

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Кафедра фармації

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

за спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація

спеціалізація 226.01 Фармація

на тему:

ФІТОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ ТРАВИ РУДБЕКІЇ ВОЛОСИСТОЇ

Виконала: здобувач вищої освіти
V курсу, 2 групи
медико-фармацевтичного
факультету, спеціальність
226 Фармація, промислова фармація,
спеціалізація 226.01 Фармація
денна форма здобуття вищої освіти
КОМАНЮК Лілія Василівна

Керівник: доцент закладу вищої
освіти кафедри фармації
кандидат фармацевтичних наук,
БАСАРАБА Роксолана Юріївна

Рецензенти: доцент закладу вищої
освіти кафедри фармації,
кандидат фармацевтичних наук,
ПАЛАМАР Аліна Олександрівна
доцент закладу вищої освіти кафедри
медичної та фармацевтичної хімії,
кандидат фармацевтичних наук,
ГРУДЬКО Володимир Олексійович

*До захисту допущено
протокол №18 від 02.05.2025 р.
засідання кафедри фармації*

Завідувач кафедри _____ доц. Олег ГЕРУШ

ЧЕРНІВЦІ 2025

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	4
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1 ПОШИРЕННЯ, БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД ТА ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ РУДБЕКІЇ ВОЛОСИСТОЇ (<i>RUDBECKIA HIRTA</i> L.) (Огляд літератури)	8
1.1 Поширення та ботанічна характеристика рудбекії волосистої (<i>Rudbeckia hirta</i> L.)	8
1.2 Хімічний склад та фармакологічна активність рудбекії волосистої	12
1.3 Фармакологічна активність, застосування в традиційній та офіційній медицині <i>Rudbeckia hirta</i> L.	17
1.4 Застосування в традиційній та офіційній медицині	18
1.5 Засоби і дієтичні добавки з <i>Rudbeckia hirta</i> L.	20
Висновок до розділу 1	22
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	24
2.1 Об'єкт дослідження	24
2.2 Короткі відомості про прилади, методи і реактиви	25
2.3 Методики встановлення якісного складу й визначення кількісного вмісту БАР	26
2.4 Методики визначення показників якості за вимогами ДФУ 2.0	36
Висновки до розділу 2	39
РОЗДІЛ 3 ВИВЧЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БАР У ТРАВІ РУДБЕКІЇ ВОЛОСИСТОЇ	40
3.1 Визначення вуглеводів	40
3.2 Визначення суми та індивідуальних сполук кислот	

гідроксикоричних	
3.3 Визначення суми та індивідуальних сполук флавоноїдів	44
3.4 Визначення суми поліфенолів	47
3.5 Дослідження ліпофільних комплексів	52
3.6 Визначення числових показників у <i>Rudbeckia hirta</i> L.	53
траві	
3.6.1 Визначення втрати в масі при висушуванні	55
3.6.2 Визначення загальної золи	56
3.6.3 Визначення золи, нерозчинної у 10 % розчині кислоти	57
хлористоводневої	
	57
Висновки до розділу 3	58
ВИСНОВКИ	60
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	62

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАР – біологічно активні речовини;

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;

ГХ/МС – газова хроматографія з мас-спектрометрією;

ДФУ – Державна фармакопея України;

УФ – ультрафіолетовий;

ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження.

Рослини з давніх часів відіграють ключову роль у розвитку медицини завдяки здатності синтезувати вторинні метаболіти з потенційною значною біологічною активністю. У традиційній медицині рослини широко застосовувалися для лікування різноманітних захворювань. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, понад 80 % населення світу й досі використовує традиційні та народні методи лікування, основою яких переважно є лікарські рослини [1, 2]. Лікарські засоби на основі рослин, що застосовуються у традиційній медицині, як правило, є більш доступними, дешевшими та мають менше побічних ефектів порівняно із синтетичними аналогами [3]. Останнім часом багато традиційних лікарських рослин були досліджені із застосуванням сучасних методів аналізу, що сприяло відкриттю численних перспективних біологічно активних речовин (БАР) [4]. Отримані сполуки рослинного походження можуть бути використані для модифікації існуючих лікарських засобів або створення нових лікарських препаратів [2, 5].

Серед найбільш перспективних груп речовин, що привертають увагу дослідників, виділяють флавоноїди, алкалоїди, терпенові сполуки та фенольні кислоти, які проявляють антиоксидантну, протизапальну, протиракову та імуномодулюючу активність [6]. Завдяки широкому спектру дії природні сполуки можуть слугувати не лише основою для створення нових препаратів, а й бути ключовими компонентами комбінованої терапії складних захворювань, таких як онкологічні, нейродегенеративні та серцево-судинні хвороби [7].

Незважаючи на досягнення синтетичної фармакології, близько 50 % нових лікарських засобів, затверджених у період з 1981 до 2019 року, є або природного походження, або похідними від природних молекул [7]. Це свідчить про те, що природні сполуки залишаються важливим джерелом інновацій у фармацевтичній науці.

Сучасні дослідження також вказують на те, що комбінація декількох біоактивних компонентів рослин може забезпечити синергічний ефект, підвищуючи терапевтичну ефективність та знижуючи ризик розвитку побічних ефектів [8]. У зв'язку з цим інтерес до фітотерапії та пошуку нових лікарських засобів рослинного походження продовжує зростати у світовій медичній спільноті.

З метою пошуку перспективних нових лікарських рослин актуально провести фітохімічне дослідження неофіційної рослини родини Айстрові (*Asteraceae*) роду Рудбекія (*Rudbeckia* L.) – рудбекії волосистої (*Rudbeckia hirta* L.), що містить комплекс БАР, що мають широкий спектр фармакологічної активності, достатню сировинну базу та значний досвід застосування у традиційній медицині багатьох країн світу. Аналіз різних джерел літератури свідчить про недостатнє вивчення рудбекії волосистої, тому її дослідження є актуальним.

Мета й завдання дослідження

Метою наших досліджень було провести фітохімічний аналіз трави рудбекії волосистої.

Для реалізації цієї мети необхідно:

- провести аналіз джерел літератури щодо ботанічної характеристики, хімічного складу, фармакотерапевтичних властивостей *Rudbeckia hirta* L.;
- провести ідентифікацію біоактивних речовин трави рудбекії волосистої;
- встановити кількісний вміст біологічно активних речовин у *Rudbeckia hirta* L. траві;
- визначити числові показники у траві рудбекії волосистої.

Об'єкт дослідження – комплексне фітохімічне дослідження трави рудбекії волосистої.

Предмет дослідження. Встановлення якісного складу та визначення кількісного вмісту головних БАР трави рудбекії волосистої.

Практичне значення одержаних результатів. Визначено якісний склад і кількісний вміст основних груп БАР *Rudbeckia hirta* L. трави. Доведено подальшу перспективність дослідження рудбекії волосистої і використання її у фармацевтичній й медичній галузях. Одержані результати проведених досліджень трави рудбекії волосистої можуть бути використані при розробці проекту методів контролю якості на сировину досліджуваної рослини.

Наукова новизна одержаних результатів. Проведено вивчення складу якісного й визначення кількісного умісту основних груп БАР *Rudbeckia hirta* L. трави. Встановлено наявність та визначено кількісний вміст фенольних сполук (поліфенолів, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів), цукрів та пігментів; визначено основні показники числові рудбекії волосистої досліджуваної сировини.

Апробація результатів роботи. Результати магістерської кваліфікаційної роботи опубліковані і обговорені на V науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій пам'яті доктора хімічних наук, професорки Ніни Павлівни Максютіної (до 100-річчя від дня народження) (м. Київ, 2025 р).

Публікації. За матеріалами магістерської кваліфікаційної роботи опубліковано 2 праці, з яких 1 стаття у журналі «Медична та клінічна хімія» і 1 тези доповіді у матеріалах конференції.

Обсяг і структура роботи. Наукова робота складається зі вступу, огляду літератури, двох розділів, висновків, списку використаних джерел літератури та додатків. Обсяг основного тексту наукової роботи складає 68 сторінок друкованого тексту. Робота проілюстрована 12 таблицями й 16 рисунками. Перелік використаних джерел літератури містить 49 найменувань, із яких кирилицею 9, латиною – 40.

РОЗДІЛ 1

ПОШИРЕННЯ, БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД ТА ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ РУДБЕКІЇ ВОЛОСИСТОЇ (*RUDBECKIA HIRTA* L.) (Огляд літератури)

1.1 Поширення та ботанічна характеристика рудбекії волосистої (*Rudbeckia hirta* L.)

Клас Дводольні – *Magnoliopsida*

Родина Айстрові – *Asteraceae*

Рід Рудбекія – *Rudbeckia* L.

Вид Рудбекія волосиста – *Rudbeckia hirta* L.

Родина Айстрові (*Asteraceae*) є найбільшою родиною квіткових рослин на Землі. За останніми даними, вона налічує понад 1700 родів та близько 32000 видів у всьому світі [9].

Представники родини поширені на всіх континентах, окрім Антарктиди, і зустрічаються в найрізноманітніших екосистемах: від пустель до тропічних лісів, від гірських до приморських районів [10].

Серед великої різноманітності родів родини Айстрові особливе місце займає рід Рудбекія, що об'єднує близько 25 видів однорічних і багаторічних трав'янистих рослин, природним ареалом яких є Північна Америка. Деякі види рудбекії активно культивуються і натуралізовані в Європі, Азії та інших регіонах світу [11, 12].

Рід Рудбекія був названий Карлом Ліннеєм на честь відомих шведських учених – Олофа Рудбека старшого (*Olof Rudbeck the Elder*) та Олофа Рудбека молодшого (*Olof Rudbeck the Younger*), які зробили значний внесок у розвиток ботаніки, анатомії та медицини. Два вчених працювали в Уппсальському університеті, а їхня діяльність справила великий вплив на становлення наукових шкіл того часу. Віддаючи шану своїм наставникам, К. Лінней увічнив їхнє ім'я у

ботанічній номенклатурі [13].

Видова назва «hirta» походить від латинського слова *hirtus*, що означає «волосистий» або «шорсткий», і відображає характерну особливість рослини – густе опушення її стебел та листя [14].

Рудбекія волосиста (*Rudbeckia hirta* L.) походить із Північної Америки, де поширена у США та Канаді (рис. 1.1). Згодом її було інтродуковано в різні регіони світу, насамперед у країни Європи (Австрія, Бельгія, Велика Британія, Ірландія, Іспанія, Італія, Німеччина, Нідерланди, Норвегія, Польща, Румунія, Угорщина, Франція, Швейцарія, Чехословаччина, країни Прибалтики та Україна), а також в Азії (Японія, Корея, Казахстан, Киргизстан, Туркменістан, Узбекистан, Росія), окремі регіони Північної Африки та Південно-Східної Азії (М'янма). На сьогодні рудбекія волосиста натуралізована в багатьох країнах завдяки декоративним якостям і високій екологічній пластичності [15].

