Розповсюдження рослин роду Воловик в Україні та дослідження можливості їх інтродукції / А. Р. Грицик, С. П. Свірська, Т. І. Козак // Матеріали міжн. науково-практичної конф. „Фітоапітерапія: здобутки і перспективи”, (Ужгород, 20-21 квітня 2012 р.) / ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, Словацький аграрний університет в Нітрі, Управління охорони здоров'я Закарпатської ОДА. – Ужгород, 2012. – С. 267 – 269.
- 4. Де впроваджено:** в навчальний процес та наукову роботу кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету.
- 5. Форма впровадження:** навчальний процес, у лекційному курсі.
- 6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань морфолого-анатомічної будови, розповсюдження в Україні, хімічного складу, використання в медицині рослин роду Воловик.
- 7. Строки впровадження:** 2017-2018 навчальний рік.

Зав. кафедри хімії природних сполук
Національного фармацевтичного
університету, д.фарм.н., проф.

В.С. Кисличенко

Відповідальний за впровадження:
к. фармац. н., доцент кафедри хімії
природних сполук НФаУ,

О.М. Новосел

Додаток В.4

“ЗАТВЕРДЖУЮ”
 Перший проректор з
 науково-педагогічної роботи
 ДЗ “Львівський державний медичний університет”
 проф. Свірська С. П.
 “20” _____ 2017 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик

2. Заклад, що розробив, його поштова адреса: Івано-Франківський національний медичний університет; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.

3. Прізвище, ім'я, по батькові авторів: А. Р. Грицик, С. П. Свірська.

4. Джерела інформації:

1. Грицик А. Р. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія / А. Р. Грицик, С. П. Свірська. – Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г.М., 2017. – 109 с.

2. Грицик А. Р. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – №3. – С. 174 – 181.

3. Грицик А. Р. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Фармаком. – 2016. – №3, додаток. – С. 117 – 123.

4. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з противиразковою дією / С. П. Свірська // Матеріали III міжн. науково-практичної конф. молодих вчених, (Вінниця, 17-18 квітня 2012 р.) / Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – Вінниця, 2012. – С. 98.

5. Грицик А. Р. Розповсюдження рослин роду Воловик в Україні та дослідження можливості їх інтродукції / А. Р. Грицик, С. П. Свірська, Т. І. Козак // Матеріали міжн. науково-практичної конф. „Фітоапiterapia: здобутки і перспективи”, (Ужгород, 20-21 квітня 2012 р.) / ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, Словацький аграрний університет в Нітрі, Управління охорони здоров'я Закарпатської ОДА. – Ужгород, 2012. – С. 267 – 269.

5. Впроваджено: кафедра фармацевтичної хімії та фармакології ДЗ “Львівський державний медичний університет”

6. Терміни впровадження: 2017-2018 навчальний рік

7. Результати впровадження: дозволяє поглибити знання студентів з тематик морфолого-анатомічної, фітохімічної та фармакологічної діяльності рослин р. Воловик

Відповідальний за впровадження:

Зав. кафедри фарм. хімії та фармакології ДЗ “Львівський державний медичний університет”
 проф. Грицова О.А.
 “20” _____ 2017 р.

ВР -

Додаток В.5



Затверджую

Перший проректор

НМАПО імені П.Л. Шупика

чл-кор. НАМН України,

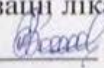
професор Ю.П. Вдовиченко

12 2017 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик.
2. **Установа, автори:** Івано-Франківський національний медичний університет; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2., Грицик А.Р., Свірська С.П.
3. **Джерело інформації** -Грицик А. Р. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія / А. Р. Грицик, С. П. Свірська. – Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г.М., 2017. – 109 с.
-Грицик А. Р. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – №3. – С. 174 – 181.
-Грицик А. Р. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (Anchusa officinalis L.) / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Фармаком. – 2016. – №3, додаток. – С. 117 – 123.
4. **Впроваджено:** у науковий та освітній процес кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів.
5. **Термін впровадження:** вересень – грудень 2017 року.
6. **Ефективність впровадження:** Результати наукових досліджень використані при формуванні інформаційного забезпечення науково-освітнього процесу кафедри.
7. **Пропозиції та зауваження:** немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри контролю якості і
 стандартизації лікарських засобів
 професор  Н.О. Ветютнева

Додаток В.6



ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Вищого державного навчального закладу
України «Буковинський державний
медичний університет»

І. В. Геруш

20 17 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик
2. Заклад, що розробив, його поштова адреса: Івано-Франківський національний медичний університет; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.
3. Прізвище, ім'я, по батькові авторів: А. Р. Грицик, С. П. Свірська.
4. Джерела інформації:
 1. Грицик А. Р. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія / А. Р. Грицик, С. П. Свірська. – Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г.М., 2017. – 109 с.
 2. Грицик А. Р. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – №3. – С. 174 - 181.
 3. Грицик А. Р. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Фармаком. – 2016. – №3, додаток. – С. 117 - 123.
 4. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з противиразковою дією / С. П. Свірська // Матеріали III міжн. науково-практичної конф. молодих вчених, (Вінниця, 17-18 квітня 2012 р.) / Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – Вінниця, 2012. – С. 98.
 5. Грицик А. Р. Розповсюдження рослин роду Воловик в Україні та дослідження можливості їх інтродукції / А. Р. Грицик, С. П. Свірська, Т. І. Козак // Матеріали міжн. науково-практичної конф. „Фітоапітерапія: здобутки і перспективи“, (Ужгород, 20-21 квітня 2012 р.) / ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, Словацький аграрний університет в Нїтрі, Управління охорони здоров'я Закарпатської ОДА. – Ужгород, 2012. – С. 267 - 269.
5. Впроваджено: кафедрою фармації Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» (БДМУ)
6. Терміни впровадження: 2017-2018 н. р.
7. Результати впровадження: поглиблення знань студентів та провізорів-інтернів щодо складу, фармакологічної дії та використання в медицині рослин роду Воловик.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармації БДМУ
к. фарм. н., доцент

О.В. Геруш

Додаток В.7

Проректор з навчально-методичної роботи
Одеського національного медичного університету,
з.д.н.т. Український професор Бахуш О.І.

“ 13 ”

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик
 2. Заклад, що розробив, його поштова адреса: Івано-Франківський національний медичний університет, 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2
 3. Прізвище, ім'я, по батькові авторів: А. Р. Грицик, С. П. Свірська.
 4. Джерела інформації:
 1. Грицик А. Р. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія / А. Р. Грицик, С. П. Свірська — Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г.М., 2017. — 109 с.
 2. Грицик А. Р. Рослини роду Воловик — перспективне джерело біологічно активних речовин / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. — 2012. — №3. — С. 174 — 181.
 3. Грицик А. Р. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Фармаком. — 2016. — №3, додаток. — С. 117 — 123.
 4. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з протівовиразковою дією / С. П. Свірська // Матеріали III міжн. науково-практичної конф. молодих вчених. (Вінниця, 17-18 квітня 2012 р.) / Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. — Вінниця, 2012. — С. 98.
 5. Грицик А. Р. Розповсюдження рослин роду Воловик в Україні та дослідження можливості їх інтродукції / А. Р. Грицик, С. П. Свірська, Т. І. Козак // Матеріали міжн. науково-практичної конф. „Фітоапiterapia: здобутки і перспективи”. (Ужгород, 20-21 квітня 2012 р.) / ДВНЗ “Ужгородський національний університет”. Словацький аграрний університет в Нітрі, Управління охорони здоров'я Закарпатської ОДА Ужгород, 2012. — С. 267 — 269.
 5. Впроваджено: отримана інформація доповнила методичні матеріали кафедри фармакогнозії за темами «Фармакогностичний аналіз ЛРС», «Фітотерапія захворювань шлунково-кишкового тракту», «Характеристика ресурсів лікарських рослин в Україні».
 6. Терміни впровадження: 2017-2018 навчальний рік
 7. Результати впровадження: підвищення якості підготовки студентів до навчального процесу на кафедрі фармакогнозії та до здачі ними ліцензійного іспиту «Крок 2»
- Відповідальний за впровадження: завідувач кафедри фармакогнозії ОНМедУ проф. Рожковський Я. В.

« 13 » 12 2013 р.

Додаток В.8



“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з наукової роботи
Запорізького державного медичного
університету, докт. мед. н, проф.
Туманський В. О.

2017 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик
2. **Заклад, що розробив, його поштова адреса:** Івано-Франківський національний медичний університет; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.
3. **Прізвище, ім'я, по батькові авторів:** А. Р. Грицик, С. П. Свірська.
4. **Джерела інформації:** Грицик А. Р. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія / А. Р. Грицик, С. П. Свірська. – Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г.М., 2017. – 109 с.; 2. Грицик А. Р. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – №3. – С. 174 – 181.; 3. Грицик А. Р. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Фармаком. – 2016. – №3, додаток. – С. 117 – 123.; 4. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з противиразковою дією / С. П. Свірська // Матеріали III міжн. науково-практичної конф. молодих вчених, (Вінниця, 17-18 квітня 2012 р.) / Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – Вінниця, 2012. – С. 98.; 5. Грицик А. Р. Розповсюдження рослин роду Воловик в Україні та дослідження можливості їх інтродукції / А. Р. Грицик, С. П. Свірська, Т. І. Козак // Матеріали міжн. науково-практичної конф. „Фітоапітерапія: здобутки і перспективи”, (Ужгород, 20-21 квітня 2012 р.) / ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, Словацький аграрний університет в Нітрі, Управління охорони здоров'я Закарпатської ОДА. – Ужгород, 2012. – С. 267 – 269.
5. **Впроваджено:** морфолого-анатомічне та фітохімічне дослідження видів роду Воловик у науковий процес кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії і технології ліків ФПО під час виконання теми НДР.
6. **Терміни впровадження:** 2017 н. р. (II півріччя) – 2018 н. р. (I півріччя).
7. **Результати впровадження:** вдосконалення методів морфолого-анатомічного та фітохімічного аналізу рослинної сировини
8. **Зауваження та пропозиції:** включити одержані результати до проектів МКЯ на рослинну сировину видів роду Воловик

Відповідальний за впровадження:

Зав. каф. фармакогнозії, фарм.хімії і
технології ліків ФПО ЗДМУ, проф.
«27» 12 2017 р.

Мазулін О. В.

Додаток В.9



Професор з наукової роботи
Національного фармацевтичного
університету
проф. Гутських Т.В.
« 01 » 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик
2. Заклад, що розробив, його поштова адреса: Івано-Франківський національний медичний університет; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.
3. Прізвище, ім'я, по батькові авторів: А. Р. Грицик, С. П. Свірська.
4. Джерела інформації:
 1. Грицик А. Р. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія / А. Р. Грицик, С. П. Свірська. – Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г.М., 2017. – 109 с.
 2. Грицик А. Р. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – №3. – С. 174 – 181.
 3. Грицик А. Р. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Фармаком. – 2016. – №3, додаток. – С. 117 – 123.
 4. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з противиразковою дією / С. П. Свірська // Матеріали III міжн. науково-практичної конф. молодих вчених, (Вінниця, 17-18 квітня 2012 р.) / Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – Вінниця, 2012. – С. 98.
 5. Грицик А. Р. Розповсюдження рослин роду Воловик в Україні та дослідження можливості їх інтродукції / А. Р. Грицик, С. П. Свірська, Т. І. Козак // Матеріали міжн. науково-практичної конф. „Фітоапiterapia: здобутки і перспективи”, (Ужгород, 20-21 квітня 2012 р.) / ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, Словацький аграрний університет в Нітрі, Управління охорони здоров'я Закарпатської ОДА. – Ужгород, 2012. – С. 267 – 269.
5. Впроваджено: кафедра фармакогнозії Національного фармацевтичного університету.
6. Форма впровадження: навчальний процес (лекційний курс, практичні заняття), наукова робота викладачів кафедри.
7. Ефект від впровадження: поглиблення знань студентів з питань дослідження хімічного складу, фармакологічної активності та перспектив використання нових видів лікарських рослин роду Воловик.
8. Строки впровадження: 2017-2018 навч. рік.

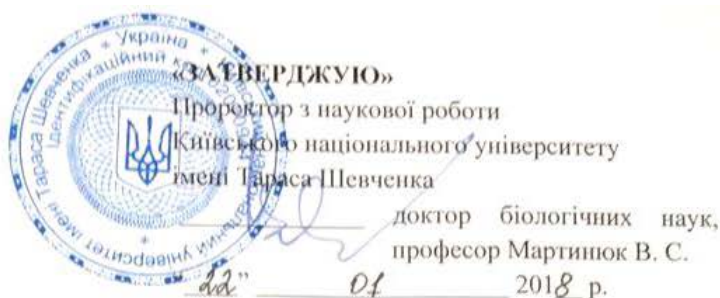
Завідувач кафедри фармакогнозії
Національного фармацевтичного університету
д.фарм.н, проф.

Відповідальна за впровадження:
к.фарм.н., доц.

Кошовий О.М.

Бородіна Н.В.

Додаток В.10



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик.
2. **Заклад, що розробив, його поштова адреса:** ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», вул. Галицька, 2, м. Івано-Франківськ, 76018.
3. **Прізвище, ім'я, по батькові авторів:** А. Р. Грицик, С. П. Свірська.
4. **Джерела інформації:**
 1. Грицик А. Р. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія / А. Р. Грицик, С. П. Свірська. – Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г.М., 2017. – 109 с.
 2. Грицик А. Р. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – №3. – С. 174 – 181.
 3. Грицик А. Р. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Фармаком. – 2016. – №3, додаток. – С. 117 – 123.
 4. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з противиразковою дією / С. П. Свірська // Матеріали III міжн. науково-практичної конф. молодих вчених, (Вінниця, 17-18 квітня 2012 р.) / Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – Вінниця, 2012. – С. 98.
 5. Грицик А. Р. Розповсюдження рослин роду Воловик в Україні та дослідження можливості їх інтродукції / А. Р. Грицик, С. П. Свірська, Т. І. Козак // Матеріали міжн. науково-практичної конф. «Фітоапiterapia: здобутки і перспективи», (Ужгород, 20-21 квітня 2012 р.) / ДВНЗ «Ужгородський національний університет», Словацький аграрний університет в Нітрі, Управління охорони здоров'я Закарпатської ОДА. – Ужгород, 2012. – С. 267 – 269.
5. **Впроваджено:** в наукову роботу та навчальний процес Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка.
6. **Терміни впровадження:** 2017 – 2018 н. р.
7. **Результати впровадження:** поглиблення знань студентів щодо морфологічної та анатомічної будови, розповсюдження, особливостей заготівлі та раціонального використання, хімічного складу та фармакологічної дії рослин роду Воловик.

Директор ННЦ «Інститут біології та медицини»
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка
доктор біологічних наук, професор

Л. І. Остапченко

Додаток В.11



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор
науково-педагогічної роботи
ЛНМУ ім. Данила Галицького
член-кор. НАМН України
проф. Гжегоцький М. Р.
« 22 » « 01 » 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** результати фармакогностичного дослідження рослин роду Воловик (*Anchusa L.*) флори України.
2. **Установа, автор:** Івано-Франківський національний медичний університет; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2, кафедра фармації; завідувач кафедри фармації професор Грицик А.Р.; здобувач С.П. Свірська.
3. **Джерела інформації:**
 1. Грицик А. Р. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія / А. Р. Грицик, С. П. Свірська. – Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г.М., 2017. – 109 с.
 2. Грицик А. Р. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – №3. – С. 174 - 181.
 3. Грицик А. Р. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis L.*) / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Фармаком. – 2016. – № 3, додаток. – С. 117 - 123.
 4. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з противиразковою дією / С. П. Свірська // Матеріали III міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених, Вінниця, 17-18 квітня 2012 р. / Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – Вінниця, 2012. – С. 98.
 5. Грицик А. Р. Розповсюдження рослин роду Воловик в Україні та дослідження можливості їх інтродукції / А. Р. Грицик, С. П. Свірська, Т. І. Козак // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції „Фітоапітерапія: здобутки і перспективи“, Ужгород, 20-21 квітня 2012 р. / ДВНЗ "Ужгородський національний університет". Словацький аграрний університет в Нітрі. Управління охорони здоров'я Закарпатської ОДА. – Ужгород. 2012. – С. 267 - 269.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії і ботаніки ЛНМУ ім. Данила Галицького.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес (лекційний курс) та наукова робота викладачів кафедри фармакогнозії і ботаніки ЛНМУ ім. Данила Галицького.
6. **Ефективність впровадження:** поглиблення знань студентів з питань морфолого-анатомічної будови, хімічного складу, фармакологічної активності та перспектив використання в медицині деяких видів роду Воловик флори України, зокрема воловика лікарського (*Anchusa officinalis L.*).
7. **Термін впровадження:** 2017-2018 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармакогнозії і ботаніки
ЛНМУ ім. Данила Галицького, канд. фарм. наук, доцент

Р. С. Дармограй

Додаток В.12



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик
2. Заклад, що розробив, його поштова адреса: Івано-Франківський національний медичний університет; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.
3. Прізвище, ім'я, по батькові авторів: А. Р. Грицик, С. П. Свірська.
4. Джерела інформації:
 1. Грицик А. Р. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія / А. Р. Грицик, С. П. Свірська. – Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г.М., 2017. – 109 с.
 2. Грицик А. Р. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – №3. – С. 174 – 181.
 3. Грицик А. Р. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Фармаком. – 2016. – №3, додаток. – С. 117 – 123.
 4. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з противиразковою дією / С. П. Свірська // Матеріали III міжн. науково-практичної конф. молодих вчених, (Вінниця, 17-18 квітня 2012 р.) / Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – Вінниця, 2012. – С. 98.
 5. Грицик А. Р. Розповсюдження рослин роду Воловик в Україні та дослідження можливості їх інтродукції / А. Р. Грицик, С. П. Свірська, Т. І. Козак // Матеріали міжн. науково-практичної конф. „Фітоапітерапія: здобутки і перспективи”, (Ужгород, 20-21 квітня 2012 р.) / ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, Словацький аграрний університет в Нітрі, Управління охорони здоров'я Закарпатської ОДА. – Ужгород, 2012. – С. 267 – 269.
5. Впроваджено: кафедра фармацевтичної хімії та фармакогнозії Київського медичного університету
6. Терміни впровадження: 2016-2017 навч. рік.
7. Результати впровадження: поглиблення знань студентів з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри
фармацевтичної хімії та
фармакогнозії
Київського медичного університету,
д.фарм. н., професор

О. Ю. Коновалова

Додаток В.13



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик

2. Заклад, що розробив, його поштова адреса: Івано-Франківський національний медичний університет: 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.