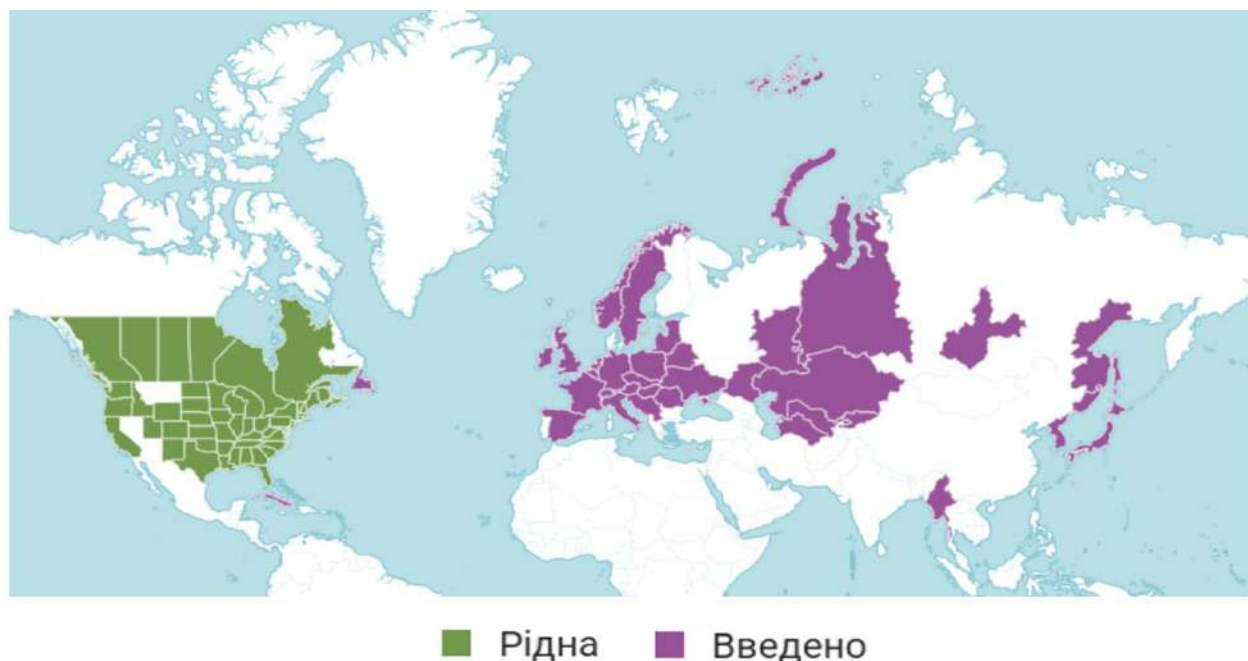


Рисунок 1.1 – Ареал поширення *Rudbeckia hirta* L. [15]

Як інтродукована декоративна рослина, вона поширилася також в садах і парках по всій території України, часто переходячи у дикорослий стан.

У природі рудбекія волосиста зростає на відкритих сонячних місцях.

У межах ареалу вид заселяє різноманітні біотопи: прерії, степові рівнини, луки, пасовища, узлісся світлих лісів та узбіччя доріг. Рослина невибаглива до ґрунтів, витримує посуху та добре росте на піщаних або глинистих ґрунтах за умови достатнього дренажу. Часто зростає на порушених землях і пустирях, що вказує на її здатність легко заселяти нові, змінені людиною місця існування.

У штаті Міссурі, наприклад, *Rudbeckia hirta* L. зазвичай зустрічається на узліссях, преріях, полях, узбіччях та засмічених ділянках.

Таким чином, природні місця зростання рудбекії волосистої – це відкриті трав'янисті екосистеми помірного поясу з достатнім сонячним освітленням [16].

Рослина відзначається широким екологічним діапазоном і здатністю до самосіву, утворюючи стійкі популяції в нових місцях [17]. Вид широко культивується як декоративна рослина [18].

Rudbeckia hirta L. (рис. 1.2) – однорічна, дворічна трав'яниста рослина, залежно від середовища та кліматичних чинників [17]. Хромосомне число виду становить $2n = 38$ [18].



Рисунок 1.2 – Рудбекія волосиста (*Rudbeckia hirta* L.) [19]

Стебло рудбекії волосистої прямостояче, нерозгалужене або слабо розгалужене, висотою 30-100 см, шорстке на дотик через наявність жорстких волосків [20]. Нижні листки формують прикореневу розетку, мають довжину 10–18 см, довгі черешки, овальну або ланцетну форму та зубчасті краї [17]. Верхні листки менші, сидячі, ланцетні, з гладкими або слабо зубчастими краями, також вкриті жорсткими волосками [20].

Розвинена стрижнева коренева система *Rudbeckia hirta* L. забезпечує рослині стійкість до посухи, а також сприяє її адаптації до різних типів ґрунтів [16].

Суцвіття представлені поодинокими кошиками діаметром 5-10 см, розташованими на верхівках стебел. Крайові квітки мають яскраво-жовті язичкові пелюстки завдовжки до 4 см кількістю 8-21, тоді як серединні квітки трубчасті, темно-коричневі або майже чорні, утворюють опуклий центр [18]. Плід – чотиригранна сім'янка довжиною до 2 мм [17]. Цвіте рослина з червня по вересень [18].

Rudbeckia hirta L. активно приваблює бджіл, метеликів та інших запилювачів [20].

Вид представлений кількома природними різновидами: *Rudbeckia hirta* var. *angustifolia* (південно-східні та південно-центральні регіони США), *Rudbeckia hirta* var. *floridana* (Флорида), *Rudbeckia hirta* var. *hirta* (східні штати США) та *Rudbeckia hirta* var. *pulcherrima* (широко поширена в Північній Америці) [18].

Серед створених селекційних сортів відомі такі:

- «Indian Summer» з великими жовтими квітами і висотою до 90 см;
- «Prairie Sun» із жовто-помаранчевими пелюстками та зеленим центром, «Cherokee Sunset» із махровими квітками різних відтінків червоного, помаранчевого та жовтого;
- «Cherry Brandy» із темно-червоними пелюстками – рідкісним для рудбекій забарвленням [17, 20].

1.2 Хімічний склад та фармакологічна активність рудбекії волосистої

Rudbeckia hirta L. містить велику кількість флавоноїдних сполук, зокрема глікозиди флавонолів, а також антоціанові пігменти [21]. Фітохімічні дослідження квітів цього виду виявили щонайменше чотири флавонолові глікозиди та один частково метильований флавонол. Серед ідентифікованих сполук – типові для родини Айстрові флавоноли (кверцетин та його похідні, наприклад рутинозиди і глікозиди) [22]. Наявність антоціанових сполук (пігменти з класу флавоноїдів) також встановлено, що може пояснювати забарвлення суцвіть [21]. Ці сполуки зумовлюють антиоксидантні властивості рудбекії волосистої [22].

У *Rudbeckia hirta* L. виявлено різноманітні фенольні кислоти (головним чином похідні гідроксикоричних кислот). Зокрема, присутні кофейна та хлорогенова (складний ефір кофейної та хінної кислот) кислоти, які характерні для представників родини Айстрові [21].

У результаті фітохімічного дослідження метанольного екстракту квіток *Rudbeckia hirta* L., який проявляє інгібуючу активність щодо 5-ліпоксигенази (5-LOX), було виділено 10 фенольних метаболітів. Серед них:

- три фенольні кислоти: кофейна, хлорогенова та *пара*-кумарова;
- два ефіри фенольних кислот: 5-*O*-кофеоїлхінна та 5-*O-пара*-кумароїлхінна;
- чотири глікозиди флавонолів: патулітрин (патуолетин-7-*O*-глюкозид), кверцетин-3-*O*-глюкозид, кверцетагітрин (кверцетагетин-7-*O*-глюкозид) та госсипетрин (госсипетин-7-*O*-глюкозид);
- один триметильований флавонол – еупатолін (3,5,3'-триметоксикверцетин).

Структури цих метаболітів були встановлені за допомогою спектроскопічних методів аналізу та шляхом порівняння з літературними даними. Сім із цих сполук були вперше ізольовані з представників роду *Rudbeckia*. Інгібуюча активність щодо 5-ліпоксигенази, а також імуномодуюча та антиоксидантна активність (оцінка здатності поглинання кисневих радикалів) ізольованих сполук були досліджені *in vitro*. Отримані результати надали нові наукові докази, що обґрунтовують використання рудбекії волосистої при запальних станах [22].

У складі *Rudbeckia hirta* L. виявлено специфічні ненасичені аліфатичні сполуки – поліацетилени, які характеризуються наявністю кількох послідовних потрійних зв'язків у молекулі. Поліацетилени є важливим класом вторинних метаболітів серед представників родини *Asteraceae* і відомі своєю біологічною активністю, зокрема інсектицидною, антибактеріальною, протигрибковою та цитотоксичною дією.

У результаті фітохімічних досліджень встановлено, що екстракти *Rudbeckia hirta* L. містять щонайменше три класи похідних поліацетиленів, серед яких:

- вільні поліацетиленові кислоти;
- глікозидовані форми поліацетиленів;
- амідні похідні поліацетиленів (наприклад, ізобутиламідні сполуки).

Встановлено наявність інсектицидно активних поліацетиленів, ізольованих з квіток і листків рудбекії волосистої, які структурно подібні до алкамідів ехінацеї. Алкаміди є біологічно активними молекулами, що впливають на імунну систему та мають нейромодуючу дію.

Наявність поліацетиленів у складі рудбекії волосистої була підтверджена за допомогою хроматографічного та спектроскопічного аналізу. Дослідження показали, що ці сполуки здатні ефективно пригнічувати розвиток деяких фітопатогенних грибів та бактерій, таких як *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Cryptococcus neoformans*, а також бактерій, зокрема *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli*. Крім того, поліацетилени демонструють помітну токсичність

щодо комах-шкідників, що свідчить про їхню важливу роль у природному захисті рослини.

Захисні функції поліацетиленів у *Rudbeckia hirta* L. обумовлені їхньою здатністю взаємодіяти з клітинними мембранами патогенів або комах через електрофільні центри потрійних зв'язків, що призводить до порушення клітинних функцій і загибелі шкідливих організмів. Таким чином, поліацетиленові сполуки є важливою складовою захисту рудбекії волосистої [23].

Ефірна олія *Rudbeckia hirta* L., отримана переважно з листків, характеризується багатим вмістом терпенових сполук, а саме сесквітерпенів. За результатами газохроматографічного аналізу з мас-спектрометрією (GC-MS), основними компонентами ефірної олії є компоненти, які є наведені у таблиці 1.1 [24].

Таблиця 1.1

Хімічний склад ефірних олій листків *Rudbeckia hirta* L.