3. Прізвище, ім'я, по батькові авторів: А. Р. Грицик, С. П. Свірьска.

4. Джерела інформації:

1. Грицик А. Р. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія / А. Р. Грицик, С. П. Свірьска. – Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г.М., 2017. – 109 с.

2. Грицик А. Р. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин / А. Р. Грицик, С. П. Свірьска // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – №3. – С. 174 – 181.

3. Грицик А. Р. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) / А. Р. Грицик, С. П. Свірьска // Фармаком. – 2016. – №3, додаток. – С. 117 – 123.

4. Свірьска С. П. Розробка лікарських засобів з протівовиразковою дією / С. П. Свірьска // Матеріали III міжн. науково-практичної конф. молодих вчених. (Вінниця, 17-18 квітня 2012 р.) / Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – Вінниця, 2012. – С. 98.

5. Грицик А. Р. Розповсюдження рослин роду Воловик в Україні та дослідження можливості їх інтродукції / А. Р. Грицик, С. П. Свірьска, Т. І. Козак // Матеріали міжн. науково-практичної конф. „Фітоапiterapia: здобутки і перспективи”, (Ужгород, 20-21 квітня 2012 р.) / ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, Словацький аграрний університет в Нїтрі, Управління охорони здоров'я Закарпатської ОДА. – Ужгород, 2012. – С. 267 – 269.

5. Впроваджено в лекційний курс з фармакогнозії для студентів 3-го курсу фармацевтичного факультету.

6. Терміни впровадження: з січня 2018 року.

7. Результати впровадження: покращено уявлення студентів про біологічно-активних речовини рослин роду Воловик та перспективність їх застосування в медичній практиці.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки, д.біол.н., доцент
 Тржецинський С.Д.

«14» лютого 2018 р.

Додаток В.14

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з наукової роботи
 ДВНЗ «Тернопільський державний
 медичний університет
 імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»
 проф. Клишук
 02.04.2018 р.
 02010830

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик.
2. **Заклад, що розробив, його поштова адреса:** Івано-Франківський національний медичний університет; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.
3. **Прізвище, ім'я, по батькові авторів:** А. Р. Грицик, С. П. Свірська.
4. **Джерела інформації:**
 1. Грицик А. Р. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія / А. Р. Грицик, С. П. Свірська. – Івано-Франківськ: Видавель Кушнір Г.М., 2017. – 109 с.
 2. Грицик А. Р. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – № 3. – С. 174 – 181.
 3. Грицик А. Р. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Фармаком. – 2016. – № 3, додаток. – С. 117 – 123.
 4. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з противиразковою дією / С. П. Свірська // Матеріали III міжн. науково-практичної конф. молодих вчених, (Вінниця, 17-18 квітня 2012 р.) / Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – Вінниця, 2012. – С. 98.
 5. Грицик А. Р. Розповсюдження рослин роду Воловик в Україні та дослідження можливості їх інтродукції / А. Р. Грицик, С. П. Свірська, Т. І. Козак // Матеріали міжн. науково-практичної конф. „Фітоанітерапія: здобутки і перспективи”, (Ужгород, 20-21 квітня 2012 р.) / ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, Словацький аграрний університет в Нїтрі, Управління охорони здоров'я Закарпатської ОДА. – Ужгород, 2012. – С. 267 – 269.
5. **Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.
6. **Форма впровадження:** навчальний процес (лекційний курс, практичні заняття), наукова робота викладачів кафедри.
7. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань дослідження хімічного складу, фармакологічної активності та перспектив використання нових видів лікарських рослин флори України.
8. **Термін впровадження:** 2017-2018 навчальний рік.

Завідувач кафедри
 фармакогнозії з медичною ботанікою
 ДВНЗ «Тернопільський державний медичний
 університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»

 проф. Марчишин С.М.

Додаток В.15

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з наукової роботи
ДЗ «ДМА МОЗ України»

Професор В.Й.Мамчур

2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик

2. Заклад, що розробив, його поштова адреса: Івано-Франківський національний медичний університет; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.

3. Прізвище, ім'я, по батькові авторів: А. Р. Грицик, С. П. Свірська.

4. Джерела інформації:

1. Грицик А. Р. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія / А. Р. Грицик, С. П. Свірська. – Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г.М., 2017. – 109 с.

2. Грицик А. Р. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – №3. – С. 174 – 181.

3. Грицик А. Р. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Фармаком. – 2016. – №3, додаток. – С. 117 – 123.

4. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з противиразковою дією / С. П. Свірська // Матеріали III міжн. науково-практичної конф. молодих вчених, (Вінниця, 17-18 квітня 2012 р.) / Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. – Вінниця, 2012. – С. 98.

5. Грицик А. Р. Розповсюдження рослин роду Воловик в Україні та дослідження можливості їх інтродукції / А. Р. Грицик, С. П. Свірська, Т. І. Козак // Матеріали міжн. науково-практичної конф. „Фітоанітерапія: здобутки і перспективи“, (Ужгород, 20-21 квітня 2012 р.) / ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, Словацький аграрний університет в Нітрі, Управління охорони здоров'я Закарпатської ОДА. – Ужгород, 2012. – С. 267 – 269.

5. Впроваджено в науково-викладацьку роботу кафедри з курсу фітотерапія, фармакогнозія та фармацевтична ботаніка і науково-дослідницьку роботу кафедри медичної біології, фармакогнозії та ботаніки державного закладу «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

6. Терміни впровадження: 2016 - 2018 н. р.

7. Результати впровадження: результати досліджень з біохімічних та фармакогностичних характеристик рослини роду Воловик внесені в лекційний курс фітотерапії та фармакогнозії. Використання встановлених основних анатомічних діагностичних ознак трави воловика лікарського є перспективними при розробці проекту методів контролю якості на лікарську рослинну сировину.

Відповідальний за впровадження:

викладач кафедри медичної біології,
фармакогнозії та ботаніки ДЗ «ДМА МОЗ України»
к.б.н. Колосова І.І.

«13» _____ 2018 р.

Скар

Додаток В.16



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик

2. Заклад, що розробив, його поштова адреса: Івано-Франківський національний медичний університет; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.

3. Прізвище, ім'я, по батькові авторів: А. Р. Грицик, С. П. Свірська.

4. Джерела інформації:

1. Грицик А. Р. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія / А. Р. Грицик, С. П. Свірська. – Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г.М., 2017. – 109 с.

2. Грицик А. Р. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – №3. – С. 174 – 181.

3. Грицик А. Р. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Фармаком. – 2016. – №3, додаток. – С. 117 – 123.

4. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з протівіразковою дією / С. П. Свірська // Матеріали III міжн. науково-практичної конф. молодих вчених, (Вінниця, 17-18 квітня 2012 р.) / Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – Вінниця, 2012. – С. 98.

5. Грицик А. Р. Розповсюдження рослин роду Воловик в Україні та дослідження можливості їх інтродукції / А. Р. Грицик, С. П. Свірська, Т. І. Козак // Матеріали міжн. науково-практичної конф. „Фітоапiterapia: здобутки і перспективи”, (Ужгород, 20-21 квітня 2012 р.) / ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, Словацький аграрний університет в Нїтрі, Управління охорони здоров'я Закарпатської ОДА. – Ужгород, 2012. – С. 267 – 269.

5. Впроваджено: у навчальний процес кафедри морфології та фармації цього університету, а також у спеціальності: «Фармація» та «Фармація» (інтернаціоналізм) у спеціальності «Загальна фармація», курс Фармакологія.

6. Терміни впровадження: з 2012 р.

7. Результати впровадження:

Відповідальний за впровадження:

Зав. каф. морфології та фарм.
Трава загальної і клінічної фарм.,
професор Шашоваєва В.С.
«26» «11» 2012 р.

Додаток В.17



“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Директор ТОВ «Фітонік»
 Іван Білошанський
 Підпис: [підпис]
 14» 03 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик

2. Заклад, що розробив, його поштова адреса: Івано-Франківський національний медичний університет; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.

3. Прізвище, ім'я, по батькові авторів: А. Р. Грицик, С. П. Свірська.

4. Джерела інформації:

1. Грицик А. Р. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія / А. Р. Грицик, С. П. Свірська. – Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г.М., 2017. – 109 с.

2. Грицик А. Р. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – №3. – С. 174 – 181.

3. Грицик А. Р. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Фармаком. – 2016. – №3, додаток. – С. 117 – 123.

4. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з протівовиразковою дією / С. П. Свірська // Матеріали III міжн. науково-практичної конф. молодих вчених, (Вінниця, 17-18 квітня 2012 р.) / Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. – Вінниця, 2012. – С. 98.

5. Грицик А. Р. Розповсюдження рослин роду Воловик в Україні та дослідження можливості їх інтродукції / А. Р. Грицик, С. П. Свірська, Т. І. Козак // Матеріали міжн. науково-практичної конф. „Фітоапітерапія: здобутки і перспективи”, (Ужгород, 20-21 квітня 2012 р.) / ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, Словацький аграрний університет в Нітрі, Управління охорони здоров'я Закарпатської ОДА. – Ужгород, 2012. – С. 267 – 269.

5. Впроваджено: ТОВ «Фітонік»

6. Терміни впровадження: 2017-2018 роки

7. Результати впровадження: Розробка технічної документації для виробництва фітоаїк

Відповідальний за впровадження:

Заступник директора
 ТОВ «Фітонік»
 Іван Білошанський
 «14» 03 2018 р.

Додаток В.18

“ЗАТВЕРДЖУЮ”
 Начальник Випробувального центру
 ДП «Івано-Франківський стандартметрологія»
 Т.І. Стасів
 “ 19 ” 03 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Фармакогностичне дослідження рослин роду Воловик

2. Заклад, що розробив, його поштова адреса: Івано-Франківський національний медичний університет; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.

3. Прізвище, ім'я, по батькові авторів: А. Р. Грицик, С. П. Свірська.

4. Джерела інформації:

1. Грицик А. Р. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія / А. Р. Грицик, С. П. Свірська. – Івано-Франківськ: Видавець Кушнір Г.М., 2017. – 109 с.

2. Грицик А. Р. Рослини роду Воловик – перспективне джерело біологічно активних речовин / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – №3. – С. 174 – 181.

3. Грицик А. Р. Морфолого-анатомічне дослідження трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) / А. Р. Грицик, С. П. Свірська // Фармаком. – 2016. – №3, додаток. – С. 117 – 123.

4. Свірська С. П. Розробка лікарських засобів з противиразковою дією / С. П. Свірська // Матеріали III міжн. науково-практичної конф. молодих вчених, (Вінниця, 17-18 квітня 2012 р.) / Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – Вінниця, 2012. – С. 98.

5. Грицик А. Р. Розповсюдження рослин роду Воловик в Україні та дослідження можливості їх інтродукції / А. Р. Грицик, С. П. Свірська, Т. І. Козак // Матеріали міжн. науково-практичної конф. „Фітоапiterapia: здобутки і перспективи”, (Ужгород, 20-21 квітня 2012 р.) / ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, Словацький аграрний університет в Нітрі, Управління охорони здоров'я Закарпатської ОДА. – Ужгород, 2012. – С. 267 – 269.

5. Впроваджено: Випробувальний центр ДП «Івано-Франківський стандартметрологія»

6. Терміни впровадження: 2018 р.

7. Результати впровадження: Впроваджені наукові результати досліджень використовуватимуться для забезпечення експертної оцінки та розробки перспективних лікарських засобів

Відповідальний за впровадження:

Інженер II категорії Випробувального центру ДП «Івано-Франківський стандартметрологія»

Л.І.Ференчук

“ 19 ” 03 2018 р.

Додаток Д.1

ПРОЕКТ

ЗАТВЕРДЖЕНО

Наказ Міністерства охорони
здоров'я України

№ ____ від ____

Реєстраційне посвідчення

№ ____

Заявник, країна _____

Виробник, країна _____

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Herba Anchusa officinalis

Воловика лікарського трава,

по 50 г у пачках

Продовж. дод. Д.1

телефон та товарний знак, назву препарату латинською і українською мовами, масу вмісту упаковки в грамах при максимально допустимій вологості, показання до застосування, спосіб застосування, дози, умови зберігання і термін придатності, умови відпустки («Відпускають без рецепта», «Зберігати в недоступному для дітей місці», «Радіологічний контроль гарантований»), реєстраційний номер, номер серії, штриховий код.

На етикетці групової тари додатково зазначають кількість упаковок. Транспортне маркування відповідно до ГОСТ 14192-96.

ТРАНСПОРТУВАННЯ

Відповідно до ГОСТ 17768-96 і ГОСТ 64-034-87.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

У сухому захищеному від світла місці при температурі 18-20⁰С.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

3 роки.

В. о. ректора ДВНЗ «Івано-Франківський
національний медичний університет»



проф. Г. М. Ерстенюк
« 14 » 06 2018 р.

Завідувач кафедри фармації
ДВНЗ «Івано-Франківський
національний медичний університет»

проф. А. Р. Грицик
« 14 » 06 2018 р.

Здобувач кафедри фармації
ДВНЗ «Івано-Франківський
національний медичний університет»

С. П. Свірська
« 14 » 06 2018 р.

Додаток Д.2

ПРОЕКТ

ЗАТВЕРДЖЕНО

Наказ Міністерства охорони
здоров'я України

№ ____ від _____

Реєстраційне посвідчення
№ _____

Заявник, країна _____

Виробник, країна _____

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Anchusa officinalis extractum siccum

Воловика лікарського екстракт сухий

*Порошок (субстанція) в пакетах подвійних поліетиленових для
виробництва нестерильних лікарських форм*

Продовж. дод. Д.2

ПАКУВАННЯ

В пакетах подвійних поліетиленових, вкладених в герметично закупорені контейнери.

МАРКУВАННЯ

На етикетці українською або англійською мовою зазначають країну - виробника, фірму - виробника, назву субстанції, масу субстанції, умови зберігання, номер серії, термін придатності, штриховий код.

ЗБЕРІГАННЯ

В сухому, захищеному від світла місці.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

3 роки.

В. о. ректора ДВНЗ «Івано-Франківський
національний медичний університет»



проф. Г. М. Ерстенюк
« 14 » « 06 » 2018 р.

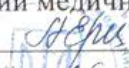
Завідувач кафедри фармації
ДВНЗ «Івано-Франківський
національний медичний університет»

проф. А. Р. Грицик
« 14 » « 06 » 2018 р.

Здобувач кафедри фармації
ДВНЗ «Івано-Франківський
національний медичний університет»

С. П. Свірська
« 14 » « 06 » 2018 р.

Додаток Е

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 В. о. ректора ДВНЗ «Івано-Франківський
 національний медичний університет»
 професор  Г.М. Ерстенюк
 « 14 » 06 2018 р.