№ з/ п	Компонент	Вміст, %
1.	(2E)-Гексеналь	20,2 ± 0,8
2.	Мірцен	3,7 ± 0,0
3.	(E)-β-Оцимен	15,2 ± 0,2
4	(E)-Каріофілен	4,7 ± 0,8
5.	α-Гумулен	0,9 ± 0,0
6.	γ-Мууролен	8,1 ± 0,8
7.	Гермакрен D	23,6 ± 1,8
8.	γ-Аморфен	1,7 ± 0,5
9.	Біциклогермакрен	1,5 ± 1,2
10	γ-Кадінен	3,4 ± 0,1

.		
11	δ -Кадінен	$16,2 \pm 1,4$
.		
12	α -Кадінен	$0,8 \pm 0,0$
.		

Ефірна олія *Rudbeckia hirta* L. демонструє багатий вміст сесквітерпенових і монотерпенових сполук, які є типовими для родини *Asteraceae*. Основним домінуючим компонентом виявлено гермакрен D (23,6 %), який разом із δ -кадіненом (16,2 %) та (2E)-гексеналем (20,2 %) складає основу ефірної олії. Великий вміст мають також (E)- β -оцимен (15,2 %) і γ -мууролен (8,1 %). Вміст мірцену, (E)-каріюфілену, α -гумулену, γ -аморфену, біциклогермакрену, γ -кадінену та α -кадінену менший.

Антимікробні дослідження показали, що ефірна олія має обмежену активність проти деяких мікроорганізмів. Мінімальні інгібуючі концентрації (MIC) варіювали в межах 625–1250 мкг/мл, що свідчить про помірну або слабку антимікробну активність проти таких штамів:

- *Staphylococcus aureus*;
- *Escherichia coli*;
- *Pseudomonas aeruginosa*;
- *Bacillus cereus*;
- *Candida albicans*.

Таким чином, хоча ефірна олія *Rudbeckia hirta* L. є багатою на сесквітерпени, її антибактеріальні властивості не є надто вираженими, що ймовірно пов'язано з низькою концентрацією найактивніших компонентів або з особливостями їх взаємодії [24].

Як і багато представників родини *Asteraceae*, рудбекія волосиста синтезує сесквітерпенові лактони – клас біологічно активних терпеноїдних

сполук, які відіграють важливу роль у фармакологічній активності даної рослини.

У результаті фітохімічного дослідження сировини *Rudbeckia hirta* L. було вперше виділено новий високоокисенований псевдогвайанолідний лактон, названий рудбеколідом (рис. 1.3).

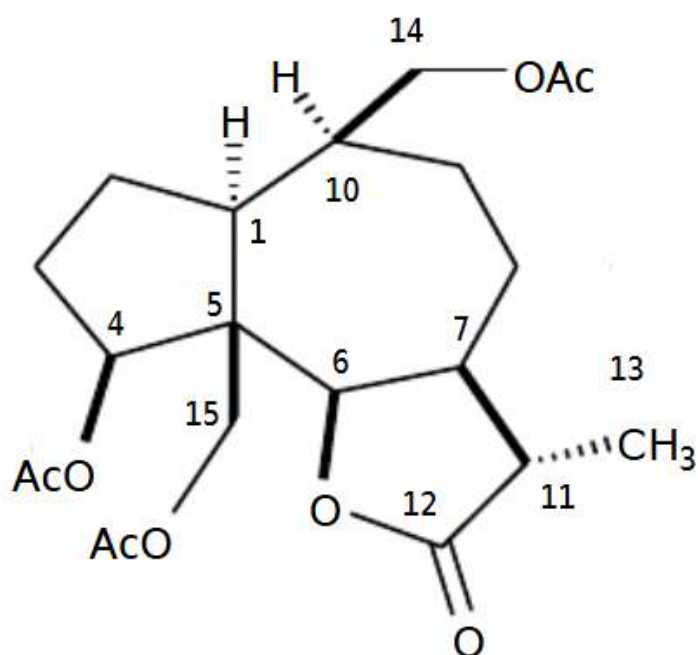


Рисунок 1.3 – Структура рудбеколіду (rudbeckolide) [25]

Структуру цієї сполуки було встановлено за допомогою спектроскопічних методів (NMR, MS) та порівняльного аналізу з літературними даними. Рудбеколід належить до амброзанолідного типу терпенових лактонів.

Біологічна активність рудбеколіду виявилася значною – було встановлено його інгібуючу дію на 5-ліпоксигеназу (5-LOX) – важливий фермент у біосинтезі лейкотрієнів, медіаторів запалення. Це свідчить про перспективність використання сполуки у лікуванні запальних захворювань.

Окрім рудбеколіду, у рудбекії волосистій були виявлені також інші сесквітерпенові лактони, структурно близькі до псевдогваянолідних та амброзанолідних похідних. Відомо, що споріднені сесквітерпенові лактони з інших представників роду Рудбекія демонструють антилейкемічну активність, тобто здатність пригнічувати проліферацію злоякісних клітин кровотворної системи.

Сесквітерпенові лактони, які виявлені у *Rudbeckia hirta* L. наведено у таблиці 1.2 [26].

Таблиця 1.2

Сесквітерпенові лактони, виявлені у *Rudbeckia hirta* L.

Назва сполуки	Тип структури	Біологічна активність
Рудбеколід	Псевдогваянолідний лактон	Інгібітор 5-ліпоксигенази, протизапальна дія
Інші споріднені псевдогваяноліди	Псевдогваяноліди	Ймовірна антилейкемічна та протизапальна дія

1.3 Фармакологічна активність, застосування в традиційній та офіцинальній медицині *Rudbeckia hirta* L.

Хімічна різноманітність рудбекії волосистої зумовлює широкий спектр її біологічної дії, підтверджений сучасними науковими дослідженнями. Вивчена антиоксидантна активність *Rudbeckia hirta* L. екстрактів.

Зокрема, екстракти з квітів рудбекії волосистої мають виражену здатність нейтралізувати вільні радикали (показано високу відновлювальну активність за різними тестами – FRAP, супероксид- та гідроксил-радикал-скевенджинг). Етанольні екстракти містять найбільшу кількість поліфенолів і показують найсильнішу антиоксидантну дію. Доведено, що ізольовані з рослини флавоноїди і фенолові кислоти роблять вагомий внесок у цей ефект [27].

Протизапальні властивості *Rudbeckia hirta* L. пов'язані з інгібуванням ферментів запалення та модуляцією імунної відповіді. Метанольний екстракт квітів продемонстрував здатність пригнічувати 5-ліпоксигеназу (фермент лейкотрієнового шляху запалення) *in vitro*. З цього екстракту було виділено 10 фенольних сполук, які частково відповідають за протизапальний ефект [27].

Антимікробна активність *Rudbeckia hirta* L. встановлена завдяки багатьом дослідженням. Екстракти продемонстрували пригнічення росту ряду патогенних бактерій та грибів. В експериментах *in vitro* екстракти квіток гальмували ріст дріжджових і плісневих грибів, причому протигрибкова дія рудбекії була навіть сильнішою, ніж в екстрактів чорнобривців (*Tagetes erecta*), з якими порівнювали. Антибактеріальна активність також виявлена у всіх типах екстрактів. Деякі дослідження зазначають ефективність проти *Staphylococcus aureus* та інших грампозитивних бактерій [28]. Народні застосування як антисептика (для промивання ран) знайшли підтвердження через ці результати.

Фармакологічний профіль *Rudbeckia hirta* L. включає: антиоксидантну, протизапальну, протимікробну, імуностимулюючу та потенційно протипухлинну дію. Більшість випробувань проведено на клітинних культурах та лабораторних тваринах (доклінічно). отримані результати вже науково обґрунтовують традиційне лікувальне застосування цієї рослини [27].

1.4 Застосування в традиційній та офіційній медицині

Рудбекія волосиста здавна використовувалася корінними народами Північної Америки як лікарська рослина. Існують численні свідчення етноботаніків про застосування її різних частин індіанськими племенами (cherokee, iroquois, potawatomi).

Cherokee, наприклад, готували примочки з листя для зняття набряків, спричинених паразитами (глистами), а відваром коренів промивали виразки і

рани. Кореневий сік (настій) використовували для лікування вушного болю при отитах.

Iroquois давали настій кореня дітям як глистогінний засіб, а також як ліки при хворобах серця.

Potawatomi застосовували відвар кореня для лікування застуди і гарячки [16].

Загалом у традиційній медицині різних племен рудбекію застосовували як протизапальний і загальнозміцнюючий засіб, який вживали при застуді, кашлі, гарячці, головному болю [23].

Відвар кореня використовували як тонік при застуді та грипі, подібно до ехінацеї [29]. Зовнішню траву і корені прикладали до шкіри для загоєння ран, виразок, при укусах змій та укусах комах [29, 30].

Є дані, що соком свіжого кореня черокі лікували вушні інфекції (закапували при отитах), а також застосовували його при набряках і водянці [23]. У деяких громадах відвари *Rudbeckia hirta* L. вважали ефективними при гельмінтозах та при жіночих захворюваннях. Зокрема, настої коренів використовували для лікування гінекологічних проблем та хвороб, що передаються статевим шляхом [30].

Такий широкий спектр застосування у традиційній медицині збігається з відомими фармакологічними властивостями рослини (протизапальним, імуностимулюючим, антисептичним), які, на сьогоднішній день, підтверджуються науково відповідними дослідженнями.

На відміну від ехінацеї, рудбекія волосиста не набула широкого застосування у сучасній офіційній медицині. Відомо, що в деяких країнах (наприклад, США) *Rudbeckia hirta* L. використовується в гомеопатії. З свіжої трави рослини готують гомеопатичну настойку, яку призначають при різних захворюваннях.

У гомеопатичній *Materia Medica* зазначено показання: застуда в дітей, інфекції сечостатевої системи, гінекологічні захворювання, а також деякі серцеві захворювання [31]. Препарати доступні у вигляді високих розведень –

наприклад, *Rudbeckia hirta* 6X, 30C, 200C у формі рідких крапель або гранул. Однак ефективність таких гомеопатичних засобів не підтверджена методами доказової медицини [32].

В офіційній фітотерапії рудбекія інколи згадується як можливий замітник ехінацеї. Деякі травники пропонують настоянки з кореня рудбекії волосистої для стимуляції імунітету та лікування застуди, посиляючись на досвід індіанської медицини. Також, є повідомлення, що екстракт кореня рудбекії волосистої за імуностимулюючою дією може не поступатися препаратам ехінацеї [29].

На сьогоднішній день, лікарських засобів на основі *Rudbeckia hirta* L. у США та Європі немає. Рослину переважно використовують у традиційній медицині, а також у гомеопатичній практиці.

1.5 Засоби і дієтичні добавки з *Rudbeckia hirta* L.

На фармацевтичному ринку присутня незначна кількість засобів, до складу яких входить *Rudbeckia hirta* L., що зумовлено її меншою популярністю у порівнянні з ехінацеєю.

Існують гомеопатичні засоби на основі рудбекії волосистої. Компанія «Heavenly Herbals» (США) випускає монопрепарат *Rudbeckia hirta* у різних розведеннях (від 3X до 1M і вище) у формі спиртових крапель або сахарозних гранул.

Монопрепарат *Rudbeckia hirta* позиціонується відповідно до гомеопатичного показання – для зміцнення імунітету при застудах, лікування ЛОР-захворювань у дітей, сечостатевих інфекцій (відповідно до традиційної *Materia Medica*). Хоча виробник зазначає історичний досвід застосування, він також вказує, що ефективність не підтверджена Food and Drug Administration (FDA) або клінічними випробуваннями [32].

Флоресенції (квіткові есенції) *Black-Eyed Susan*. У галузі нетрадиційної медицини набули популярності так звані квіткові есенції –

спиртові настої квітів, які вживають як дієтичні добавки для психоемоційного балансу. З рудбекії волосистої створено декілька таких засобів. Зокрема, компанія «Flower Essence Services» (США) пропонує Black-Eyed Susan Flower Essence, виготовлену з органічних квітів рудбекії волосистої на брендї (спирті) (рис. 1.4) [33].



Рисунок 1.4 – Квіткові есенція Black-Eyed Susan [34]

Цей засіб випускається у флаконах 7,5 мл з піпеткою і класифікується як дієтична добавка для підтримки емоційного здоров'я. В анотації засобу зазначено, що есенція допомагає при схильності “ховати” глибинні переживання, сприяє інтроспекції та цілісності особистості [33]. Хоча дія квіткових есенцій базується більше на гомеопатичних принципах та психологічному впливі, вони доступні у вільному продажу як додатки до раціону.

Трав'яні настоянки та чаї. Деякі виробники фітопродукції та народні цілителі пропонують настоянки з рудбекії або поєднання з іншими імунностимулюючими рослинами. Також, є комбіновані настойки Echinacea +

Rudbeckia, де поєднано корені ехінацеї пурпурової та рудбекії волосистої для посилення імуностимулюючого ефекту [29]. Хоч вони не є масово відомими брендами, їхнє існування свідчить про зацікавленість у використанні рудбекії волосистої для зміцнення здоров'я. Також у продажі можна знайти сушений корінь та траву рудбекії волосистої для приготування відварів чи настоїв у домашніх умовах.

Слід зауважити, що лікарських засобів на основі *Rudbeckia hirta* L. наразі немає. Вся номенклатура зводиться до дієтичних добавок, гомеопатичних засобів або косметичних/тонізуючих продуктів. Проте наукові дослідження з фітохімії та фармакології *Rudbeckia hirta* L. відкривають перспективу для створення нових фітопрепаратів на її основі у майбутньому [23].

Висновок до розділу 1

Рудбекія волосиста (*Rudbeckia hirta* L.) є представником родини Айстрові (*Asteraceae*), який завдяки своїм морфологічним особливостям, високій екологічній пластичності та багатому хімічному складу привертає увагу. Вона походить із Північної Америки, але натуралізувалася в багатьох регіонах світу, включаючи Україну. Рослина демонструє здатність до росту на різноманітних типах ґрунтів, високу посухостійкість і легке пристосування до змінених умов середовища.

Морфологічно *Rudbeckia hirta* L. характеризується наявністю прямостоячих шорстких стебел, прикореневої розетки листя, поодиноких суцвіть-кошиків із яскраво-жовтими язичковими та темними серединними квітками.

Хімічний склад рослини включає широкий спектр БАР: флавоноїди, антоціани, фенольні кислоти, поліацетиленові сполуки, сесквітерпенові лактони, леткі компоненти ефірної олії та первинні метаболіти.

Біологічна активність *Rudbeckia hirta* L. охоплює антиоксидантну, протизапальну, антимікробну, інсектицидну та імуностимулюючу дію.

Екстракти рослини продемонстрували здатність нейтралізувати вільні радикали, інгібувати 5-ліпоксигеназу (5-LOX) – ключовий фермент запалення, а також пригнічувати ріст патогенних мікроорганізмів і грибів. У традиційній медицині індіанських племен рудбекію застосовували як ранозагоювальний, протизапальний і протигельмінтний засіб. На сьогоднішній день рослину використовують переважно у вигляді гомеопатичних засобів, квіткових есенцій та дієтичних добавок, проте наукові дослідження підтверджують перспективність *Rudbeckia hirta* L. для створення нових фітопрепаратів. Отже, рудбекія волосиста є цінним джерелом БАР із великим потенціалом для подальшого фармацевтичного використання.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об'єкт дослідження

Об'єктом досліджень була рудбекія волосистої (*Rudbeckia hirta* L.) трава (рис. 2.1).



Рисунок 2.1 – Рудбекії волосистої (*Rudbeckia hirta* L.) трава

Траву рудбекії волосистої заготовляли на початку цвітіння рослини у липні 2024 року на околицях міста Чернівці Чернівецької області. Рудбекії волосистої траву сушили у тепло-конвекційній сушарці за температури 40 °С.

2.2 Короткі відомості про прилади, методи і реактиви

Для досліджень якісного складу БАР використовували реакції ідентифікації.

1. Якісний склад, а також кількісний вміст індивідуальних сполук фенольної природи визначали методом вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) на Agilent 1200 (Agilent Technologies, виробництва USA) [30].

2. Якісний склад й кількісний вміст моносахаридів, і їх похідних, та сахарози визначали на газорідинному хроматографі Agilent Technology 6890N із хромато-мас-спектрометричним детектором 5973Inert методом газової хроматографії з мас-спектрометрією (ГХ/МС).

3. Втрату в масі при висушуванні, загальну золу, золу, нерозчинну у 10 % розчині кислоти хлористоводневої, ліпофільну фракцію та вуглеводів визначали гравіметричним методом [35].

4. Кількісний вміст суми кислот гідроксикоричних, суми флавоноїдів, суми поліфенолів, хлорофілів, каротиноїдів визначали спектрофотометричним методом.

5. Знімали ультрафіолетові (УФ) спектри поглинання та вимірювали оптичну густину розчинів на спектрофотометрі Lambda 25 Perkin Elmer (USA) у кюветах з шару товщиною 10 мм.

Статистичну обробку отриманих експериментальних даних фітохімічного дослідження проводили згідно до вимог Державної фармакопеї України (ДФУ) 2.0 [36].

Для проведення математичних розрахунків застосовували стандартний пакет статистичних програм «Statistica 6.0» та «Microsoft Excel».

2.3 Методики встановлення якісного складу й визначення кількісного вмісту БАР

Визначення вуглеводів

1 г брали подрібненої сировини до 1 мм, поміщали в мірну колбу місткістю 50 мл та додавали 20 мл води очищеної. Колбу з'єднували із зворотним холодильником й кип'ятили протягом 30 хв на водяній бані, а потім проціджували.

Для виявлення водорозчинних полісахаридів додавали до 10 мл витяжки 30 мл етанолу 96 % і настоювали.

Для виявлення пектинових речовин додавали до 1 мл витяжки 0,25 мл 0,5 % розчину карбазолу та 5 мл кислоти сульфатної, потім перемішували й кип'ятили протягом 10 хв на водяній бані.

Для виявлення вільних цукрів до 1 мл витяжки додавали 1 мл свіжоприготовленого мідно-тартратного реактиву. Проводили нагрівання на водяній бані та спостерігали за зміною забарвлення.

Кількісний вміст водорозчинних полісахаридів і пектинових речовин визначали гравіметричним методом [37].

Вміст моносахаридів, їх похідних та сахарози визначали методом ГХ/МС [38].

Метод заснований на екстракції вільних моносахаридів та повному кислотному гідролізі сировини для визначення загального моносахаридного складу та отриманні ацетатів їх альдонітрильних похідних з подальшим аналізом методом газорідинної хромато-мас-спектрометрії.

При проведенні аналізу дотримувалися умов хроматографування. Хроматографічне розділення проведено на газовій хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973inert (Agilent Technologies, США). Колонка капілярна HP-5ms (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм, Agilent Technologies, США). Температура випаровувача становила 250 °С, а температура інтерфейсу – 280 °С. Розділення проводили у режимі програмування температури –

впродовж 8 хв витримували початкову температуру (160 °C), потім піднімали до 240 °C з градієнтом 5 °C/хв. Упродовж 6 хв витримували кінцеву температуру. Пробу об'ємом 1 мкл, вводили в режимі поділу потоку 1:50. Детектування проводили в режимі SCAN в діапазоні 38-400 m/z. Швидкість потоку газу носія через колонку становила 1,2 мл/хв.

Ідентифікацію проводили за часом утримання стандартів моносахаридів та з використання бібліотеки мас-спектрів NIST 02.

Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби.

Пробопідготовка рослинної сировини. Для виділення загальних цукрів перетирали рослинну сировину до порошкоподібного стану у скляній ступці. 0,5 г (точна наважка) трави рудбекії волосистої поміщали у круглодонну колбу та додавали 2 мл 2 М кислоти трифтороцтової *P*. Потім при температурі 100 °C протягом 6 год здійснювали гідроліз. Після цього відбирали 2 мл гідролізату, упарювали та промивали водою до видалення трифтороцтової кислоти. Ресуспендували додаванням водного розчину внутрішнього стандарту (сорбітол) із розрахунку 250 мкг на пробу.

Екстракцію моносахаридів вільних проводили із перетертої до порошкоподібного стану трави рудбекії волосистої. До точної наважки *Rudbeckia hirta* L. трави масою 0,5 г, що подрібнена до порошкоподібного стану, додавали 10 мл розчину етанолу 80 %. З використанням ультразвукової бані екстрагували вільні моносахариди протягом 4 год за температури 80°C.

Для одержання моносахаридів похідних альдонітрильних відбирали 2 мл екстракту/гідролізату, упарювали на роторному випаровувачі досуха і додавали 0,3 мл реактиву дериватизуючого (32 мг/мл гідроксиламіну хлористоводневого у суміші піридин/метанол (4:1, об/об). Розчинений екстракт витримували упродовж 25 хв за температури 75 °C. Для проведення ацетилювання моносахаридів альдонітрильних похідних додавали 1 мл дихлоретану. До реакційної суміші 1 мл дихлоретану додавали, надлишок дериватизаційних реагентів видаляли екстракцією подвійною 1 М розчином кислоти

хлористоводневої та очищеної води. Шар дихлоретановий висушували досуха і розчиняли в 300 мкл суміші гептан/етилацетат (1:1, об/об).

Ідентифікацію моносахаридів досліджуваної суміші здійснювали шляхом порівняння часу утримування стандартних похідних моносахаридів й із використанням бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Проводили кількісний аналіз шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби. Як внутрішній стандарт використовували сорбітолу розчин [39].

Масу моносахаридів, їхніх похідних та сахарози, на 1 грам сировини у міліграмах, розраховували за формулою:

$$X = \frac{S_x \times C_{\text{вн.ст.}} \times V_{\text{розч.}} \times 1000}{S_{\text{вн.ст.}} \times m \times V_{\text{екстр.}}}, \quad (2.1)$$

де: S_x – площа піку моносахариду;

$C_{\text{вн.ст.}}$ – концентрація стандарту внутрішнього;

$V_{\text{розч.}}$ – об'єм розчинника для екстракції/гідролізу проби;

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

m – наважка препарата.