ІНСТРУКЦІЯ

ІЗ ЗАГОТІВЛІ ТА СУШІННЯ ТРАВИ ВОЛОВИКА ЛІКАРСЬКОГО

Воловик лікарський (*Anchusa officinalis* L.) – дворічна рослина родини Шорстколисті (*Boraginaceae*). Стебло пряме, ребристе до 30 см завдовжки, вкрите відстовбурченими волосками, розміщеними на дрібних білих горбочках. Прикореневі листки лінійно-ланцетні, звужені в крилаті черешки, 2-4 см завдовжки, густо вкриті волосками з обох боків. Стеблові листки чергові, 1-3 см завдовжки, лінійно-ланцетні, цілокраї дещо хвилясті по краю, коротко загострені, сидячі, біля основи розширені і напівстеблообгортні, вкриті середньої жорсткості волосками, нижня поверхня густо вкрита білими горбочками. Квіти двостатеві, правильні, з подвійною оцвітиною, на коротких, густо опушених і відігнутих донизу квітконіжках, зібрані короткими густими завійками. Чашечка густоволосиста, трохи більше ніж досередини розділена на вузько-ланцетні, загострені частки довжиною 4-6 мм, при плодах – дзвоникovidна. Віночок спочатку синій, з циліндричною, доверху трохи розширеною трубкою, довжиною 5-7 мм. Наявні п'ять тичинок з круглими пиляками та короткими тичинковими нитками, які не виступають з трубочки віночка. Гінецей ценокарпний, стовпчик ниткоподібний. Плід – ценобій, що складається з темно-бурих, косо-яйцевидних, сітчасто-зморшкуватих і дрібно-горбочкуватих кулястих горішків, при основі із складчастим валиком навколо округленого і поглибленого рубчика. Запах специфічний. Смак гіркий.

На території України зростає 11 видів рослин роду Воловик, серед яких найбільш поширеними є воловик лікарський та воловик високий. Можливими

Додаток Ж

Таблиця Ж.1

Номенклатура видів роду Воловик

№ п/п	Назва рослини	Інформаційний ресурс			
		The Plant List	NCBI	GRIN	Flora Europaea
1	2	3	4	5	6
1.	<i>Anchusa aegyptica</i> (L.) A.DC.	+	+	-	+
2.	<i>Anchusa affinis</i> R.Br.	+	+	-	-
3.	<i>Anchusa arvensis</i> (L.) M.Bieb.	+	+	+	-
4.	<i>Anchusa arvensis</i> subsp. <i>orientalis</i> (L.) Nordh.	+	+	-	-
5.	<i>Anchusa aucheri</i> A.DC.	+	-	-	-
6.	<i>Anchusa azurea</i> Mill.	+	+	+	+
7.	<i>Anchusa azurea</i> var. <i>kurdica</i> (Gusul.) D.F.Chamb.	+	-	-	-
8.	<i>Anchusa azurea</i> var. <i>macrocarpa</i> (Boiss. & Hohen.) D.F.Chamb.	+	-	-	-
9.	<i>Anchusa barrellieri</i> Vitman	+	-	+	-
10.	<i>Anchusa calcarea</i> Boiss.	+	-	-	+
11.	<i>Anchusa capensis</i> Thunb.	+	+	+	-
12.	<i>Anchusa capellii</i> Moris	-	+	-	+
13.	<i>Anchusa cespitosa</i> Lam.	+	+	-	+
14.	<i>Anchusa cretica</i> Mill.	+	-	-	-
15.	<i>Anchusa crispa</i> Viv.	+	+	-	+
16.	<i>Anchusa crispa</i> subsp. <i>maritima</i> (Vals.) Selvi & Bigazzi	+	+	-	-
17.	<i>Anchusa davidovii</i> Stoj.	-	-	-	+
18.	<i>Anchusa</i> × <i>digenea</i> Gusul.	+	-	-	-
19.	<i>Anchusa dinsmorei</i> Rech.f.	+	-	-	-
20.	<i>Anchusa formosa</i> Selvi, Bigazzi & Bacch.	+	+	-	+

Продовж. дод. Ж

Продовж. табл. Ж.1

1	2	3	4	5	6
21.	<i>Anchusa gmelinii</i> Ledeb.	+	-	-	+
22.	<i>Anchusa granatensis</i> Boiss.	-	-	+	-
23.	<i>Anchusa hybrida</i> Ten.	-	-	+	+
24.	<i>Anchusa humilis</i> (Desf.) I.M.Johnst.	+	-	-	-
25.	<i>Anchusa iranica</i> Rech.f.&Esfand	+	-	-	-
26.	<i>Anchusa leptophylla</i> Roem.& Schult.	+	+	+	+
27.	<i>Anchusa leptophylla</i> subsp. <i>Incana</i> (Ledeb.) D.F.Chamb.	+	+	+	-
28.	<i>Anchusa leptophylla</i> subsp. <i>tomentosa</i> (Boiss.) D.F.Chamb.	+	-	-	-
29.	<i>Anchusa leucantha</i> Selvi&Bigazzi	+	+	-	+
30.	<i>Anchusa limbata</i> Boiss.	+	+	-	+
31.	<i>Anchusa littorea</i> Moris	-	-	-	+
32.	<i>Anchusa milleri</i> Lam. ex Spreng.	+	+	-	+
33.	<i>Anchusa montelinasana</i> Angius, Pontec. & Selvi	+	+	-	+
34.	<i>Anchusa negevensis</i> Danin	+	-	-	-
35.	<i>Anchusa ochroleuca</i> M.Bieb.	+	+	+	+
36.	<i>Anchusa officinalis</i> L.	+	+	+	+
37.	<i>Anchusa officinalis</i> subsp. <i>Intacta</i> (Griseb.) Selvi & Bigazzi	+	-	-	-
38.	<i>Anchusa ovata</i> Lehm.	-	+	-	-
39.	<i>Anchusa procera</i> Besser ex Link	+	-	+	+
40.	<i>Anchusa pseudoochroleuca</i> Des.-Shost.	+	-	-	-
41.	<i>Anchusa puechii</i> Valdés	+	-	-	+
42.	<i>Anchusa pusilla</i> Gusul.	+	+	-	+
43.	<i>Anchusa riparia</i> DC.	-	-	+	-
44.	<i>Anchusa samothracica</i> Bigazzi & Selvi	+	+	-	+
45.	<i>Anchusa sardoa</i> (Illario) Selvi & Bigazzi	-	+	-	+

Продовж. дод. Ж

Продовж. табл. Ж.1

1	2	3	4	5	6
46.	<i>Anchusa strigosa</i> Banks& Sol.	+	+	-	+
47.	<i>Anchusa strigosa</i> subsp. <i>macrophylla</i> Riedl	+	-	-	-
48.	<i>Anchusa strigosa</i> subsp. <i>tonsa</i> Bornm.	+	-	-	-
49.	<i>Anchusa stylosa</i> M.Bieb.	+	+	+	+
50.	<i>Anchusa stylosa</i> subsp. <i>spruneri</i> (Boiss.) Nyman	+	-	-	-
51.	<i>Anchusa thessala</i> Boiss.& Spruner	+	+	-	+
52.	<i>Anchusa</i> × <i>thirkeana</i> Gusul.	+	-	-	-
53.	<i>Anchusa tiberiadis</i> Post	+	-	-	+
54.	<i>Anchusa undulata</i> L.	+	+	+	+
55.	<i>Anchusa undulata</i> subsp. <i>atlantica</i> (Ball) Braun-Blanq. & Maire	+	-	-	-
56.	<i>Anchusa undulata</i> subsp. <i>granatensis</i> (Boiss.) Valdés	+	-	-	-
57.	<i>Anchusa undulata</i> subsp. <i>hybrida</i> (Ten.) Cout.	+	+	+	-
58.	<i>Anchusa undulata</i> subsp. <i>sartorii</i> (Heldr. ex Gusul.) Selvi& Bigazzi	+	-	-	-
59.	<i>Anchusa variegata</i> (L.) Lehm.	+	-	-	-

Примітки:

1. Таблиця складена авторами на основі даних інформаційних ресурсів [182, 211, 246, 249];

2.+ – вид наявний у номенклатурі ресурсу;

- – вид відсутній у номенклатурі ресурсу.

Додаток Й

Таблиця Й.1

Відмінні морфологічні ознаки рослин роду **Воловик** флори України

Вид рослини	Стебло	Листки			Квітки	Плоди
		прикореневі	стеблові	приквіткові		
1	2	3	4	5	6	7
В. лікарський	30 – 100 см заввишки (завв.), прямо- стояче, замоло- ду просте, пізні- ше – дуже роз- галужене, з пониклими після цвітіння гілками, густо вкрите відстов- бурченими щетинками, розміщеними на дрібних білува- тих горбочках	Звужені в крилаті черешки, 2- 4 см завдовжки (завд.), після цвітіння рослини – засихають	Довгасто- або лінійно-ланцетні, цілокраї, інколи по краю трохи хвилясті і невиразно- зубчасті, коротко загострені. Сидячі, біля основи розширені і напівстебло- обгортні, знизу густо вкриті білими горбочками	Яйцепо- дібні або овально- ланцетні	На коротких, густо опушених, після цвітіння відігнутих донизу квітко- ніжках, зібрані короткими густими завійками. Чашечка густоволосиста, трохи більше ніж досере- дини розділена на вузько- ланцетні, загострені частки, при плодах – дзвонико- подібна. Віночок спочатку фіолетовий, потім синій, з циліндричною, доверху трохи розширеною трубоч- кою, рівною або незначно довшою від чашечки	Сірувато або темно-бурі, косо-яйцевид- ні, сітчасто- зморшкуваті і дрібно- горбочкуваті, при основі із складчастим валиком навколо округленого і поглибленого рубчика

Продовж. дод. Й

Продовж. табл. Й.1

1	2	3	4	5	6	7
В. високий	100 – 200 см завв., прямостояче, від основи або лише вгорі волотево розгалужене, вкрите відхиле- ними щетинка- ми, розміщени- ми на невеликих білуватих горбочках	Звужені в крилаті черешки, 2,5-10 см завд.	Довгасто- чи лінійно- ланцетні, цілокраї, нерівно дрібнозубчасті. Сидячі, по краю війчасті, напівстебло- обгортні, коротко загострені, з обох боків, але густіше зверху, вкриті білими горбочками, на яких розміщені волоски	Яйце- подібно- ланцетні	На дуже коротких ніжках або майже сидячі, зібрані до цвітіння густими короткими, при плодах видовженими, завійками. Чашечка густо опушена білими волосками, на чверть або до половини надрізана на частки, при плодах яйцеподібна. Віночок голубий або фіолетовий з розширеною догори майже рівною чашечці трубочкою	Косо- яйцеподібні, сітчасто- зморшкуваті і дрібно- горбочкуваті з майже гладеньким валиком навколо рубчика
В. Гмеліна	30 – 70 см завв., прямостояче, просте або розгалужене, не дуже густо вкрите притиснутими шорсткими волосками, розміщеними на білуватих дрібних горбочках	Звужені в черешки, 2,5-6 см завд.	Довгасто-лінійні, рідко лінійно- ланцетні, цілокраї, загострені. Сидячі, по краю коротковійчасті, густише опушені знизу, де на помітних білих горбочках розміщені волоски	Ланцет- ні або дов- гасто- овальні	На коротких густо і притисну- то опушених квітконіжках або майже сидячі, зібрані на кінцях стебел у густі короткі завійки. Чашечка вкрита рідки- ми жорсткими спрямованими догори волосками, п'ятироз- дільна, на третину надрізана на довгасті, на кінці тупі частки, по краю оточені вузькою перетинчастою облямівкою. Віночок синій або фіолетовий в 2 рази довший за чашечку.	Косо-яйцевид- ні, дрібно- горбочкуваті, з поздовжніми випнутими жилками, прикріплені гладеньким рубчиком до опуклого та з маленькими ямочками, квітколожа

Продовж. дод. Й

Продовж. табл. Й.1

1	2	3	4	5	6	7
В. вузько-листяний	45 – 145 см завв., прямостояче, здебільшого глибоко борозенчасте, просте або у верхній частині розгалужене, вкрите білуватими волосками, притиснутими під суцвіттям догори, а в решті стебла – донизу	Лінійні, звужені в майже рівні пластинці черешки, 6,5-20 см завд. і 0,8-1,9 см завш.	Довгасто- або лінійно-ланцетні. Сидячі, спрямовані догори, 4,5-24,5 см завд. і 0,4-1 см завш., по краю щетинисті і з обох боків вкриті білуватими волосками, розміщеними на невеличких горбочках, особливо помітних з верхнього боку листової пластинки	Коротші від чашечки	Суцвіття складається з багатьох густих, майже голівчастих завійок. Чашечка вузько-дзвоникоподібна, 4,5-8 мм завд. і 5-8 мм завш., на третину надрізана на 5 довгастих зубців, густо вкрита короткими і тонкими, а по краю і по жилках трохи довгими та міцнішими, притиснутими догори волосками. Віночок яскраво-синій, 5-9,3 мм завд., стовпчик 3,5-9 мм завд.	Косо-яйцеподібні, з боковим дзьобиком, сіро-коричневі, дрібно-крапчасто-горбочкуваті з кількома гострими зморшками на поверхні
В. світло-жовтий	30 – 70 см завв., прямостояче, просте або розгалужене, не густо вкрите притиснутими, а інколи і відхиленими шорсткими волосками, розміщеними на білуватих дрібних горбочках	Звужені в крилаті черешки, 1,5-5,5 см завд.	Довгасто-ланцетні або довгасто-лінійні, цілокраї, загострені. Сидячі, напівстеблообгортні, по краю війчасті	Довгасті або овально-трикутні, тупі, по краю довговійчасті, в 2 рази довші від квітконіжки	На густо опушених квітконіжках, зібрані у густі завійки. Чашечка густо щетинистоволосиста, надрізана на третину або половину на довгасті тупі, на верхівці округлі, зубці, які мають по краю широку перетинчасту облямівку. Віночок жовтуватий або жовтий, значно довший за чашечку з циліндричною, доверху розширеною, трубкою	Косо-яйцеподібні, сітчасто-зморшкуваті і дрібно-горбочкуваті

Продовж. дод. Й

Продовж. табл. Й.1

1	2	3	4	5	6	7
В. несправж- ньо- світло- жовтий	30 – 60 см завв., пряmostoяче, галузисте, вкрите шорсткими напівпритисну- тими волосками	Звужені в крилаті черешки, 2-5 см завд.	Сидячі, довгасто- ланцетні, на верхівці загострені, з країв хвилясті, з обох боків рівномірно і густо вкриті напівпритиснутими шорсткими волосками	Лінійно- ланцетні, тупуваті, довші від квітко- ніжки	На коротких притиснуто-опу- шених квітконіжках в завійках. Чашечка трубчасто-лійковид- на, густо вкрита білуватими спрямованими догори і при- тиснутими волосками, майже наполовину роздільна з тупи- ми зубцями, обведеними плів- частою облямівкою. Віночок жовтий з синюватими прожил- ками на трубочці, лійкоподіб- ноколесоподібний, з розшире- ною догори трубочкою, яка дещо перевищує чашечку	Косо- яйцеподібні, сітчасто- зморшкуваті і дрібно- горбочкуваті
В. фесалійсь- кий	10 – 42 см завв., пряmostoяче, міцне, від основи розгалужене, з розлогими гілками, розсіяно вкрите короткими віддеглими щетинками	Звужені в черешки	Сидячі, довгасто- ланцетні, цілокраї, або з кількома нерівними зубцями з країв, на верхівці загострені, з обох боків негусто вкриті короткими щетинка- ми, розміщеними на гоструватих білих горбочках	Вузько- ланцетні, загостре- ні, довші за квітко- ніжку, майже до половини довжини чашечки	Завійки негусті, малоквіткові. Квітконіжки щетинисті, подов- жені. Чашечка трубчасто- дзвоникоподібна, до основи розрізана на лінійні загострені частки, негусто вкрита довги- ми білими, прилеглими щетин- ками. Віночок голубуватий, при відцвітанні – блідо- фіолетовий, трубочка рівна або трохи довша за чашечку	Прямі, вузько- довгасті, з косою пло- щинкою при- кріплення; з черевного боку з кілем, з спинного – опуклі і вздовж зморшкуваті

Продовж. дод. Й

Продовж. табл. Й.1

1	2	3	4	5	6	7
В. італійський	30 – 115 см завв., пряmostoяче, борозенчасте, вгорі волотево розгалужене, вкрите довгими білими шорсткими волосками, розміщеними на невеликих горбочках	Лінійно- ланцетні, Звужені в широкі черешки 7-30 см завд. і 1,2-3,5 см завш., з волоска- ми на поверхні	Сидячі, ланцетні, блискучі, по краю нерівно хвилясто- дрібнозубчасті, 4- 19 см завд. і 0,2-3,6 см завш., волосяний покрив густий, з м'якими або жорсткими щетинками	Лінійні або яйце- подібно- ланцетні	З лінійно-ланцетними при- квітками на спрямованих догори пряmostoячих, білошерстисто-волосистих ніжках, зібрані вилчасто розгалуженими завійками. Чашечка вкрита довгими білуватими шорсткими волосками, майже до осно- ви розділена на п'ять вузько-лінійних загостре- них часток. Віночок голу- бий з розширеною трубчоч- кою, рівною чашечці.	Світло- або темно- бурі, довгасто- овальні, прямі, кутасто-трикутні, 5- 9 мм завд. і 2-4,5 мм завш., грубо- зморшкуваті з поглибленим рубчиком та валиком; з одного боку з вигнутою площинкою, з другого – опуклі
В. маленький	10 – 25 см завв., пряmostoяче, міцне, від основи розгалужене, негусто вкрите відстовбурчени- ми короткими щетинками	Звужені в черешки, 1-2,5 см завд.	Сидячі, широко- ланцетні, трохи загострені, з країв нерівновиймчасто- зубчасті, з обох боків розсіяно вкриті короткими твердими загост- реними щетин- ками, розміщеними на білих горбочках	Вузько- ланцетні і загост- рені	Завійки негусті, малоквіткові. Квітконіжки негустощетинисто- волосисті. Чашечка трубчасто-дзвоникоподібна, до основи розрізана на лінійні загострені частки, довгощетинисто-волосиста. Віночок блідо-фіолетовий, з трубчочкою, що в 1,5 рази довша від чашечки	Косо-яйцеподібні, дугоподібно-зігнуті, на спинці зі зморшками, що також ідуть дугоподібно