Визначення гідроксикоричних кислот

Для виявлення гідроксикоричних кислот готували водно-спиртову витяжку із трави рудбекії волосистої. Наявність кислот встановлювали за реакцією із 10 % розчином ферум (III) хлориду.

Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у траві рудбекії волосистої визначали методом спектрофотометричним [40].

2 г (точна наважка) подрібненої трави рудбекії волосистої поміщали у колбу, що була місткістю 200 мл й заливали 70 мл етанолу 20 %. До зворотного холодильника приєднували колбу та нагрівали на водяній бані 15 хвилин. Три рази проводили екстракцію. Отриману витяжку охолоджували та фільтрували, використовуючи лійку Бюхнера, через паперовий фільтр. Витяжку переносили

кількісно в мірну колбу на 250 мл і доводили об'єм розчину етанолом 20 % до мітки (розчин А).

У мірну колбу на 50 мл вносили 1 мл розчину А й доводили до мітки етанолом 20 %. Оптичну густину одержаного розчину вимірювали за довжини хвилі 327 нм на спектрофотометрі Lambda 25 Perkin Elmer у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння було використано етанол 20 %.

Вміст гідроксикоричних кислот в перерахунку на хлорогенову кислоту й на абсолютно суху сировину, у відсотках розраховували за формулою 2.2:

$$X = \frac{A \times 250 \times 50 \times 100}{A_{1cm}^{1\%} \times m \times 1 \times (100 - W)}, \quad (2.2)$$

де: A – оптична густина розчину досліджуваного;

m – маса сировини, г;

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

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Визначення суми флавоноїдів

З метою встановлення наявності флавоноїдів досліджували витяжки водно-спиртові трави рудбекії волосистої. Для цього 3 г подрібненої трави поміщали у колбу місткістю 100 мл, заливали 35 мл етанолу 70 % та нагрівали протягом 20 хв на водяній бані зі зворотним холодильником, періодично перемішуючи. Після охолодження фільтрували витяжку і очищали від супутніх фенольних сполук. Для цього фільтрат вносили у колонку діаметром 1 см, що була заповнена 1 г поліамідного сорбенту. Потім промивали 50 мл води очищеної і вимивали флавоноїди з колонки етанолом 70 %. Відбирали фракцію, що мала жовте забарвлення.

Елюат, що одержали упарювали до 1/2 об'єму й використовували для здійснення якісних реакцій на флавоноїди.

Ідентифікацію флавоноїдів за допомогою якісних реакцій проводили:

- ціанідинова реакція. До 1 мл елюату додавали кислоти хлористоводневої (2–3 краплі) і щіпку порошку магнію металічного;
- реакція із ферум (III) хлоридом. До 1 мл елюату додавали 10 % розчин ферум (III) хлориду (1-2 краплі);
- реакція з лугом. Брили 1 мл елюату і додавали 10 % спиртово-водного розчину калію гідроксиду (2 краплі);
- реакція з плюмбум ацетатом. Брили елюату 1 мл і додавали розчину 10 % плюмбум ацетату (4 краплі) [35].

Кількісний вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин визначали.

Вихідний розчин. 1 г (точна наважка) подрібненої трави рудбекії волосистої, через сито просіяної з діаметром отворів 2 мм, поміщали у колбу зі шліфом на 100 мл та додавали 30 мл етанолу 70 %, зважували. Колбу зі зворотним холодильником на водяній бані нагрівали протягом 2 год. Також, періодично струшували для змивання зі стінок частинок сировини. Колбу зважували після охолодження до кімнатної температури, та при необхідності додавали етанол 70 % до початкової маси. Витяжку фільтрували через паперовий фільтр й відділяли перші 20 мл.

Випробовуваний розчин. Поміщали у мірну колбу на 25 мл вихідного розчину 1 мл, додавали 2 мл розчину 30 г/л алюмінію хлориду в етанолі 96 % та доводили об'єм розчину до позначки етанолом 96 % і перемішували.

Компенсаційний розчин. Вихідного розчину 1 мл поміщали у колбу мірну місткістю 25 мл та доводили етанолом 96 % до мітки, перемішували.

Оптичну густину розчину випробовуваного вимірювали при довжині хвилі 408 нм через 40 хв у кюветі з товщиною шару 10 мм.

Оптичну густину розчину фармакопейного стандартного зразка (ФСЗ) рутину вимірювали паралельно. Його готували аналогічно досліджуваному розчину.

Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на рутин й сировину абсолютно суху, у відсотках, розраховували за формулою 2.3:

$$X = \frac{A \times m_0 \times 30 \times 100}{A_0 \times m \times 1 \times (100 - W)}, \quad (2.3)$$

де: A – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина ФСЗ рутину;

m – маса наважки сировини, г;

m_0 – маса наважки ФСЗ рутину, г;

W – втрати в масі при висушуванні сировини, %.

Приготування стандартного зразка рутину: 0,05 г (точна наважка) ФСЗ рутину, розчиняли в етанолі 70 % у мірній колбі місткістю 100 мл, а потім доводили до позначки [41].

Визначення суми поліфенолів

Суму поліфенолів визначали спектрофотометричним методом за загальноприйнятою методикою ДФУ 2.8.14 [36].

0,5 г на порошок подрібненої трави рудбекії волосистої поміщали у круглодонну колбу на 250 мл й додавали 150 мл води очищеної. Нагрівали на водяній бані протягом 30 хв й охолоджували під проточною водою, та кількісно переносили в колбу мірну на 250 мл. Колбу круглодонну обполіскують водою очищеною, а промивні води переносили в колбу мірну та доводили водою до 250 мл об'єм розчину. Осад давали осісти, рідину фільтрували через фільтрувальтр, що мав діаметр 125 мм. Перші 50 мл фільтрату відкидали.

5 мл фільтрату доводили очищеною водою до 25 мл. Суміш із 2 мл одержаного розчину, 1 мл фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву й 10 мл води очищеної доводили розчином 290 г/л натрію карбонату до об'єму 25 мл. Оптичну густина розчину вимірювали через 30 хв за довжини хвилі 760 нм (A_1). Як компенсаційний розчин використовували очищену воду.

Перед випробовуванням безпосередньо розчиняли 0,05 г пірогалолу у

воді очищеній і доводили об'єм розчину тим же самим розчинником до 100 мл. Одержаного розчину 5 мл доводили водою очищеною до об'єму 100 мл (рис. 2.2).

Суміш з 2 мл розчину одержаного, 1 мл фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву і 10 мл води очищеної доводили до об'єму 25 мл розчином 290 г/л натрію карбонату. Через 30 хв оптичну густину розчину вимірювали за довжини хвилі 760 нм (A_3), використовуючи воду очищену як компенсаційний розчин [36].

Вміст суми поліфенолів розраховували у відсотках у перерахунку на пірогалол.

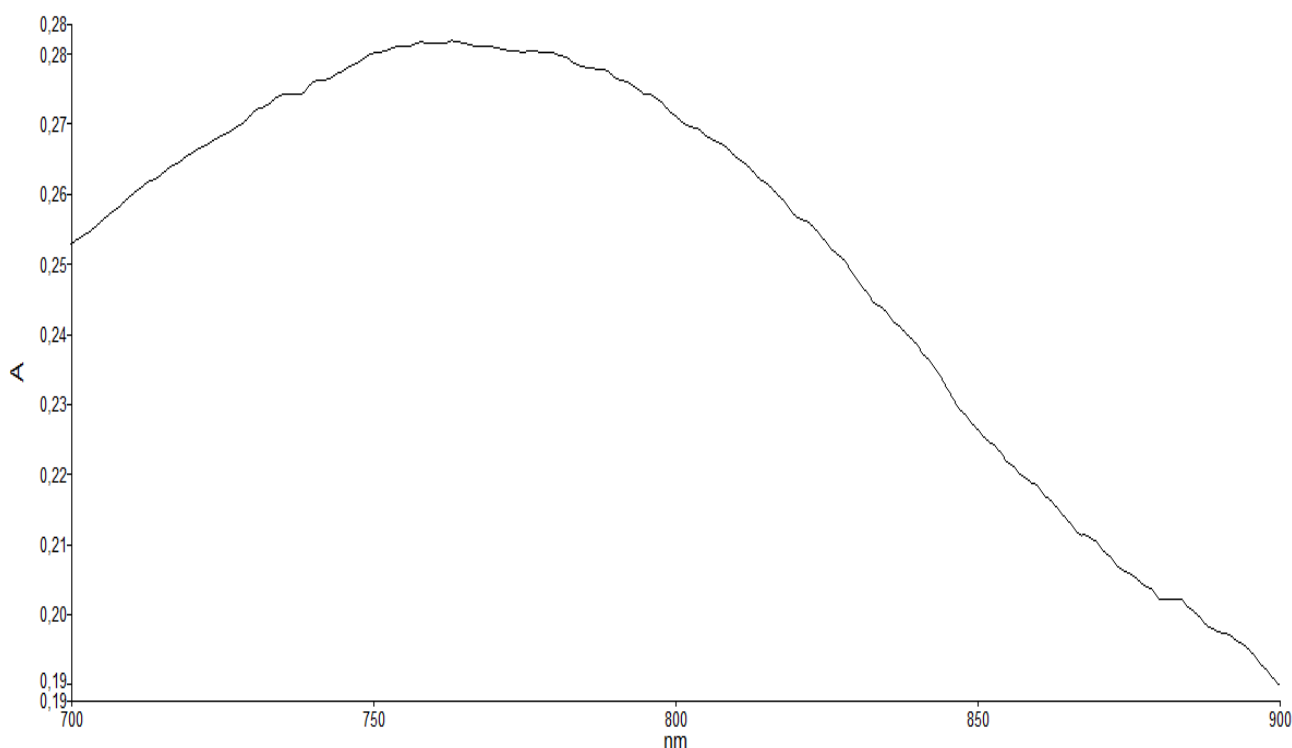


Рисунок 2.2 – Спектр поглинання продукту відновлення фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву у реакції з пірогалолом

Визначення індивідуальних сполук флавоноїдів та гідроксикоричних кислот

Якісний склад та кількісний вміст індивідуальних сполук флавоноїдів гідроксикоричних кислот визначали методом ВЕРХ [162].

0,2 г (точна наважка) рудбекії волосистої трави екстрагували на ультразвуковій бані у 10 мл 80 % етанолу (10 мл 60 % розчину метанолу – для гідроксикоричних кислот) при 80 °С упродовж 5 годин (упродовж 4 годин – для гідроксикоричних кислот) в герметичних скляних віалах зі тефлоновою кришкою. Екстракт отриманий при 3000 об/хв центрифугували та фільтрували крізь фільтри мембранні одноразові зі порами 0,22 мкм.

Рідинну хроматографію виконували на рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200.

Для флавоноїдів. Як рухому фазу використовували ацетонітрил (А) та 0,1% розчин мурашиної кислоти в воді (В). Елюювання в градієнтному режимі проводили:

- 0 хв – А (5 %) : В (95 %);
- 20 хв – А (30 %) : В (70 %);
- 30 хв – А (60 %) : В (40 %);
- 50 хв – А (100 %) : В (0 %);
- 60 хв – А (100 %) : В (0 %).

На колонці хроматографічній Zorbax SB-C18 (3,5 мкм, на 150 мм х 4,6 мм) (Agilent Technologies, USA) розділення проводили. Швидкість потоку через колонку – 0,25 мл/хв., температура термостату становила 30 °С, об'єм інжекції був 4 мкл.

Для гідроксикоричних кислот. В якості фази рухомої використовували метанол (А) та 0,1% розчин мурашиної кислоти в воді (В). Елюювання проводили, також в градієнтному режимі:

- 0 хв – А (25 %) : В (75 %);
- 25 хв – А (75 %) : В (25 %);
- 27 хв – А (100 %) : В (0 %);
- 35 хв – А (100 %) : В (0 %).

Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-Aq (4,6 мм на 150 мм, 3,5 мкм) (Agilent Technologies, США). Швидкість потоку через

колонку становила 0,5 мл/хв., температура термостату була 30 °С, об'єм інжекції, що брали 4 мкл.

Детекцію проводили зі використанням діодно-матричного детектора зі реєстрацією сигналу при 280 нм й 365 нм (при 250 та 275 нм – для гідроксикоричних кислот) та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм [1].

Для флавоноїдів. Ідентифікацію, також кількісний аналіз проводили зі використанням стандартних розчинів флавоноїдів (ізокверцитрину, рутину, нарингіну, неогесперідину, кемпферолу, кверцетину, нарингеніну, лютеоліну, рамнетину, апігеніну, астрагаліну, фізетину, силібеніну, кастицину, байкалеїну). Калібрування проводилось методом зовнішніх стандартів.

Для гідроксикоричних кислот. Ідентифікацію й кількісний аналіз проводилося з використанням стандартних розчинів кислот (кислоти, гідроксифенілоцтової, галової, *транс*-цинамової, хлорогенової, хінної, сирінгової, *пара*-кумарової, кофейної, *транс*-ферулової, синапової).

Кількість флавоноїдів/ гідроксикоричних кислот (X) (мкг/г) визначали за формулою:

$$X = \frac{C * V}{m}, \quad (2.4)$$

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

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини з якої проводили екстракцію, г.

Дослідження ліпофільних фракцій

Шляхом вичерпного екстрагування трави рудбекії волосистої в апараті Сокслета одержували ліпофільні фракції.

3 г (точна наважка) рудбекії волосистої трави подрібненої на порошок зважували у патроні з фільтрувального паперу. На вагах аналітичних зважували

колбу-приймач, що була заздалегідь висушена при температурі 110 °С. Патрон з наважкою сировини в екстрактор поміщали. Через верхній отвір зворотного холодильника хлороформ наливали у кількості, що в 1,5 рази більша місткості екстрактора, до трубки сифонної, нагрівали на водяній бані. Швидкість екстрагування становила 6-7 зливань за 1 годину.

В кінці екстрагування, розчинник, який в екстракторі залишився, зливали через сифонну трубку у колбу-приймач, а патрон із сировиною виймали. Потім з'єднували частини апарата та нагрівали на водяній бані. Із витяжки розчинник в екстрактор збирали, а звідти зливали в штанглас. Колбу-приймач із залишком, після повного видалення розчинника, сушили до сталої маси при температурі 95 °С, охолоджували та зважували на аналітичних вагах.

Вміст ліпофільних речовин, у відсотках, в перерахунку на абсолютно суху сировину, розраховували за формулою:

$$X = \frac{(a - b) \times 100 \times 100}{m \times (100 - W)}, \quad (2.5)$$

де: a – маса колби з сухою ліпофільною фракцією, г;

b – маса порожньої колби, г;

m – маса наважки сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, % [35].

Отримані ліпофільні фракції використовували для визначення хлорофілів та каротиноїдів.

Визначення хлорофілів. Для визначення вмісту кількісного хлорофілів брали 0,05 г (точна наважка) фракції ліпофільної та розчиняли в 50 мл хлороформу. Отриманого розчину оптичну густину вимірювали у кюветі з товщиною шару 10 мм при довжині хвилі 670 нм. У якості розчину порівняння використовували розчин хлороформу.

Вміст суми хлорофілів, у відсотках, у перерахунку на хлорофіл А, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \times 50}{A_{1\text{ см}}^{1\%} \times m}, \quad (2.6)$$

де: A – оптична густина досліджуваного розчину;

m – маса наважки, г;

$A_{1\text{ см}}^{1\%}$ – питомий показник поглинання хлорофілу А при довжині хвилі 670 нм – 944,5 [42].

Визначення каротиноїдів. Каротиноїдів кількісний вміст визначали спектрофотометричним методом. 0,05 г (точна наважка) ліпофільної фракції розчиняли у хлороформу 50 мл. Проводили вимірювання оптичної густини отриманих розчинів за довжини хвилі 450 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовували розчин хлороформу.

Вміст суми каротиноїдів в перерахунку на β -каротин, у відсотках, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \times 50}{A_{1\text{ см}}^{1\%} \times m}, \quad (2.7)$$

де: A – оптична густина досліджуваного розчину;

m – маса наважки, г;

$A_{1\text{ см}}^{1\%}$ – питомий показник поглинання β -каротину при довжині хвилі 450 нм – 2400 [42].

2.4 Методики визначення показників якості за вимогами ДФУ 2.0

Визначення втрати в масі при висушуванні. Визначення проводили за методикою ДФУ 2.2.32 [36].

Аналітичну пробу трави рудбекії волосистої подрібнювали до розміру частинок близьких до 1 мм, перемішували. Потім відбирали наважки масою 3 г, зважували із похибкою $\pm 0,01$ г.

Кожну наважку сировини поміщали у попередньо висушений й зважений з кришкою та без кришки бюкс та ставили у сушильну шафу, яка була нагріта до 100-105°C. Перше зважування проводили через 3 години. Висушували до досягнення постійної маси. Постійна маса вважалася досягнутою, якщо різниця між двома зважуваннями після 30 хв висушування та 30 хв охолодження у ексикаторі не перевищували 0,01 г.

Втрату у масі при висушуванні, у відсотках, розраховували за такою формулою:

$$X = \frac{(m - m_1) * 100}{m}, \quad (2.8)$$

де: m – маса сировини до висушування, г;

m_1 – маса сировини після висушування, г [35].

Визначення загальної золи. Визначення проводили за загальноприйнятою методикою ДФУ 2.4.16 [36].

Близько 5 г (точна наважка) подрібненої трави рудбекії волосистої поміщали у прожарений попередньо та точно зважений тигель фарфоровий, при цьому, рівномірно розподіляючи по дну тигля сировину. Потім тиглі обережно нагрівали на електричній плитці, даючи сировині згоріти як при можливо більш низькій температурі. Спалювання частинок вугілля, які залишилися, проводили у муфельній печі за температури 400 °C. Залишок охолоджували, потім змочували водою, на водяній бані випарювали та прожарювали. Прожарювання

проводили при слабкому червоному пропалюванні (при температурі близькій до 500° С) до постійної маси, уникаючи сплавлення золи та спікання її із тиглю стінками. Після закінчення прожарювання охолоджували тигель в ексикаторі й зважували [35].

Вміст золи загальної у рудбекії волосистої траві, у відсотках, розраховували за формулою:

$$X = \frac{(m_2 - m_1) * 100 * 10^{\wedge}}{m * (100 - W)} \quad (2.9)$$

де: m_2 – маса тигля з сировиною, г;

m_1 – маса тигля із золою, г;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Визначення золи, нерозчинної у 10 % розчині кислоти хлористоводневої.

Визначення проводили за загальноприйнятою методикою ДФУ 2.8.1 [36].

До залишку у тиглі, що отримано після визначення золи загальної, додавали 15 мл 10 % розчину хлоридної кислоти. Далі тигель закривали годинниковим склом та нагрівали 10 хв на водяній бані киплячій. До вмісту тигля додавали 5 мл гарячої води, обмиваючи годинникове скло нею. Отриману рідину через беззольний фільтр фільтрували, переносячи на нього залишок із допомогою гарячої води. Фільтр, який був із залишком промивали гарячою водою до реакції негативної на хлориди в промивних водах. Далі переносили у той же тигель, висушували, спалювали, до постійної маси пропалювали. Вміст золи, нерозчинної в кислоті хлоридній, у відсотках, за формулою розраховували:

$$X = \frac{(m_2 - m_1) * 100 * 100}{m * (100 - W)}, \quad (2.10)$$

де: m_2 – маса тигля із сировиною, г;

m_1 – маса тигля із золю, г;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, % [35].

Висновки до розділу 2

1. Представлено характеристику об'єкту дослідження.
2. Описано короткі відомості про прилади, методи та реактиви.
3. Викладено методики зі встановлення якісного складу та визначення кількісного вмісту БАР.

РОЗДІЛ 3

ВИВЧЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ

БАР У ТРАВІ РУДБЕКІЇ ВОЛОСИСТОЇ

Вивчення якісного складу, а також визначення кількісного вмісту БАР у траві рудбекії волосистої проведено за методиками, які наведені у розділі 2 даної роботи.

3.1 Визначення вуглеводів

Виявляли водорозчинні полісахариди за допомогою реакції осадження. З'являлися пластівчасті згустки, що випадали в осад при відстоюванні.

Водорозчинні полісахариди трави рудбекії волосистої – аморфний порошок, що має кремово-коричнєве забарвлення, легко розчинний в воді, розчинний в водних розчинах лугів і кислот, та нерозчинний в органічних розчинниках.

За допомогою реакції із карбазолом виявляли пектинові речовини. Спостерігали забарвлення червоно-фіолетове, що свідчило про кислоти галактуранової наявність.

Пектинові речовини трави рудбекії волосистої – аморфний порошок, який має кремове забарвлення, повільно у воді розчиняється, а при нагріванні утворюється колоїдний гелеподібний розчин.

Виявляли вільні цукри за допомогою реактиву мідно-тарtratного та спостерігали випадання осаду цегельно-червоного.

Вміст водорозчинних полісахаридів і пектинових речовин у траві рудбекії волосистої визначали гравіметричним методом. Одержані результати досліджень представлено на рисунку 3.1.