Продовж. дод. Й

Продовж. табл. Й.1

1	2	3	4	5	6	7
В. довгостовп- чиковий	15 – 30 см завв., пряmostoяче, тонке, вгорі гранчасте, від основи або лише вгорі волотево розгалужене, вкрите відхиленими рідкими короткими щетинками, розміщеними на невеликих білуватих горбочках	Звужені в крилаті черешки, 1-3 см завд.	Сидячі, напів- стебло-обгортні, довгасто-ланцетні, по краю виїмчас- то-дрібно-зубчасті і щетинисто- війчасті, знизу густо вкриті горбочками, на яких розміщені короткі щетинки, зверху опушені переважно по жилках	Ланцетні, загострені	В рідких завійках на відхилених щетинисто опушених квітконіжках. Чашечка вкрита і притиснутими довгими білуватими волосками, до основи розділена на лінійно-ланцетні тупі частки. Віночок червонувато-синій в 2-2,5 рази довший від чашечки, з циліндричною трубочкою, яка на третину довша від чашечки	Косо- яйцеподібні, світло-бурі, сітчасто- зморшкува- ті, дрібно- горбочкуваті з гладеньким валиком
В. Баррельє	30 – 80 см завв., пряmostoяче, вгорі розгалужене, опушене спрямова- ними догори м'якими волосками, у нижній частині густіше вкрите шорсткуватими і спрямованими донизу волосками	Звужені в крилаті черешки, 1,5-10 см завд.	Сидячі, довгасто- ланцетні або лінійно-ланцетні, коротко загострені, цілокраї або дрібнозубчасті, зверху рідше, а знизу густіше вкриті шорсткими волосками	-	В негустих завійках на коротких, при плодах однакової довжини з чашечкою квітконіжках. Чашечка майже до основи п'ятироздільна з тупими зубцями. Віночок голубий, майже колесоподібний з коротшою від чашечки трубочкою	Темно-бурі. довгасті, прямі, різсіяно- волосисті, зморшкуваті і дрібно- горбочкуваті з гладеньким рубчиком

Додаток К

Таблиця К.1

Відмінні морфологічні ознаки деяких видів роду **Воловик**

Вид рослини	Стебло	Листки			Квітки	Плоди
		прикореневі	стеблові	приквіткові		
1	2	3	4	5	6	7
В. хвилястий	22-73 см завдовжки (завд.), з колючими густими волосками. Волосяний покрив диморфічний, з борозенками чи подовгуватими горбиками	Обернено-ланцетні, 5,5-13 см завд., вкриті волосками	2,5-18 см завд. і 0,6-2,5 см завширшки (завш.), від лінійних до ланцетних, глибоко хвилясто-зубчасті	Ланцетні або яйцеподібно-ланцетні, 2-5 мм завд. і 0,5-0,8 мм завш., вкриті волосками	Суцвіття з декількома розгалуженими завитками. Чашечка 5,5 - 8,5 мм завд., розділена до половини на загострені лопаті. Віночок, зазвичай, темно-синій або фіолетовий, з пелюстками 2-4 мм завд. Тичинки 2-3 мм завд., як правило, не перекривають одна на одну. Маточка 3,5-8,5 мм завд.	Горішки 1,5-3 мм завд. і 2-3,5 мм завш., косо-яйцеподібні коричневі, з боковим дзьобиком і потовщеним базальним кільцем, сітчасто-зморшкуваті
В. маленький	Прямостояче, 30-78 см завд., з негусто розміщеними волосками, борозенчасте	Обернено-ланцетні, 2,5-12 см завд. і 0,8-1,5 см завш.	Лінійно-ланцетні або довгасто-ланцетні, зубчасті, 4-9 см завд. і 0,3-2 см завш.	Від лінійних до ланцетних з борозенчастими волосками, 2,5-6 мм завд. і 1-1,5 мм завш.	Суцвіття волотисте, складається з декількох завиток, значно подовжується після цвітіння. Чашечка 5-9 мм завд., розділена майже до основи на лінійні тупі лопаті. Віночок блідо-фіолетовий, частки 2,5-5,5 мм завд., з довгими волосками, косо-яйцеподібні. Тичинки – поблизу верхньої частини трубки. Маточка 4-8 мм завд.	Горішки 3-4.0 мм завд. і 2,5-4 мм завш., косо-яйцеподібні, сіро-коричневі

Продовж. дод. К

Продовж. табл. К.1

1.	2	3	4	5	6	7
В. єгипетський	30-55 см заввишки (завв.), розгалужене від основи. Волосяний покрив колючо-борозенчастий з щільними, короткими волосками розміщеними на виступаючих білуватих горбочках	-	28-63 мм завд., шириною 10-19 мм, обернено-ланцетні або довгасто-яйцеподібні, із зубчастими або виїмчасто-зубчастими краями	Довші від чашечки	Суцвіття – завитки. Квітконіжки від 2-3 мм завд. у квітів до 15 мм завд. у плодів. Чашечка 4-5 мм завд., майже до основи з лінійно-ланцетними частками. Віночок зигоморфний, від блідо-жовтого до кремового кольору. Тичинки прикріплені в нижній половині трубки ближче до середини, дві вищі, ніж три інші	Горішки 2-3 мм завд. та 4-5 мм завш., з гострим дзьобиком і товстим базальним кільцем. Поверхня сильно сітчасто-зморшкувата, жовто-білого кольору
В. сірий	Висхідне, 35-117 см завв.	-	Лінійно-ланцетні, цільні, 3,5-22 см завд. і 0,3-2 см завш.	3-4 мм завд. лінійно-ланцетні або яйцеподібно-ланцетні	Чашечка 5-8 мм завд., розділена на ½ на тупі частки. Віночок яскраво-синій 5-9,5 мм завд. і 4-6 мм завш.	Горішки, 2-3,5 мм завд. і 2-4 мм завш., косо-яйцеподібні, сіро-коричневі

Продовж. дод. К

Продовж. табл. К.1

1	2	3	4	5	6	7
В. красивий	Висхідне, до 40 см завв., вкрите щетинками до 3 мм завд.	Зібрані в щільні розетки 8-18 см завд. і 2,5-5 см завш., яскраво-зелені, від яйцеподібних до обернено-ланцетних, звужені в короткий черешок	Дрібні, сидячі	Трикутно-яйцеподібні трохи коротші від чашечки	Квітки майже сидячі, з 5-6 мм довжиною, розділені на чверть. Віночок з трубкою 8 мм у діаметрі, блакитно-фіолетовий. Тичинки 1,7 мм завд., частково перекривають одна одну	Горішки, косо-яйцеподібні, невеликі, чорні, з крихким обідком, з тупими зубцями
В. волосистий	Висхідне, до 40 см завв., опушене жорсткими волосками до 2 мм завд.	Сформовані в розетки, обернено-ланцетні, 7-14 см завд. і 1,5-3,5 см завш.	-	-	Суцвіття щільне. Плідоніжки подовжені до 8 мм, часто загнуті вниз. Чашечка 6-7 мм розділена на дві третини, широкодзвоникоподібні в плодах. Трубочка віночка 5-6 мм завд., блакитна. Тичинки 2,2 мм завд., частково перекривають одна одну	Плоди темно-коричневі, 2,8 мм завд. і 1,8 мм завш., з базальними кільцями, поверхня їх вкрита горбиками

Продовж. дод. К

Продовж. табл. К.1

1	2	3	4	5	6	7
В. гірський	Висхідне, 10 – 35 см завв., вкрите гіаліновими щетинками до 2 мм довжиною і щільними, більш короткими волосками	Зібрані в щільні розетки, обернено-ланцетні, 5-10 см завд. і 1-2 см завш., зі злегка хвилястими краями, вкриті щетинками, звужуються в короткий черешок	Дрібні, сидячі, майже лінійні	Яйцеподібно-ланцетні, біля основи серцеподібні	Суцвіття щільне. Квітконіжки 1-2 мм завд. під час цвітіння, до 8 мм завд. в плодах і часто відігнуті. Чашечка розділена на третину на п'ять трикутно-яйцеподібних, гострих часток, глекоподібно-трубчастих. Віночок яскраво-синьо-фіолетовий, циліндричний, з округлими лопатями, часто блідо-фіолетовий по краях. Тичинки 1,9 мм завд., довші від трубки і частково перекривають одна одну. Маточка дволопатева, 6 мм завд.	Горішки, поперечно яйцеподібні, 2,1 мм завд. і 1,7 мм завш., чорні, поверхня їх вкрита дрібними горбочками
В. сардинійський	Висхідне, 30 см завв., вкрите колючими, щільними, жорсткими волосками, що знаходяться на горбочках	Зібрані у вільну розетку, 10-15 см завд. і 1-2 см завш., яйцеподібно-ланцетні, виїмчасто-зубчасті або хвилясті	Дрібні, сидячі	Листоподібні, завжди значно довші від чашечки	Суцвіття щільні під час цвітіння. Квітки майже сидячі. Чашечка розділена до половини на п'ять підгострих часток, 9-11 мм завд., трубчаста. Віночок блідо-блакитний з трубкою 4-5 мм завд. Тичинки 1,7 мм завд., злегка перекривають одна одну	Косо-яйцеподібні, 2,5 мм завд. і 1,5 мм завш., із загостреною верхівкою, поверхня їх світло-коричнева

Продовж. дод. К

Продовж. табл. К.1

1	2	3	4	5	6	7
В. прибереж- ний	4-15 см завв., вкрите щетинистими волосками	3-6 см завд. і 0,4-0,8 см завш., вузько- обернено- ланцетні і звужені в короткий черешок	Майже лінійні, дрібні і сидячі	-	Суцвіття з невеликими квітами на квітконіжках 2-3 мм у довжину, відігнуті в плодах. Чашечка трубчаста, 3,5 мм завд., розділена на 1/2-2/3 на вузько-трикутні частки, до 5 мм завд., сферично-глекоподібна у плодах. Віночок 4 мм завд., світло-блакитний або білий, з округлими лопатями. Тичинки 1,3 мм завд., не перекривають одна одну	Сіро-коричневі горішки, 1,5-2 мм завд. і 0,5-1 мм завш., з боковим дзьобиком, тонким базальним кільцем та дрібногорбистою поверхнею
В. кучерявий	10-40 см завв., вкрите щетинистими волосками до 2 мм завд.	Зібрані у вільну розетку, 80-120 мм завд. і 3-8 мм завш., вузько- сублінійні, обернено- ланцетні, з хвилястим обрамленням	Лінійні, сидячі	Трикутно- яйцеподібні та до цвітіння майже рівні з чашечкою	Суцвіття щільні під час цвітіння. Плідоніжки до 2 мм завд. Чашечка 5-7 мм завд., майже кулясто-глекоподібна, розділена на 1/3-1/2 на п'ять тупих часток. Віночок синій або білуватий рідко ближче до фіолетового, з трубкою 4-5 мм завд. Тичинки 1,7 мм завд., злегка перекривають одна одну	Косо-яйцеподібні горішки з тупими верхівками, поверхня їх сірувата та горбкувата

Додаток Л

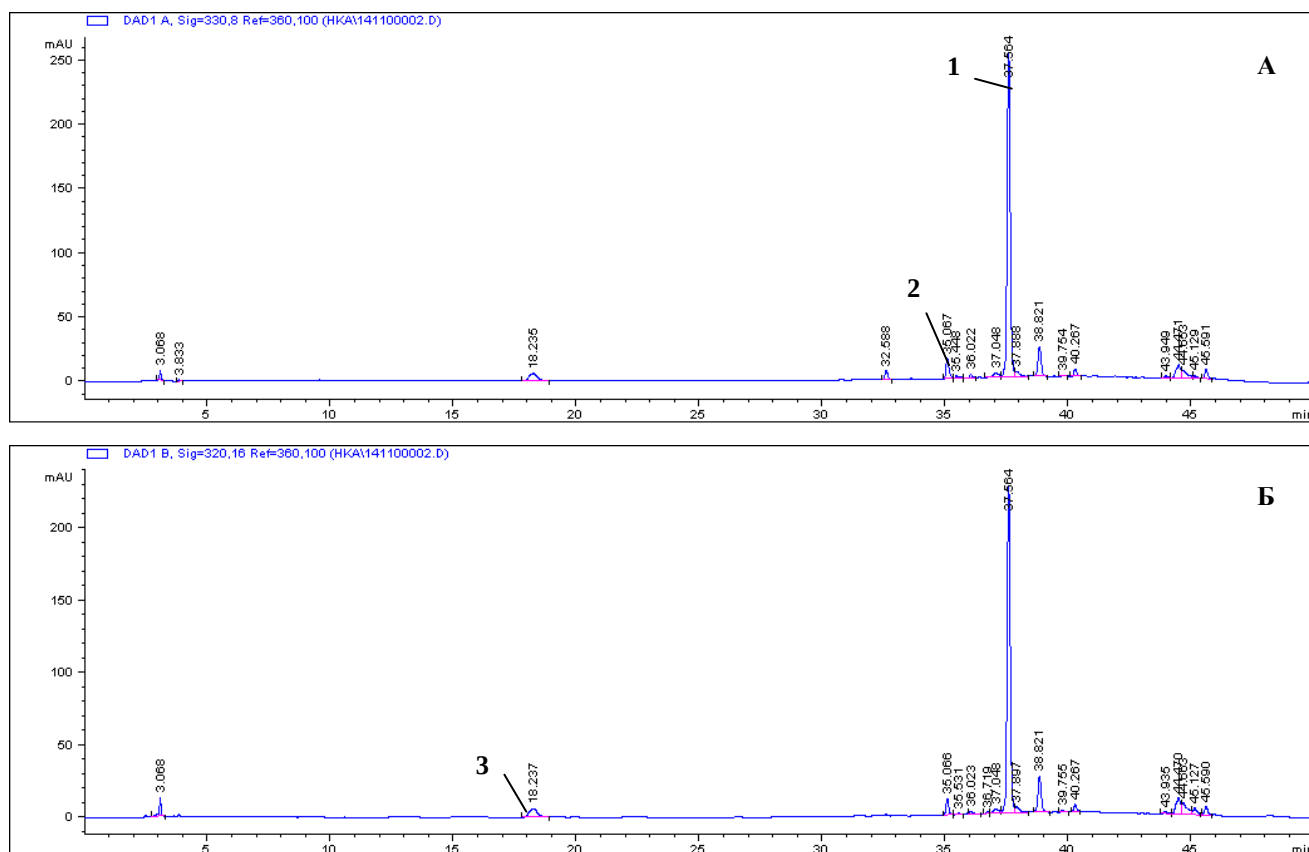


Рис. Л.1. Хроматограма (в умовах ВЕРХ) гідроксикоричних кислот трави в. лікарського: А – довжина хвилі 330 нм, Б – довжина хвилі 320 нм (1 – розмаринова кислота, 2 – ферулова кислота, 3 – кавова кислота)

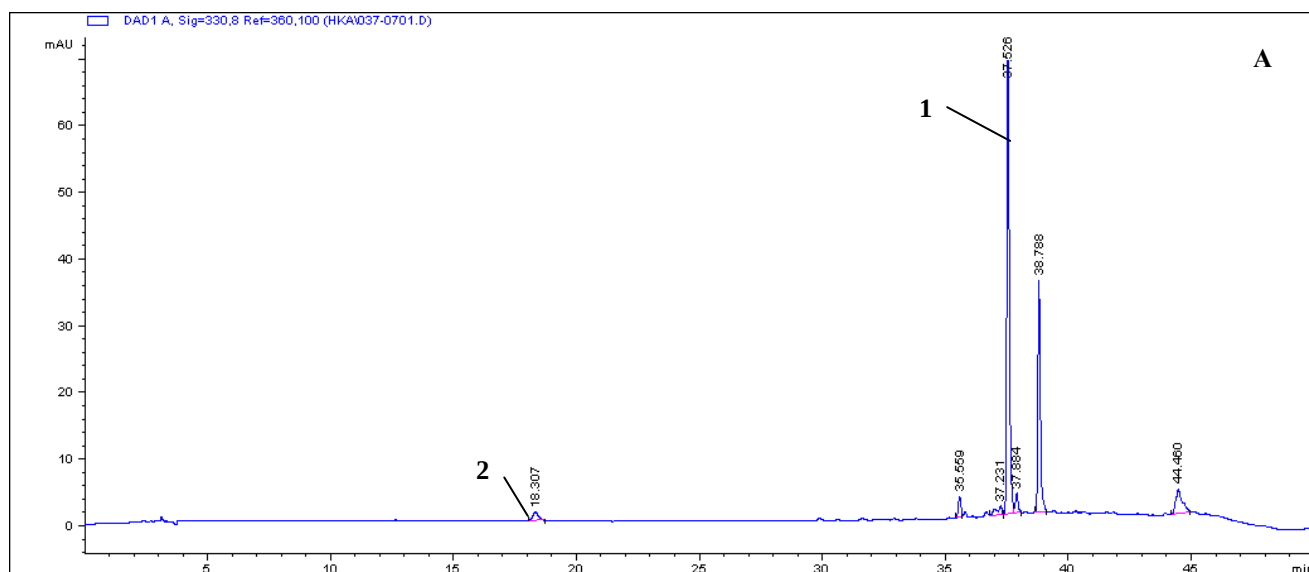


Рис. Л.2. Хроматограма (в умовах ВЕРХ) гідроксикоричних кислот коренів в. лікарського: А – довжина хвилі 330 нм (1 – розмаринова кислота, 2 – кавова кислота)

Додаток М

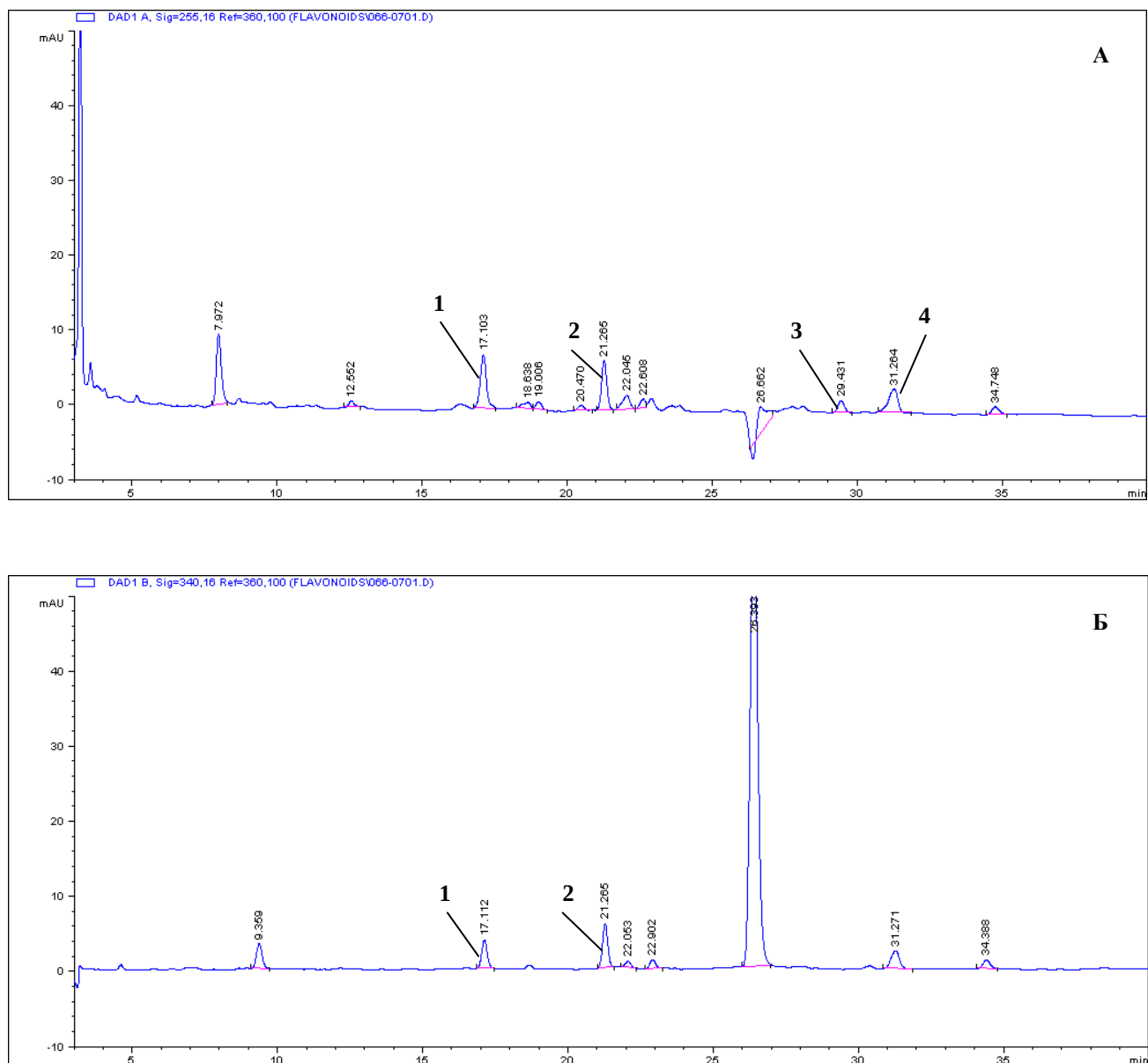


Рис. М.1. Хроматограма (в умовах ВЕРХ) флавоноїдів трави в. лікарського: А – довжина хвилі 255 нм, Б – довжина хвилі 340 нм (1 – ізокверцитрин, 2 – лютеолін, 3 – кумарин, 4 – апігенін)

Продовж. дод. М

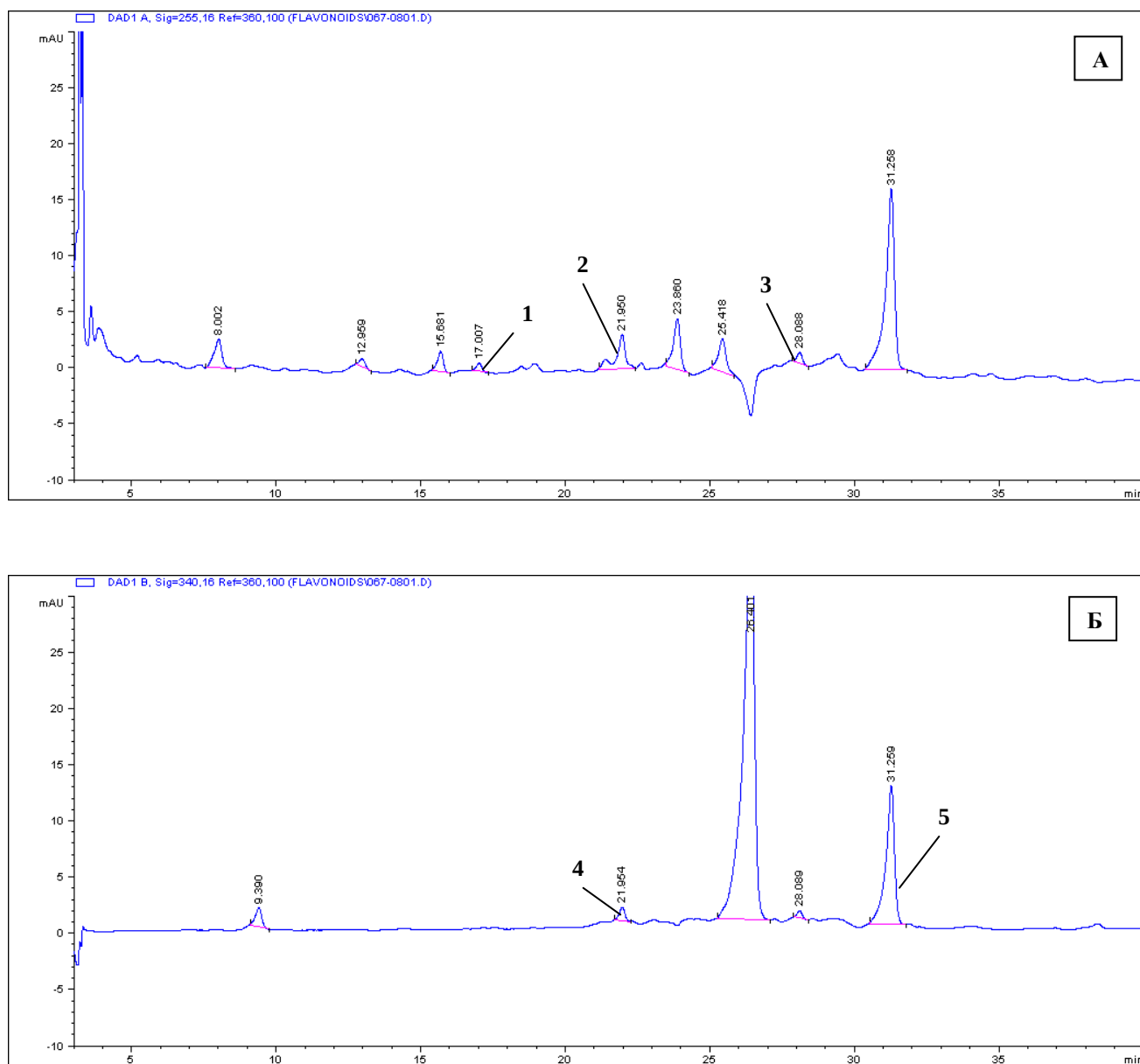


Рис. М.2. Хроматограма (в умовах ВЕРХ) флавоноїдів коренів в. лікарського: А – довжина хвилі 255 нм, Б – довжина хвилі 340 нм (1 – ізокверцитрин, 2 – кверцетин, 3 – кумарин, 4 – лютеолін, 5 – апігенін)

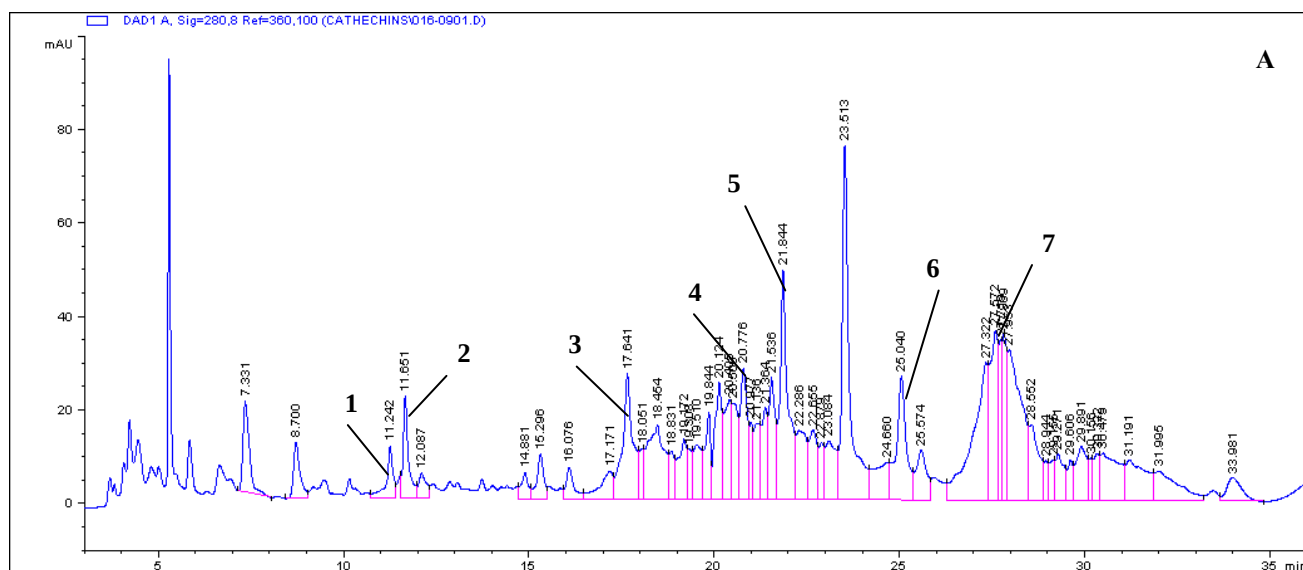


Рис. Н.1. Хроматограма (в умовах ВЕРХ) танінів трави в. лікарського: А – довжина хвилі 280 нм (1 – галова кислота, 2 – галокатехін, 3 – епігалокатехін, 4 – катехін, 5 – епікатехін, 6 – епікатехіну галат, 7 – катехіну галат)

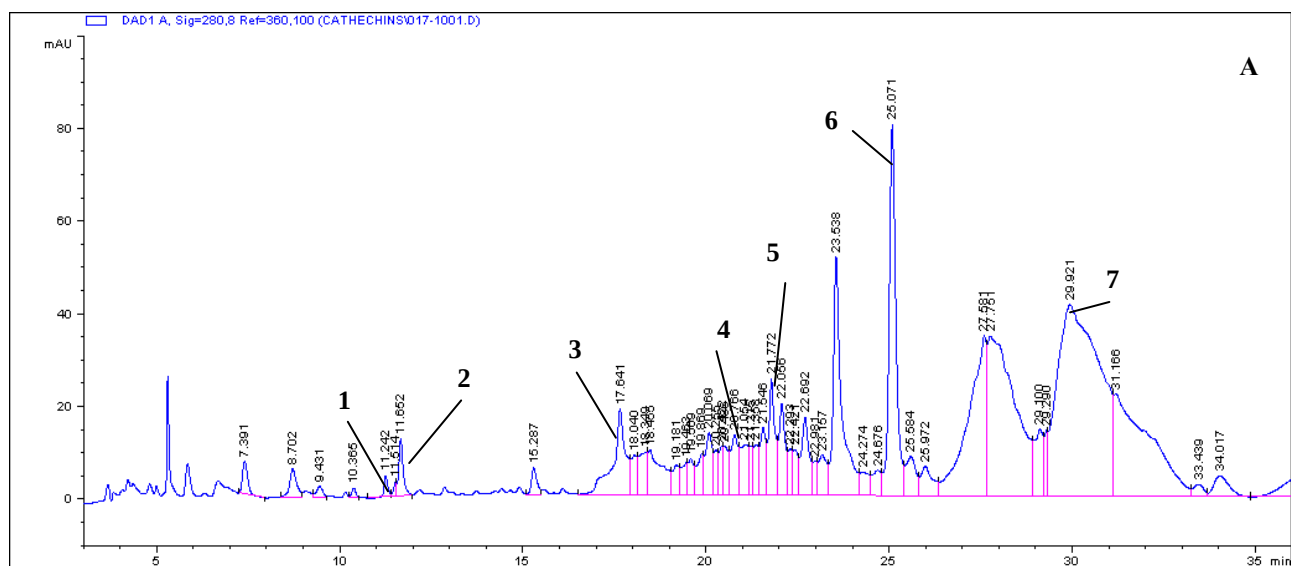


Рис. Н.2. Хроматограма (в умовах ВЕРХ) танінів коренів в. лікарського: А – довжина хвилі 280 нм (1 – галова кислота, 2 – галокатехін, 3 – епігалокатехін, 4 – катехін, 5 – епікатехін, 6 – епікатехіну галат, 7 – катехіну галат)

Додаток П

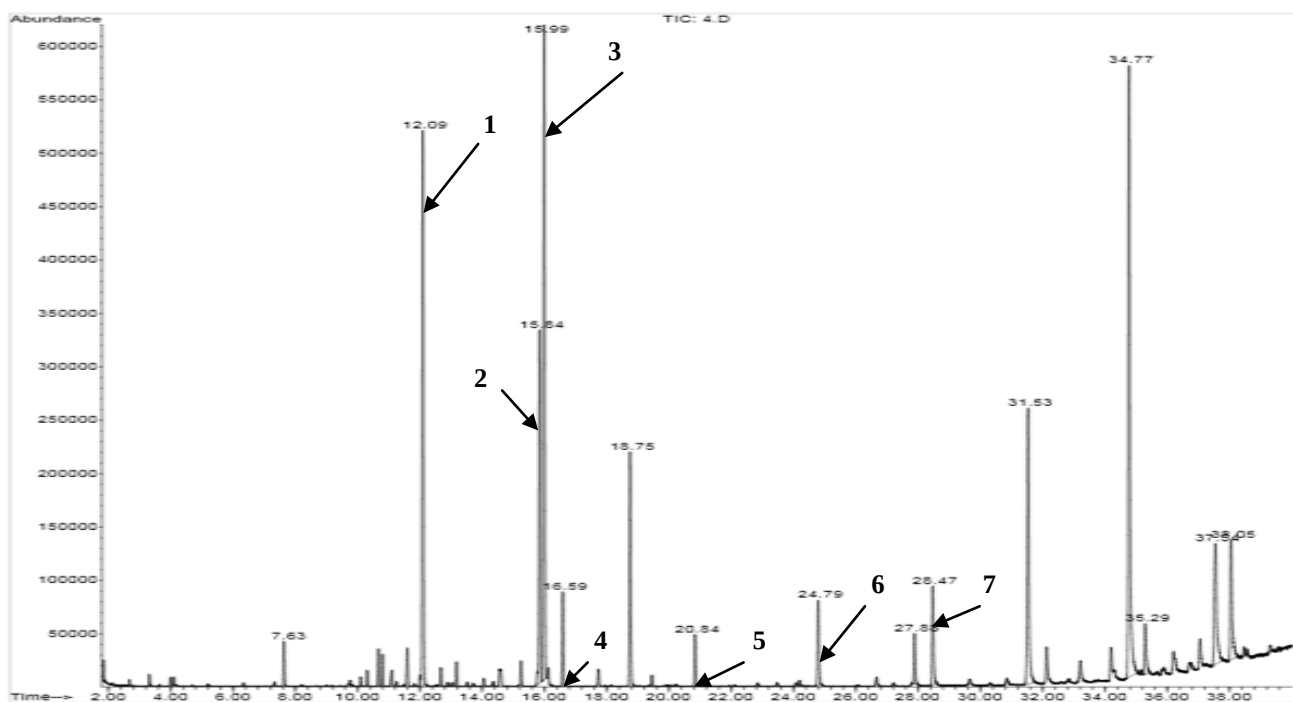


Рис. П.1. Хроматограма жирних кислот трави в. лікарського: 1 – пальмітинова кислота, 2 – лінолева кислота, 3 – ліноленова кислота, 4 – стеаринова кислота, 5 – арахінова кислота, 6 – бегенова кислота, 7 – лігноцеринова кислота