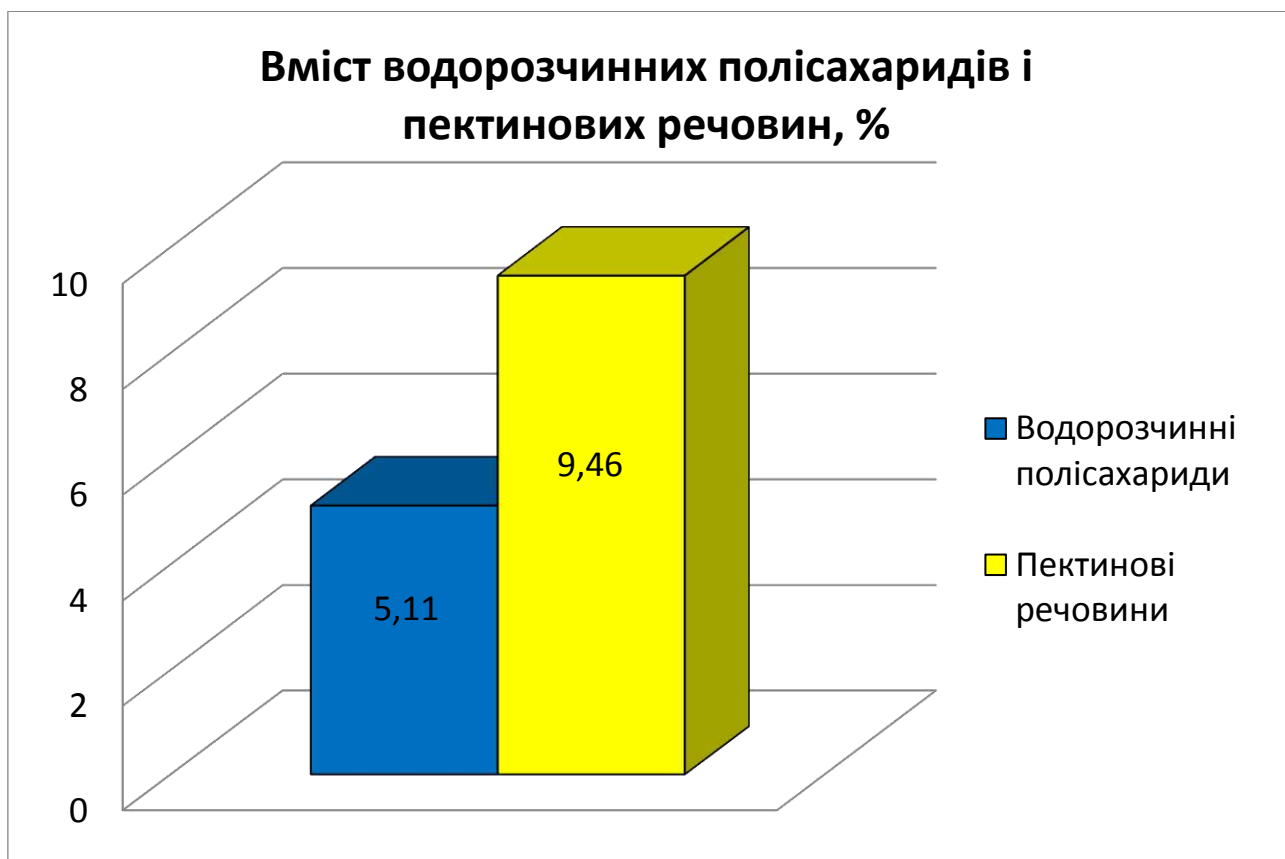


Рисунок 3.1 – Діаграма вмісту полісахаридів у траві рудбекії волосистої

Проаналізувавши одержані результати, що вказані на рисунку 3.1, встановлено, що вміст пектинових речовин ($9,46 \pm 0,37$ %) у траві *Rudbeckia hirta* L. суттєво перевищує вміст водорозчинних полісахаридів ($5,11 \pm 0,24$ %). У кількісному співвідношенні вміст пектинових сполук є у 1,85 раза вищим, що свідчить про їх переважання у складі вуглеводної фракції даної рослинної сировини. Така пропорція може вказувати на потенційну цінність пектинових речовин як фармакологічно активних компонентів, зокрема через їхню здатність до адсорбції токсинів, стимуляції імунної системи та нормалізації мікрофлори кишечника.

Полісахариди – це природні макромолекули, що складаються з багатьох мономерних одиниць моносахаридів. Вони являють собою структурно різноманітний клас сполук, який широко поширений у природі та відіграє важливу роль у контролі клітинного поділу, регуляції росту клітин і підтриманні нормального метаболізму живих організмів. Полісахариди вищих

рослин є потенційним джерелом фармакологічно активних речовин. Численні дослідження показали, що полісахариди, виділені з лікарських рослин, можуть впливати на імунну відповідь як *in vivo*, так і *in vitro*, і мають потенціал бути імуномодуляторами.

Біологічна активність полісахаридів включає: протівірусну, протипухлинну, імуномодулюючу (стимулюють активність макрофагів і комплементу, сприяють проліферації лімфоцитів), протизапальну, антикоагулянтну, гіпоглікемічну, антимуtagenну, антиканцерогенну, антиоксидантну та протикашльову дію. Виявлення й оцінювання нових та безпечних полісахаридів рослинного походження стало популярним напрямком досліджень з метою розробки функціональних продуктів харчування або як альтернативи лікуванню багатьох захворювань, таких як малярія, атеросклероз, рак, запалення, гіпертонія, короста, висипи, абсцеси, захворювання, пов'язані з дегенерацією клітин, і порушенням загоєння [43].

Визначення вільних й зв'язаних цукрів у траві рудбекії волосистої проводили методом ГХ/МС. Результати представлено на рисунках 3.2, 3.3 і в таблиці 3.1.

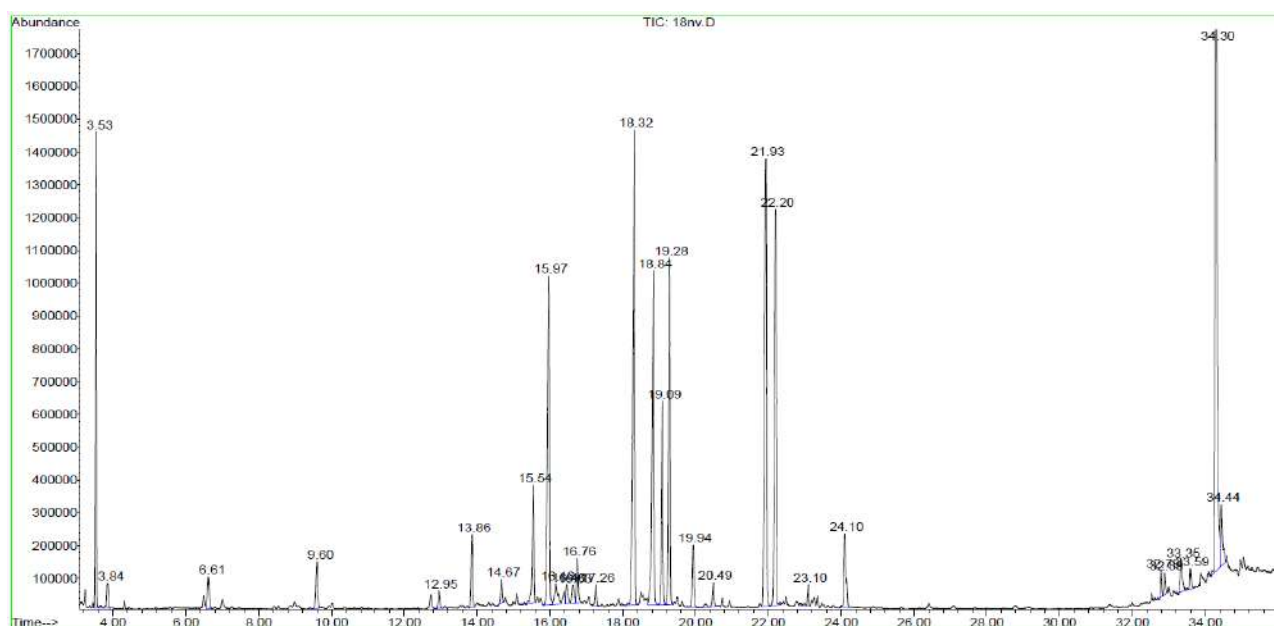


Рисунок 3.2 – ГХ-хроматограма вільних цукрів трави рудбекії волосистої

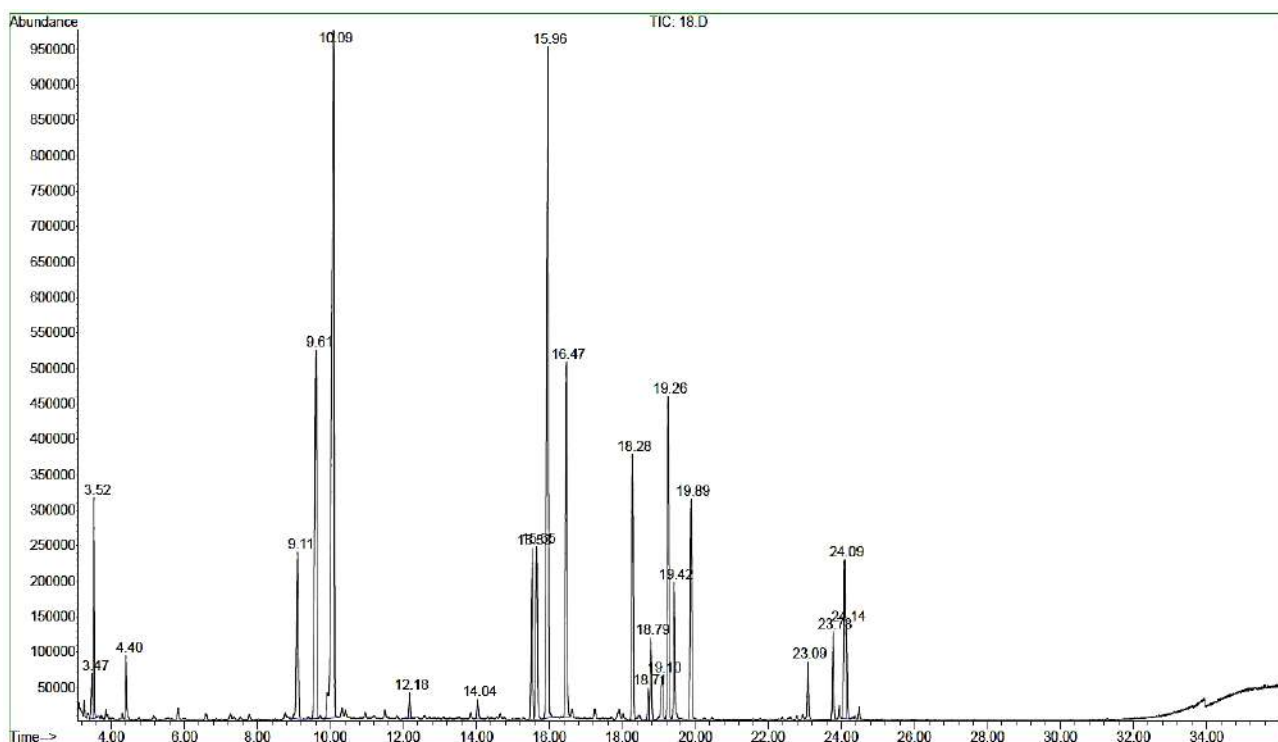


Рисунок 3.3 – ГХ-хроматограма зв'язаних цукрів трави рудбекії волосистої

Таблиця 3.1

Якісний склад та кількісний вміст цукрів у траві рудбекії волосистої

Назва сполуки	Вміст вільних цукрів, мг/г	Вміст зв'язаних цукрів, мг/г
L-арабіноза (Ara)	н/в	4,04
L-фукоза (Fuc)	0,15	9,42
D-маноза (Man)	0,38	3,55
D-глюкоза (Glc)	1,25	17,08
D-галактоза (Gal)	0,07	7,38
Муо-інозітол (Myo-Ins)	1,12	н/в
D-ксилоза (Xyl)	н/в	23,56
D-манітол (Man)	0,52	1,36
D-фруктоза (Fru)	0,26	2,10
Сахароза (Sac)	2,89	н/в

Примітка. н/в – не виявлено.