Продовж. дод. П

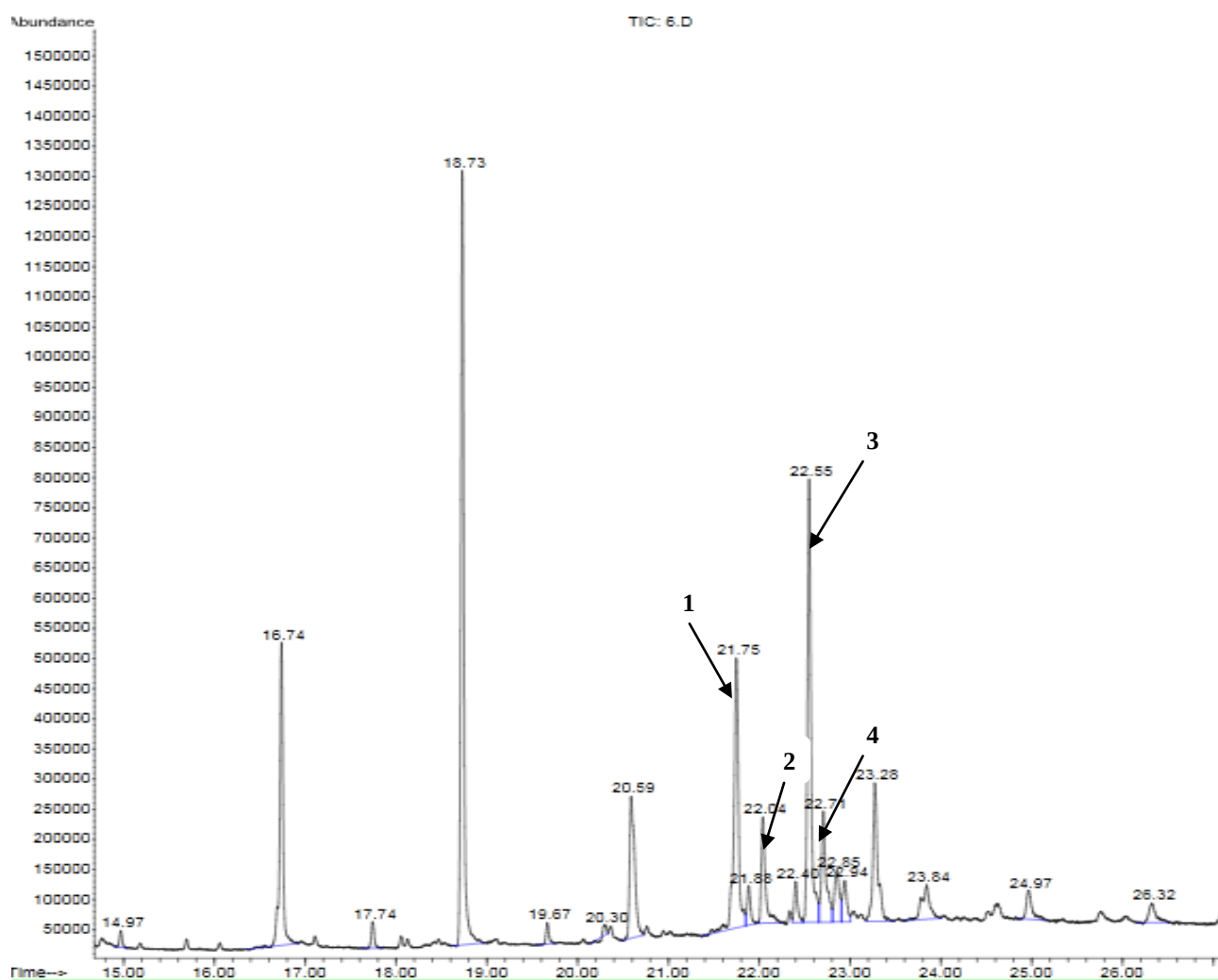


Рис. П.2. Хроматограма фітостеролів трави в. лікарського: 1 – кампестерол, 2 – стигмастерол, 3 – ситостерол, 4 – стигмаста-5,24(28)-дієн-3-ол

Продовж. дод. П

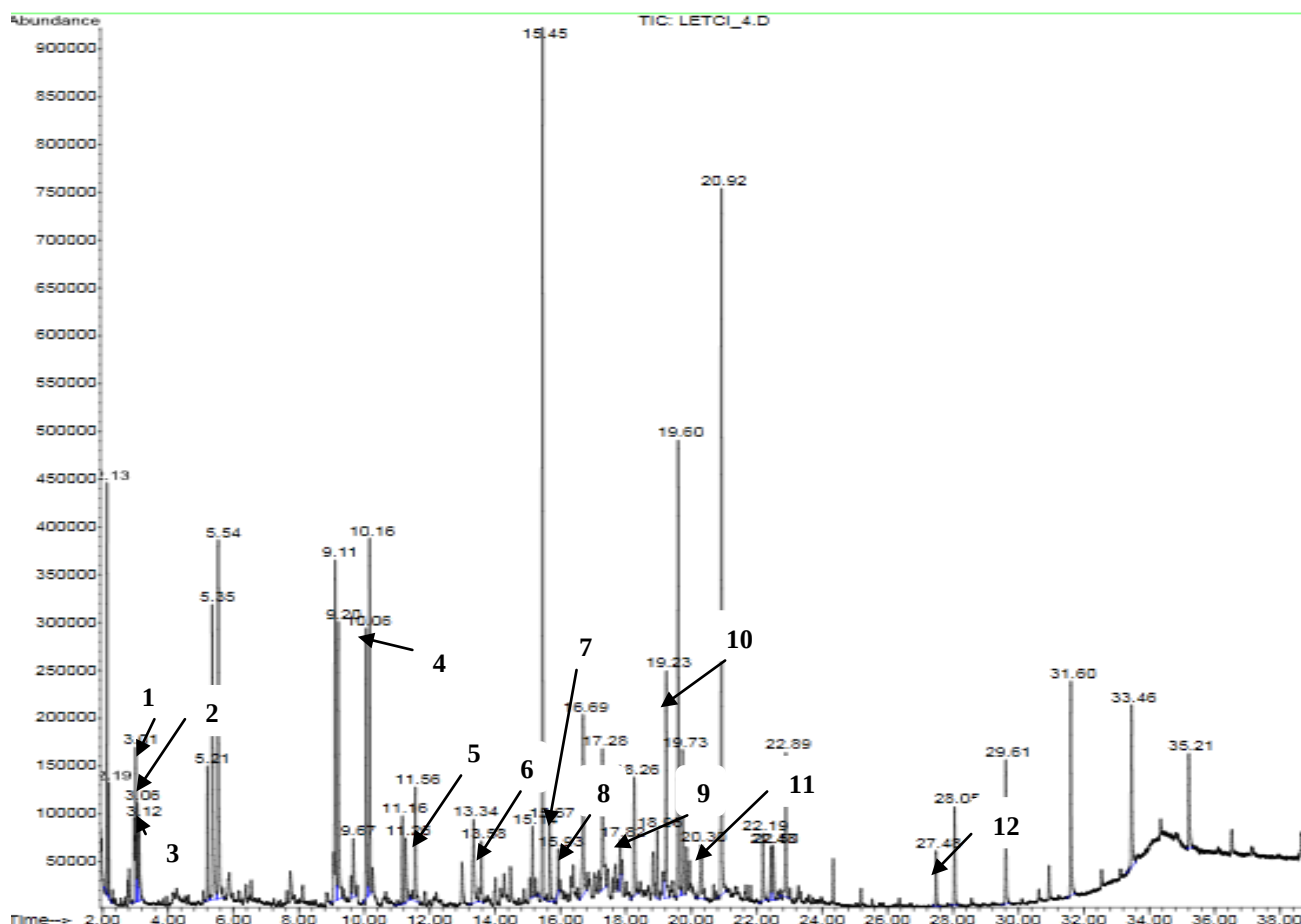
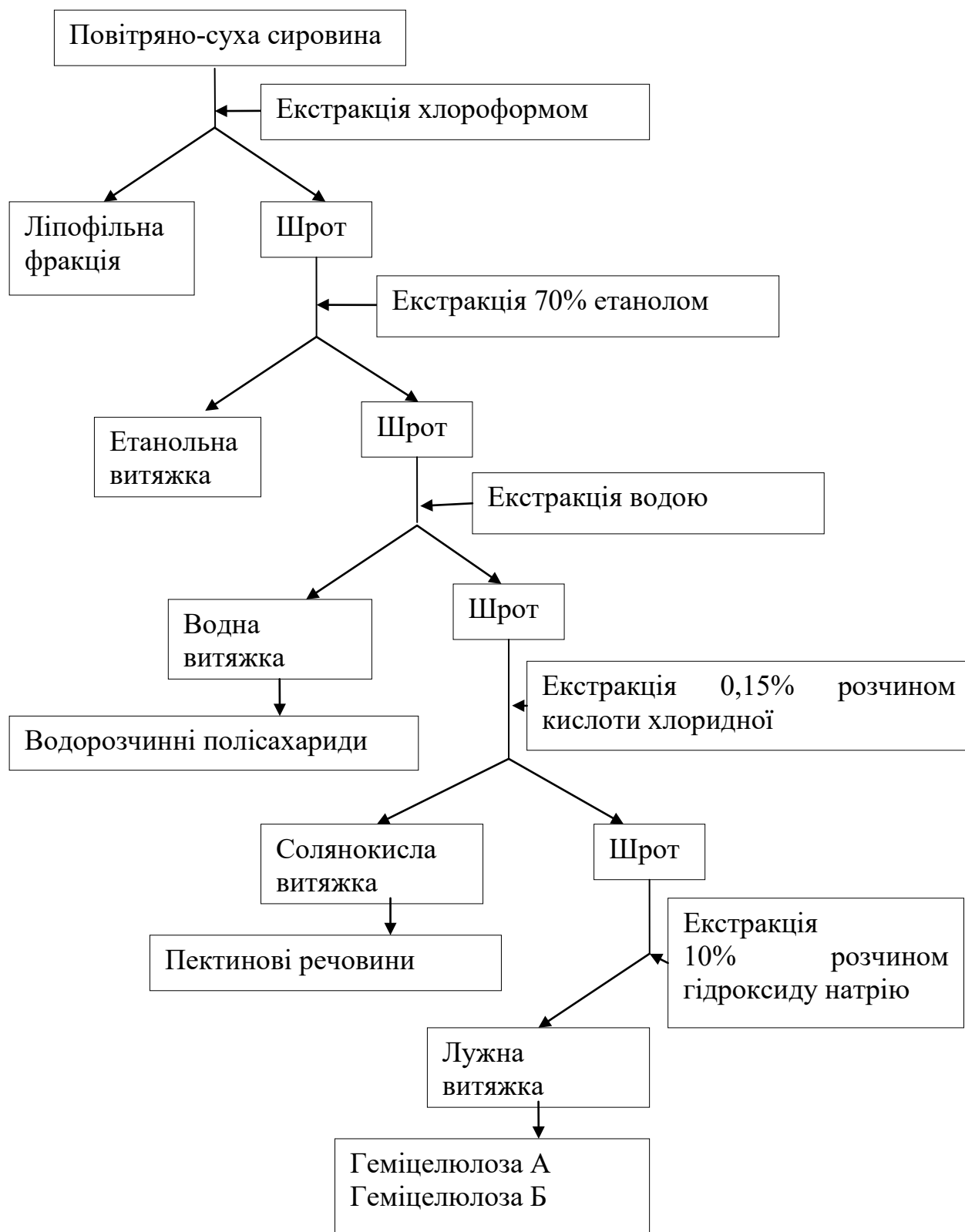


Рис. П.3. Хроматограма летких сполук трави в. лікарського: 1 – 2-гептанон, 2 – 3-гептанол, 3 – 2-гептанол, 4 – тимол, 5 – 2,4,5-триметилбензальдегід, 6 – β -іонон, 7 – гексадеканаль, 8 – лонгіфолен, 9 – α -гексацинамоновий альдегід, 10 – гексагідрофарнезилацетон, 11 – фарнезилацетон, 12 – октакозан

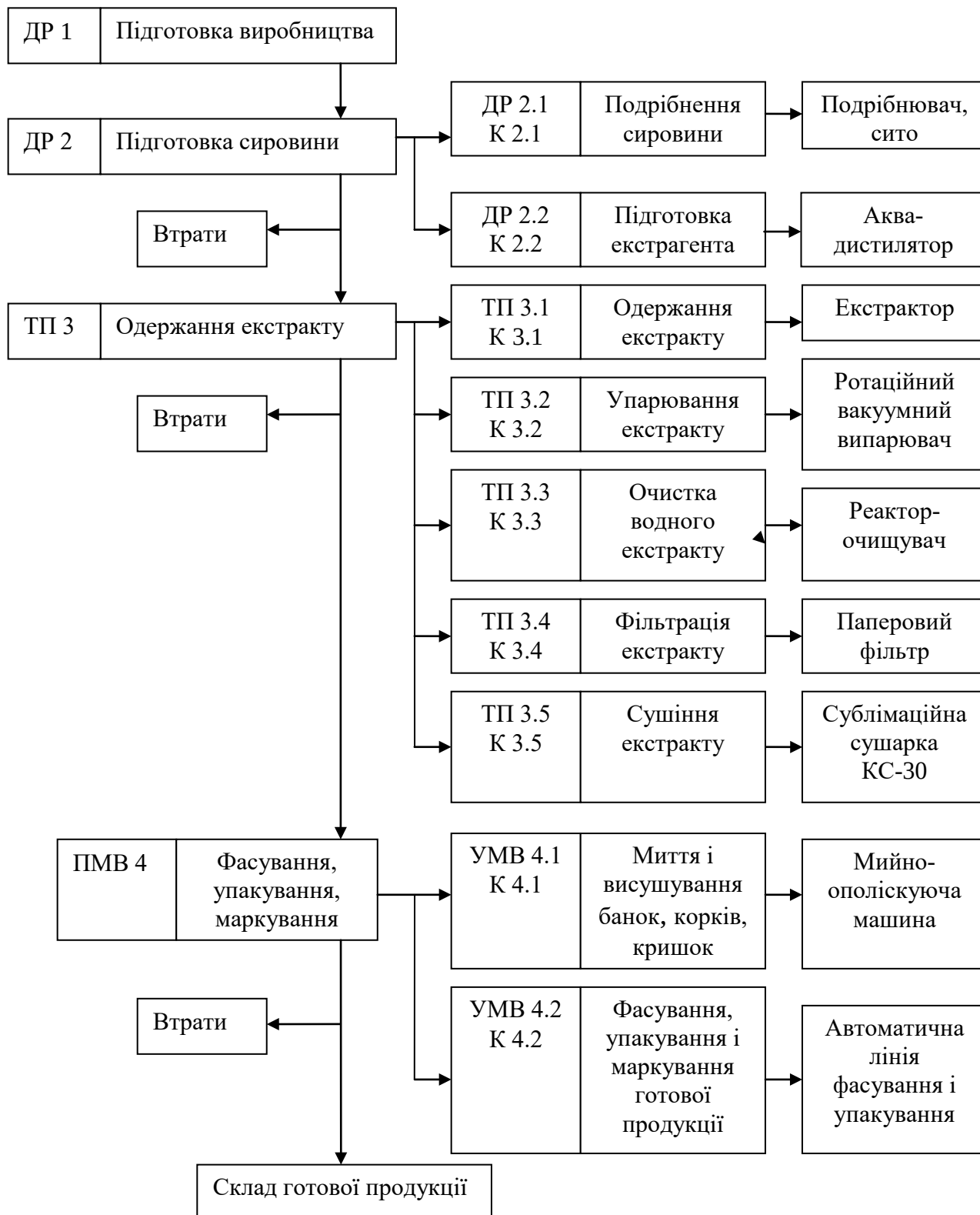
Додаток Р

Схема одержання фракцій полісахаридів з трави воловика лікарського



Додаток С

Блок-схема технологічного процесу одержання воловика лікарського екстракту сухого



Продовж. дод. С

Опис технологічного процесу одержання трави воловика лікарського екстракту сухого

ДР.1. Підготовка виробництва складається з санітарної обробки приміщення і обладнання, а також підготовки персоналу.

ДР.2. Підготовка сировини.

ДР.2.1. Подрібнення сировини проводять на ножовому млині і просіюють через сита з розміром отворів 3,0 мм.

ДР. 2.2 Підготовка води очищеної згідно вимог ДФУ.

ТП.3. Одержання екстракту.

ТП.3.1. 100,0 г повітряно-сухої трави в. лікарського, подрібненої до розміру часток, які проходили крізь сито з діаметром отворів 0,5 – 3,0 мм, вміщували в екстрактор. Екстракцію проводили водою очищеною у співвідношенні сировина : екстрагент 1:10 з урахуванням коефіцієнту поглинання екстрагенту. Сировину трикратно екстрагували впродовж 30 хв при температурі кипіння екстрагенту.

ТП.3.2. Витяжки проціджували, об'єднували і упарювали на ротаційному вакуумному випарювачі до об'єму 1500 мл.

ТП.3.3. Упарений екстракт витримували протягом 4 - 5 годин при температурі 5 - 10°C.

ТП.3.4. Екстракт фільтрували через паперовий фільтр.

ТП.3.5. Очищений екстракт розливали у стерильні флакони по 500 мл і піддавали ліофільному висушуванню. Спочатку їх заморожували в спиртових ваннах при температурі спирту не вище - 40°C впродовж 30 хв. Після цього флакони із замороженими витяжками ставили в холодильник і при температурі не вище - 30°C закалювали і зберігали перед завантаженням в сублімаційний апарат впродовж 12 год. Висушування витяжок проводили в сублімаційному

Продовж. дод. С

апараті КС – 30 (Чехія). Поступово проводили підвищення температури від мінусової до плюсової. Температура продукту в кінцевому періоді висушування не перевищувала +40°C. Для одержання сухого екстракту загальна тривалість висушування була 28 - 32 год. Отриманий екстракт зважували та просіювали через сито з діаметром отворів 0,5 мм.

ПМВ.4. Готовий продукт фасували по 10,0 у банки з оранжевого скла за ОСТ 64-2-71-80 з пластмасовими кришками, що нагвинчуються за ОСТ 64-2-87-81. Горловину банки з кришкою обгортали пергаментом за ГОСТ 17308-71, обв'язували шпагатом з луб'яних волокон за ГОСТ 17308-71, кінці якого фіксували етикеткою. На банку наклеювали етикетку з писального паперу за ГОСТ 18510-73. Банку з листком-вкладишем поміщали в коробку з картону коробкового за ГОСТ 7933-75. Маркування проводили за ГОСТ 64-2-87-81, транспортне маркування – за ГОСТ 14192-77.

Додаток Т

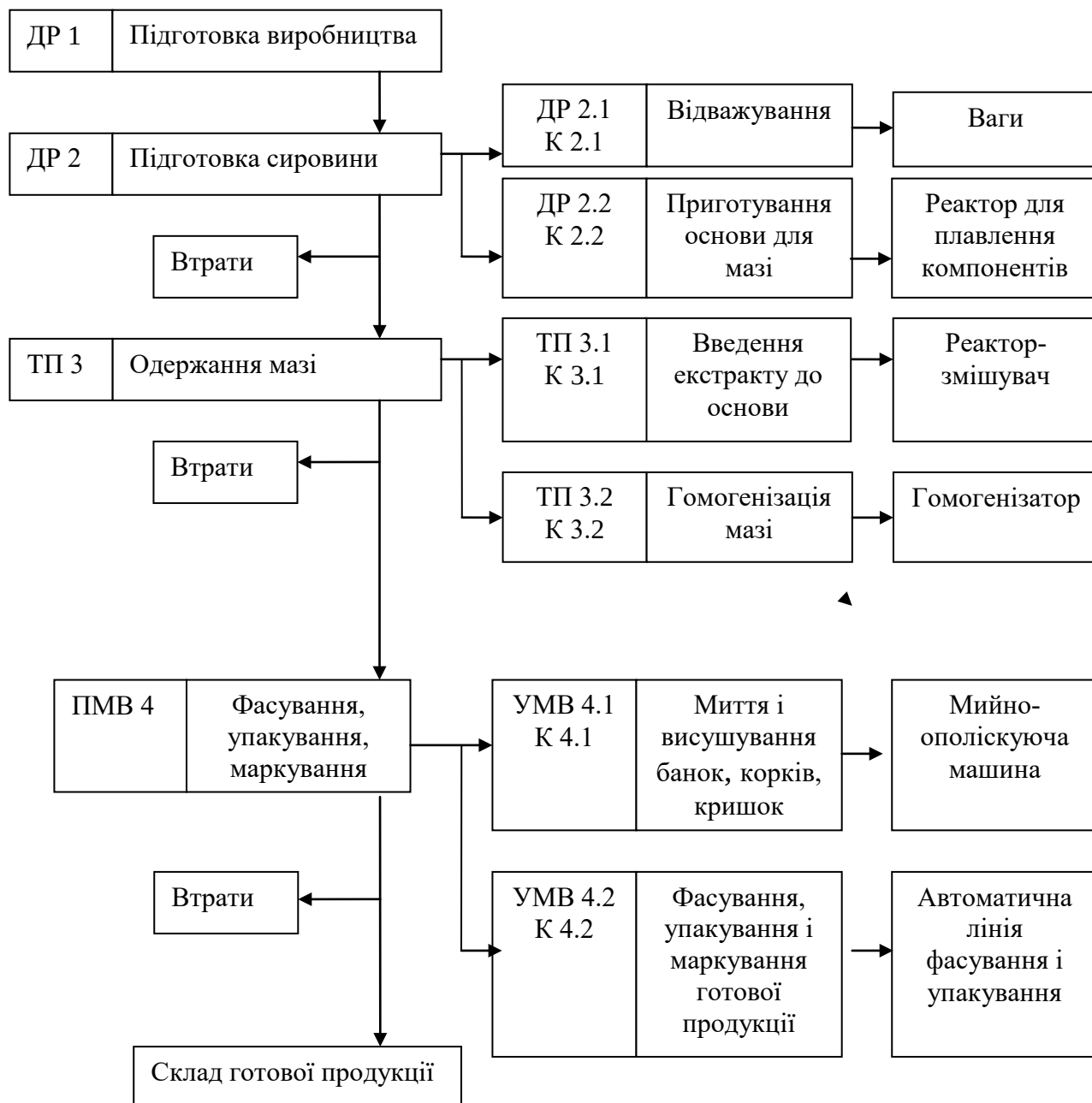
Таблиця Т.1.

Номенклатура та характеристика дослідних мазевих основ

№ зразка	Тип основи	Склад, г		Органолептичні властивості
1.	Гідрофільна	ПЕО-4000 ПЕО-1500 Вода очищена	40,0 35,0 25,0	Однорідна біла середньо-густа маса, практично без запаху.
2.	Емульсійна в/о (II роду)	Вазелін Олія соняшникова Емульгатор Т-2 Гліцерин ПЕО-400 Вода очищена	40,0 20,0 10,0 8,0 10,0 до 100,0	Однорідна сніжно-біла маса середньо-густої консистенції зі слабким специфічним запахом
3.	Емульсійна о/в (I роду)	Олія соняшникова ПЕО-400 Гліцерин Емульгатор № 1 Вода очищена	20,0 10,0 5,0 8,0 до 100,0	Однорідна біла м'яка маса негустої консистенції зі слабким специфічним запахом
4.	Емульсійна в/о (II роду)	Вазелін Емульгатор Т-2 Вода очищена	60,0 10,0 30,0	Однорідна біла маса густої консистенції зі слабким специфічним запахом
5.	Гідрофільна	ПЕО-4000 Гліцерин Вода очищена	50,0 30,0 20,0	Однорідна біла, дещо мутна, м'яка маса практично без запаху
6.	Гідрофільна	ПЕО-1500 ПЕО-400	20,0 80,0	Однорідна біла мутна, м'яка маса, практично без запаху
7.	Емульгелева	Олія соняшникова ПЕО-400 Гліцерин Емульгатор № 1 Карбопол utels Калію сорбат Вода очищена	15,0 10,0 8,0 6,0 0,5 0,3 до 100,0	Однорідна сніжно-біла пухка і м'яка маса негустої консистенції зі слабким специфічним запахом
8.	Гідрофільна (гелева)	Карбопол utels Калію сорбат Гліцерин ПЕО-400 Вода очищена	1,0 0,5 8,0 10,0 до 100,0	Однорідна прозора безбарвна маса негустої консистенції зі слабким специфічним запахом

Додаток У

**Технологічна схема виробництва мазі з екстрактом
воловика лікарського**



Продовж. дод. У

Опис технологічного процесу одержання мазі з екстрактом воловика лікарського

Перша стадія – підготовча. Необхідним є проведення допоміжних робіт, а саме підготовка приміщення та обладнання з метою попередження мікробної контамінації кінцевого продукту в процесі приготування, транспортування та зберігання.

Друга стадія – приготування мазевої основи. У фарфоровій ємності з підігрівом розплавляли ПЕО-4000 і додавали по чергову гліцерин та воду очищену при постійному перемішуванні. Отриману основу перемішували механічною мішалкою до одержання однорідної білої м'якої маси.

Третя стадія – введення екстракту. У ємність для приготування мазі відважували сухий екстракт в. лікарського та розчиняли його у рівній кількості водно-гліцеринового розчину, що входить в склад основи, після чого частинами, при постійному перемішуванні, додавали попередньо приготовлену мазеву основу.

Четверта стадія – гомогенізація мазі. Отриману мазь ретельно перемішували до одержання повністю однорідної за зовнішнім виглядом маси.

П'ята стадія – фасування. Отриману мазь розважували по 10,0 та поміщали в широкогорлі банки з темного скла. Банки щільно закупорювали поліетиленовими кришками, помістивши під них кружечки пергаментного паперу.

Шоста стадія – оформлення до відпуску. Банки з маззю оформляли основною етикеткою «Зовнішнє» та додатковою «Зберігати в прохолодному, захищеному від світла місці».

Сьома стадія – контроль якості готового продукту. Перевірка якості одержаної лікарської форми складається з органолептичного, фізичного та хімічного видів контролю.

Додаток Ф

Протимікробна активність екстрактів воловика лікарського

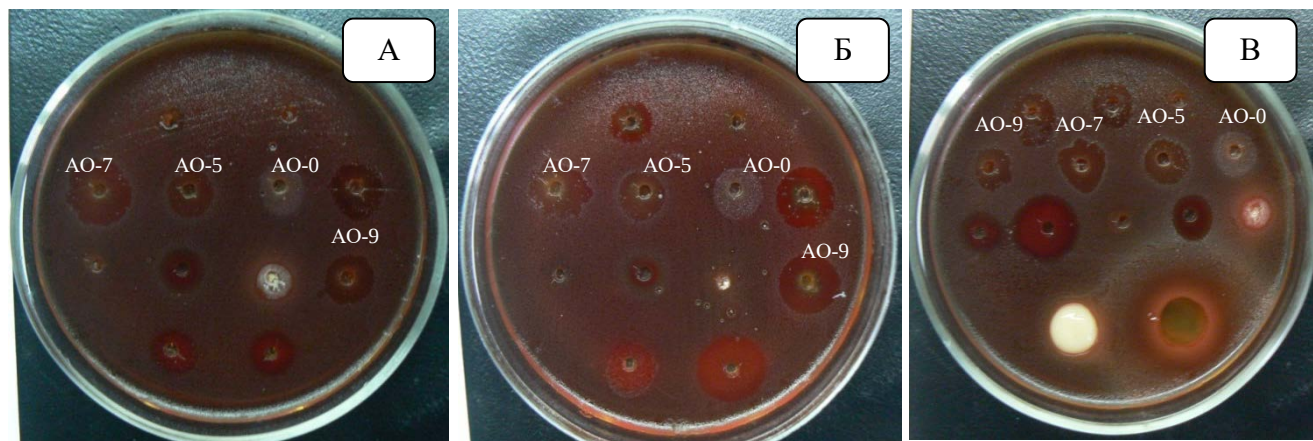


Рис. Ф.1.: А – β -гемолітичний групи G (*Streptococcus group G*), Б – α -гемолітичний (*Streptococcus gordonii*), В – β -гемолітичний групи А (*Streptococcus pyogenes*).

Протимікробна активність мазей з екстрактом воловика лікарського

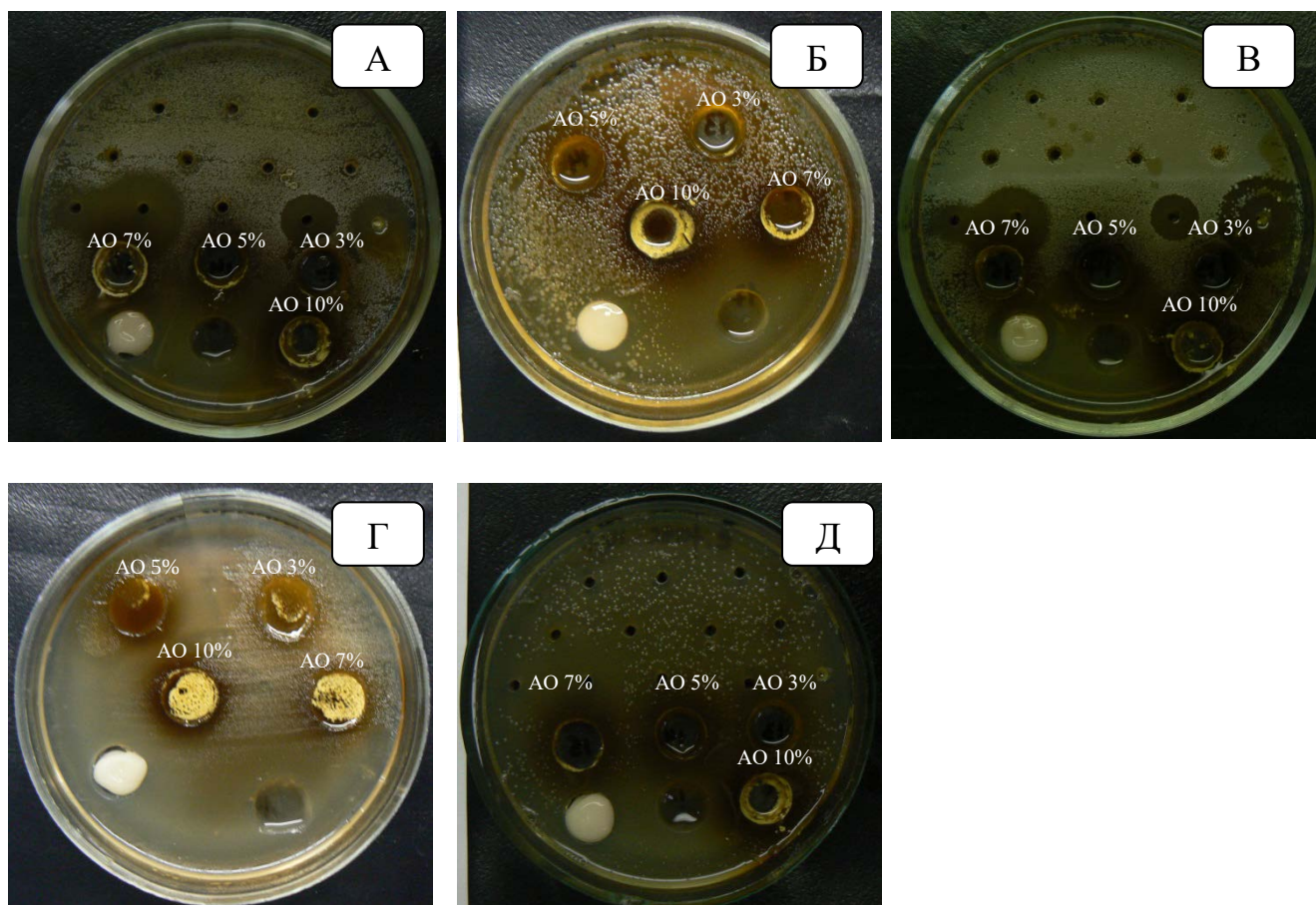


Рис. Ф.2.: А – *Staphylococcus epidermidis* MS, Б – *Citrobacter freundii*, В – *Staphylococcus aureus* MS, Г – *Candida albicans*, Д – *Enterococcus faecalis*

Додаток Х

Фази розвитку воловика лікарського

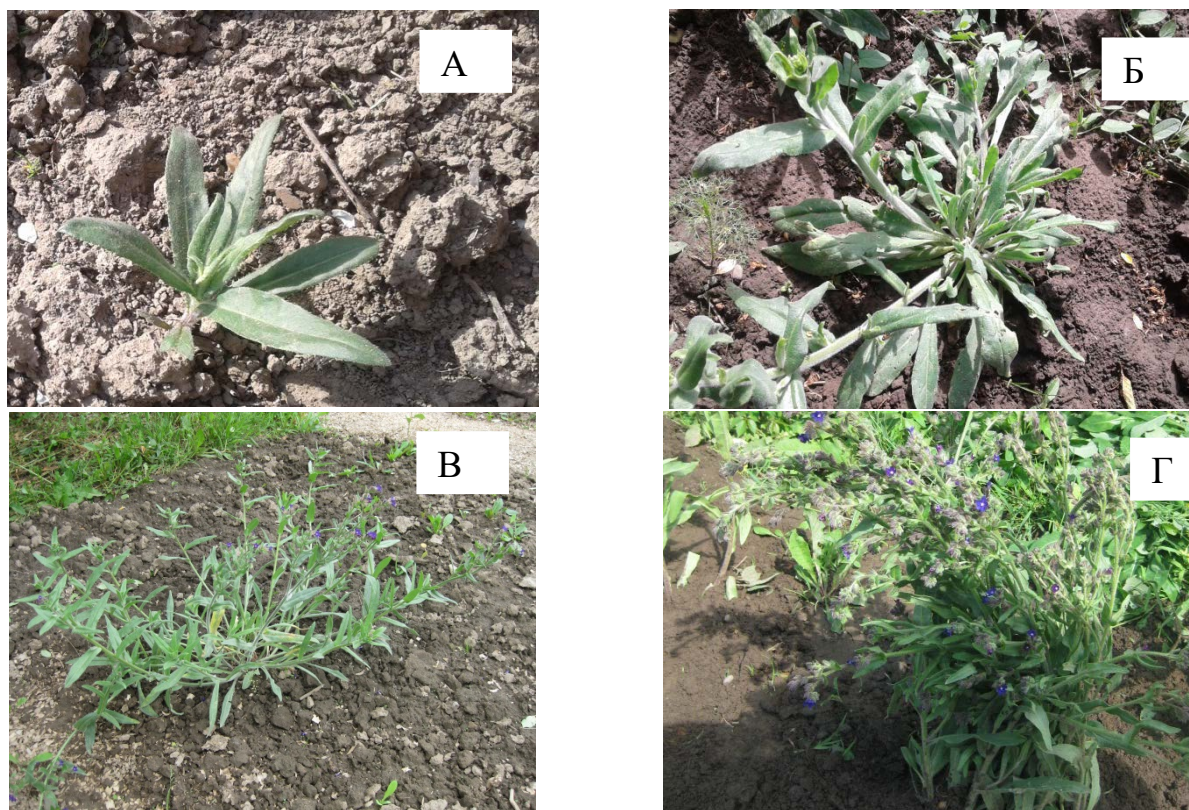
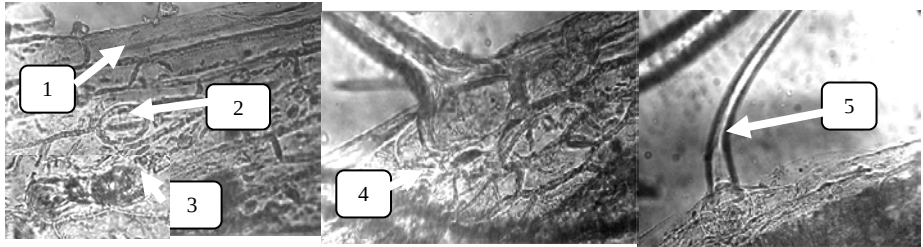
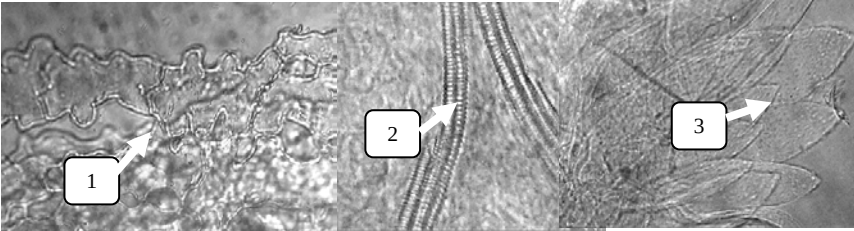
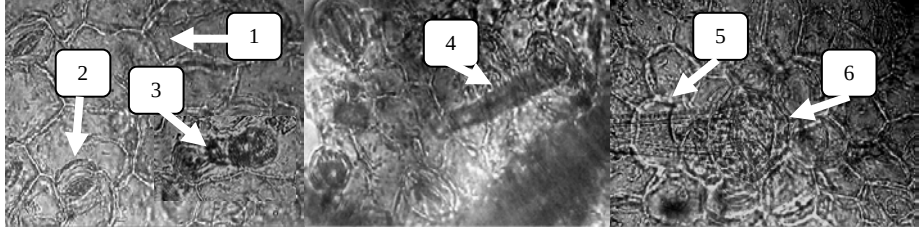
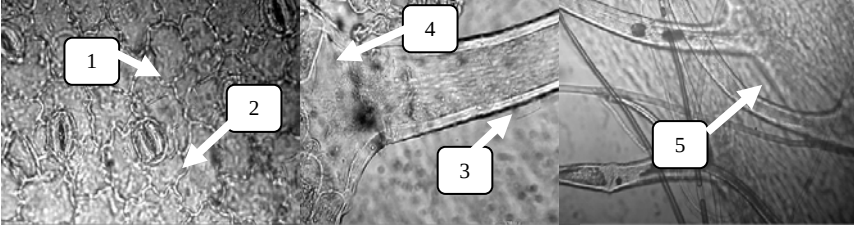


Рис. Х.1: А – поява справжніх листків, Б – бутонізація, В. – початок цвітіння, Г – масове цвітіння.

Додаток Ц

Таблиця Ц.1

Анатомічні ознаки поверхні стебел, листків та квітів воловика лікарського

Об'єкт дослідження	Стебло	Квітки
	 1 – клітини епідермісу, 2 – продихи, 3 – головчастий волосок, 4 – місце кріплення волоска, 5 – простий одноклітинний волосок.	 1 – клітини епідермісу, 2 – жилка, 3 – сосочки
Листки	 1 – клітини нижнього епідермісу, 2 – продихи, 3 – головчастий волосок на багатоклітинній ніжці, 4 – головчастий волосок на одноклітинній ніжці, 5 – залозистий волосок з припіднятою над поверхнею епідерми основою, 6 – місце кріплення волоска	 1 – клітини верхнього епідермісу, 2 – продихи, 3 – простий залозистий волосок з припіднятою над поверхнею епідерми основою, 4 – місце кріплення волоска, 5 – прості волоски

Додаток Ш

Проект нормативної документації «Воловика лікарського трава»

ВОЛОВИКА ЛІКАРСЬКОГО ТРАВА

Anchusa officinalis herbae

Опис: шматочки стебел, листків та квітів *Anchusa officinalis* L., зібрані у фазу масового цвітіння рослини.

Вміст: не менше 1,3 % гідроксикоричних кислот у перерахунку на розмаринову кислоту ($C_{18}H_{16}O_8$; М. м 360,3).

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Макроскопічні ознаки.

Цільні або частково подрібнені стебла, листки, квітки. Стебло пряме, ребристе, вкрите відстовбурченими волосками, розміщеними на дрібних білих горбочках. Стеблові листки чергові, лінійно-ланцетні, цілокраї дещо хвилясті по краю, коротко загострені, сидячі, біля основи розширені і напівстеблообгортні, вкриті середньої жорсткості волосками, нижня по-верхня густо вкрита білими горбочками. Квітки численні, двостатеві, правильні, зібрані короткими густими завійками. Чашечка густоволосиста, ближче до середини розділена на вузько-ланцетні, загострені частки. Віночок фіолетовий, з циліндричною, доверху трохи розширеною трубочкою. Запах специфічний. Смак гіркий

В. Мікроскопічні ознаки.

Епідерміс стебла складається з одного шару прямокутних клітин, поверхня вкрита кутикулою. На поверхні його наявна значна кількість одно- та багатоклітинних простих та залозистих волосків. Клітини верхнього епідермісу листка із слабохвилястими і рівномірно потовщеними стінками, нижнього – сильнозвивистими стінками. Прориди більше розміщені на нижньому епідермісі, оточені 3-4 побічними клітинами. Вздовж жилок епідермальні

Продовж. дод. Ш

клітини дрібні, в окремих ділянках їх оболонки вервичкоподібно потовщені. На нижній та верхній поверхні листка, по краю над жилками розміщені прості волоски, зігнуті у напрямку до верхівки листка, іноді помітні головчасті трихоми. Поверхня пелюстки вкрита епідермісом із сильнозвивистими стінками і тонкою кутикулою. Внутрішня її поверхня вкрита густо розташованими конусоподібними сосочками.

С. Тонкошарова хроматографія (2.2.27)

Випробовуваний розчин. До 1,0 г порошку воловика лікарського трави додають 25 мл метанолу *P*, нагрівають на водяному нагрівнику зі зворотнім холодильником впродовж 1 год. Суміш охолоджують і фільтрують.

Розчин порівняння. 1,0 мг СЗ розмаринової кислоти, 1,0 мг СЗ кавової кислоти і 2,5 мг СЗ ізокверцитрину розчиняють у 10 мл метанолу *P*.

Пластика: ТШХ пластинка із шаром силікагелю *P*.

Рухома фаза: кислота мурашина безводна *P* – вода *P* – етилацетат *P* (10:10:80).

Об'єм проб: по 20 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння, смугами.

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

Висушування: при температурі 100 - 105°C.

Виявлення: теплу пластинку обробляють розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру *P* у метанолі *P*, потім розчином 50 г/л макроголу 400 *P* у метанолі *P*, висушують впродовж 30 хв і переглядають в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм.

Результати: нижче наведено послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння. На хроматограмі випробовуваного розчину також можуть виявлятися інші флуоресціюючі зони.

Продовж. дод. III

Верхня частина пластинки	
Блакитна флуоресціююча зона	Розмаринова кислота: флуоресціююча зона блакитного кольору
Блакитна флуоресціююча зона	Кавова кислота: флуоресціююча зона блакитного кольору
Жовта флуоресціююча зона	Ізокверцитрин: флуоресціююча зона жовтого кольору
Випробовуваний розчин	Розчин порівняння

ВИПРОБУВАННЯ

Втрата в масі при висушуванні. (2.8.17) Не більше 11,0%.

0,500 г подрібненої на порошок сировини, помішають у плоскодонну чашку діаметром близько 50 мм і сушать у сушильній шафі при температурі від 100⁰С до 105⁰С впродовж 2 год. Охолоджують в ексикаторі над фосфору (V) оксидом Р, зважують.

Зола загальна. (2.4.16) Не більше 16%.

Сторонні домішки. (2.8.2) Не більше 5% пожовтілих, побурілих частин сировини та не більше 2 % інших сторонніх домішок.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Сума гідроксикоричних кислот. Випробовуваний розчин. 2,0 подрібненої сировини (точна наважка) з діаметром часточок не більше 1 мм, поміщають у колбу на 100 мл, заливають 30 мл води очищеної і витримують на водяному нагрівнику впродовж 15 хв. Отриману витяжку фільтрують у мірну колбу на 100 мл. Операцію повторюють ще двічі і об'єм витяжки доводять водою до

Продовж. дод. Ш

мітки. 1 мл одержаного розчину доводять етанолом (20 %, об/об) *P* до мітки у мірній колбі на 25 мл. Оптичну густину випробовуваного розчину відразу вимірюють при довжині хвилі 326 нм, використовуючи як компенсаційний розчин етанол (20 %, об/об) *P*. Вміст суми похідних гідроксикоричних кислот, у перерахунку на розмаринову кислоту, у відсотках, розраховують за формулою:

$$X = \frac{A \times 100 \times 25}{E_{1\text{ cm}}^{1\%} \times m \times (100 - w)},$$

де *A* – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 326 нм;

m – маса наважки сировини, г;

$E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ – питомий показник поглинання розмаринової кислоти (при довжині хвилі 326 нм дорівнює 500);

w – втрата в масі при висушуванні, %.

Вміст гідроксикоричних кислот повинен бути не менше 1,3 %.

Додаток Щ

Проект нормативної документації
«Воловика лікарського трави екстракт сухий»

ВОЛОВИКА ЛІКАРСЬКОГО ТРАВИ ЕКСТРАКТ СУХИЙ

Anchusa officinalis herbae extractum siccum

Опис: дуже гігроскопічний пухкий порошок зеленувато-коричневого кольору зі слабким характерним запахом.

Вміст: не менше 7,5 % гідроксикоричних кислот у перерахунку на розмаринову кислоту ($C_{18}H_{16}O_8$; М. м 360,3).

ВИРОБНИЦТВО

Сухий екстракт виготовляють з 1 частини сировини із використанням етанолу 96% (70%, об/об) до одержання 10 частин готового продукту підходящим методом із подальшим висушуванням.

ВИПРОБУВАННЯ

Втрата в масі при висушуванні. (2.8.17) Не більше 5,0 %.

0,500 г екстракту помішають у плоскодонну чашку діаметром близько 50 мм і сушать у сушильній шафі при температурі від 100⁰С до 105⁰С впродовж 3 год. Охолоджують в ексикаторі над фосфору (V) оксидом Р, зважують.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Тонкошарова хроматографія (2.2.27)

Випробовуваний розчин. 0,2 г воловика лікарського трави екстракту сухого розчиняють в 2 мл метанолу Р.

Розчин порівняння. 1,0 мг СЗ розмаринової кислоти, 1,0 мг СЗ кавової кислоти і 2,5 мг СЗ ізокверцитрину розчиняють у 10 мл метанолу Р.

Пластика: ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

Рухома фаза: кислота мурашина безводна Р – вода Р – етилацетат Р (10:10:80).

Об'єм проб: по 20 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння, смугами.

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

Висушування: при температурі 100 - 105°C.

Виявлення: теплу пластинку обробляють розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру *P* у метанолі *P*, потім розчином 50 г/л макроголу 400 *P* у метанолі *P*, висушують впродовж 30 хв і переглядають в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм.

Результати: на хроматограмі розчину порівняння повинні виявлятися: у середній частині – жовта флуоресціююча зона (ізокверцитрин), у верхній частині – 2 блакитні флуоресціюючі зони (кавова кислота та вище неї розмаринова кислота). На хроматограмі випробовуваного розчину повинні виявлятися жовта флуоресціююча зона на рівні зони ізокверцитрину на хроматограмі розчину порівняння; вище неї повинні виявлятися блакитна флуоресціююча зона, що відповідає зоні кавової кислоти на хроматограмі розчину порівняння; іще вище – блакитна флуоресціююча зона, що відповідає зоні розмаринової кислоти на хроматограмі розчину порівняння. На хроматограмі можуть проявлятися також інші зони

Верхня частина пластинки	
Блакитна флуоресціююча зона	Розмаринова кислота: флуоресціююча зона блакитного кольору
Блакитна флуоресціююча зона	Кавова кислота: флуоресціююча зона блакитного кольору
Жовта флуоресціююча зона	Ізокверцитрин: флуоресціююча зона жовтого кольору
Випробуваний розчин	Розчин порівняння

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Сума гідроксикоричних кислот. Випробовуваний розчин. 0,200 г екстракту розчиняють у 50 мл етанолу (50 %, об/об) *P*, фільтрують. Фільтр обполіскують 5 мл етанолу (50 %, об/об) *P*, фільтрат і промивні води об'єднують у мірній колбі і доводять тим же розчинником до мітки у мірній колбі на 100 мл. 1,0 мл одержаного розчину доводять етанолом (50 %, об/об) *P* до мітки у мірній колбі на 25 мл.

Оптичну густину випробовуваного розчину відразу вимірюють при довжині хвилі 326 нм, використовуючи як компенсаційний розчин етанол (50 %, об/об) *P*. Використовують питомий показник поглинання розмаринової кислоти, що при довжині хвилі 326 нм дорівнює 500. Вміст суми похідних гідроксикоричних кислот, у перерахунку на розмаринову кислоту, у відсотках, розраховують за формулою:

$$X = \frac{A \times 100 \times 25}{E_{1\text{cm}}^{1\%} \times m},$$

де *A* – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 326 нм;

m – маса наважки сухого екстракту, г;

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ – питомий показник поглинання розмаринової кислоти (при довжині хвилі 326 нм дорівнює 500).

Вміст гідроксикоричних кислот повинен бути не менше 7,5 %.