Трава рудбекії волосистої містить такі вільні цукри: L-фукозу, D-манозу, D-глюкозу, D-галактозу, Муо-інозитол, D-манітол, D-фруктозу, сахарозу та зв'язані цукри, наявність та кількість яких було встановлено після гідролізу. Зв'язані цукри представлені у сировині досліджуваної рослини L-арабінозою, L-фукозою, D-манозою, D-глюкозою, D-галактозою, D-ксилозою, D-манітолом та D-фруктозою. У траві рудбекії волосистої серед моносахаридів D-глюкоза домінує, вміст якої становить 1,25 мг/г у вільному стані. У зв'язаному стані переважає D-ксилоза, вміст якої становить 23,56 мг/г.

D-глюкоза, також відома як декстроза, є найпоширенішим моносахаридом у природі. Глюкоза є джерелом енергії для великої кількості організмів – від бактерій до людини. Мозок є основним органом споживання глюкози – до 75 % від загального добового споживання. Червоні кров'яні клітини на стадії розвитку та нейрони також мають високі енергетичні потреби. Якщо концентрація цього моносахариду знижується, це погіршує процеси, що вимагають розумових зусиль [39, 44].

D-ксилоза, відома як «деревний цукор» та є основним компонентом геміцелюлози (ксилану) у клітинних стінках рослин. Ксилоза має противірусні та антибактеріальні властивості. Ця альдопентоза особливо впливає на гриби роду *Candida* та грамнегативні бактерії. Ксилоза міститься в ембріонах більшості їстівних рослин. На відміну від сахарози, ксилоза сприяє зростанню “дружньої мікрофлори” у кишечнику, тим самим підвищуючи засвоєння поживних речовин, синтез ферментів і зміцнюючи імунну систему для боротьби з різними захворюваннями. У клінічній медицині ксилозу застосовують як діагностичний засіб для оцінки кишкової абсорбції [39].

3.2 Визначення суми та індивідуальних сполук кислот гідроксикоричних

Наявність гідроксикоричних кислот встановлено за реакцією із 10 % розчином ферум (III) хлориду. З'явилося зелено-сірого забарвлення, що свідчить

про наявність у траві рудбекії волосистої сполук фенольної природи, серед яких і гідроксикоричних кислот.

Спектрофотометричним методом було визначено кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на кислоту хлорогенову. Результати визначення досліджуваної групи БАР у *Rudbeckia hirta* L. траві представлено у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

Визначення кількісного вмісту суми гідроксикоричних кислот у сировині рудбекії волосистої

Сировина	Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту, % (n=5)
Трава	5,62±0,01

Примітка. Вірогідність похибки $P < 0,05$.

Результати визначення індивідуальних сполук гідроксикоричних кислот у *Rudbeckia hirta* L. траві методом ВЕРХ представлено на рисунку 3.4 і в таблиці 3.3 [30, 45].

Таблиця 3.3

Якісний склад та кількісний вміст індивідуальних сполук кислот гідроксикоричних у *Rudbeckia hirta* L. траві

Час утримання, хв	Назва сполуки	Кількісний вміст	
		мкг/г	%*
1	2	3	4
11.07	Хлорогенова кислота	7992,58	85,34
12.40	Кофейна кислота	191,45	2,04

Продовження таблиці 3.3

1	2	3	4
14.38	Сирінгова кислота	210,95	2,25
16.32	<i>n</i> -кумарова кислота	763,85	8,16
17.85	<i>транс</i> -ферулова кислота	12,63	0,13
19.27	Синапова кислота	15,11	0,16
22.92	<i>транс</i> -цинамова кислота	93,47	1,00
23.49	Хінна кислота	85,35	0,91
	Всього	9365,39	100

Примітка. %* - від загальної кількості виявлених індивідуальних сполук кислот гідроксикоричних.

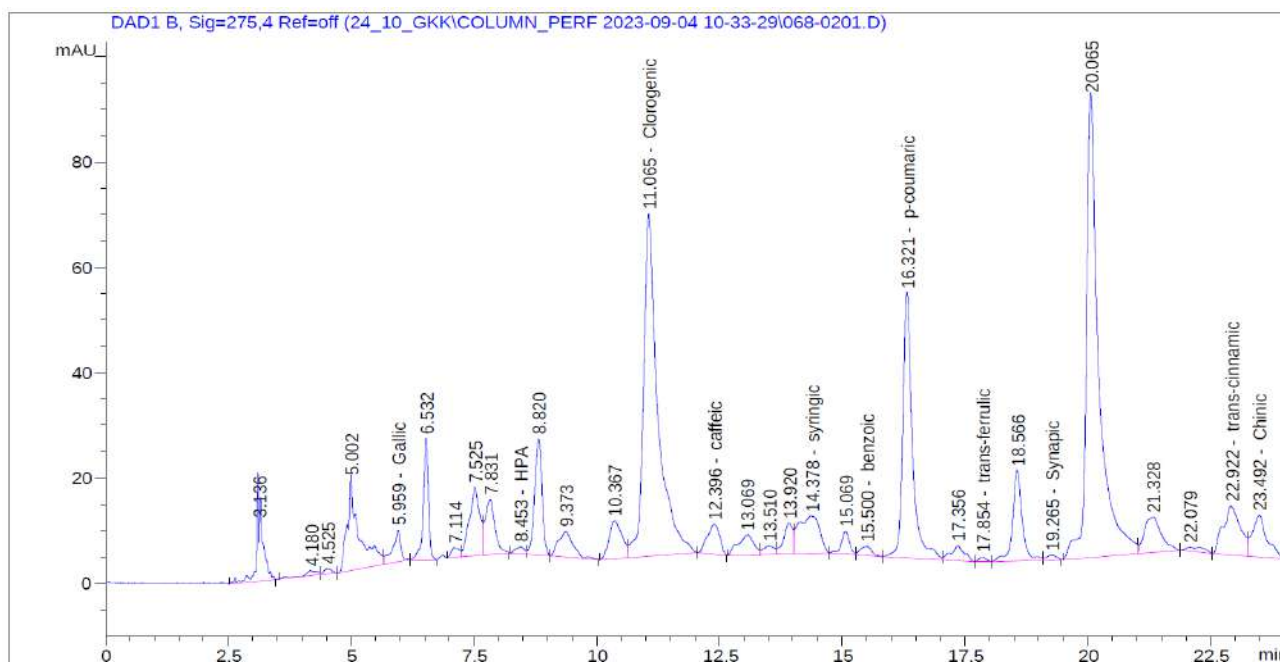


Рисунок 3.4 – ВЕРХ-хроматограма індивідуальних сполук гідроксикоричних кислот *Rudbeckia hirta* L. трави при $\lambda = 275$ нм

Проаналізувавши дані, наведені у таблиці 3.3 щодо якісного складу, а також й кількісного вмісту індивідуальних сполук кислот гідроксикоричних у *Rudbeckia hirta* L. траві, встановлено, що домінуючою сполукою є хлорогенова

кислота. Її вміст становить 7992,58 мкг/г, що складає 85,34 % від загальної кількості виявлених індивідуальних сполук кислот гідроксикоричних [30].

Хлорогенова кислота (рис. 3.5) є однією з найбільш поширених молекул серед фенольних кислот завдяки своїй високій концентрації в різноманітних харчових продуктах.

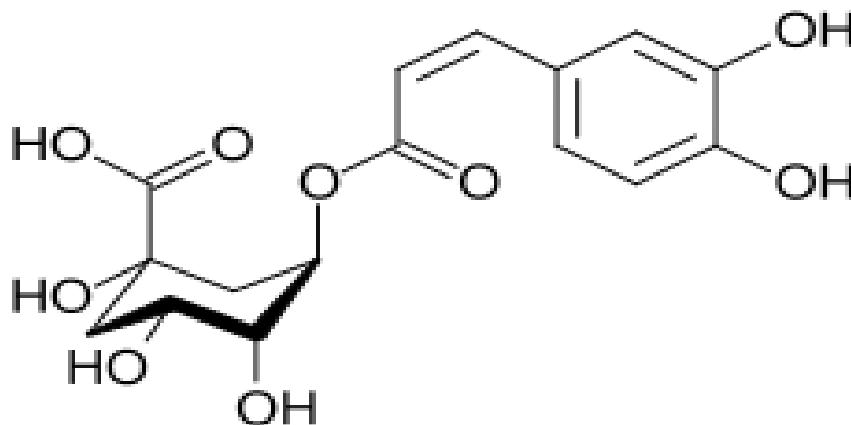


Рисунок 3.5 – Структурна формула хлорогенової кислоти

Хлорогенова кислота є важливим і біологічно активним дієтичним поліфенолом, який виконує низку терапевтичних функцій, зокрема: антиоксидантну, гепатопротекторну, антибактеріальну, протизапальну, кардіопротекторну, жарознижувальну, протиожирну, нейропротекторну, противірусну, антигіпертензивну, антимікробну дію, а також діє як поглинач вільних радикалів і стимулятор центральної нервової системи.

Вважається, що хлорогенова кислота може відігравати ключову роль у регуляції ліпідного й вуглеводного обміну, а отже – сприяти лікуванню таких захворювань, як серцево-судинні, жирове ураження печінки, діабет та ожиріння [46].

3.3 Визначення суми та індивідуальних сполук флавоноїдів

Наявність флавоноїдів у *Rudbeckia hirta* L. траві було встановлено за допомогою ціанідинової реакції, яка є однією з класичних якісних проб для

виявлення флавоноїдних сполук. У ході реакції спостерігали появу червоного забарвлення, що характерно для сполук із флавоноловою структурою, зокрема глікозидів кверцетину та кемпферолу. Це забарвлення обумовлене утворенням характерних хромофорних груп при взаємодії флавонолів із реактивами (наприклад, із солями заліза або магнію у кислому середовищі).

При взаємодії одержаного елюату із 10 % розчином ферум (III) хлориду спостерігали появу зелено-сірого забарвлення.

При взаємодії елюату з розчином лугу спостерігали появу жовтого забарвлення.

При взаємодії з плюмбум ацетатом спостерігали випадання осаду жовтого кольору.

Кількісний вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин було визначено спектрофотометричним методом. Результати дослідження флавоноїдів у траві рудбекії волосистої представлено на рисунку 3.6 і в таблиці 3.4.

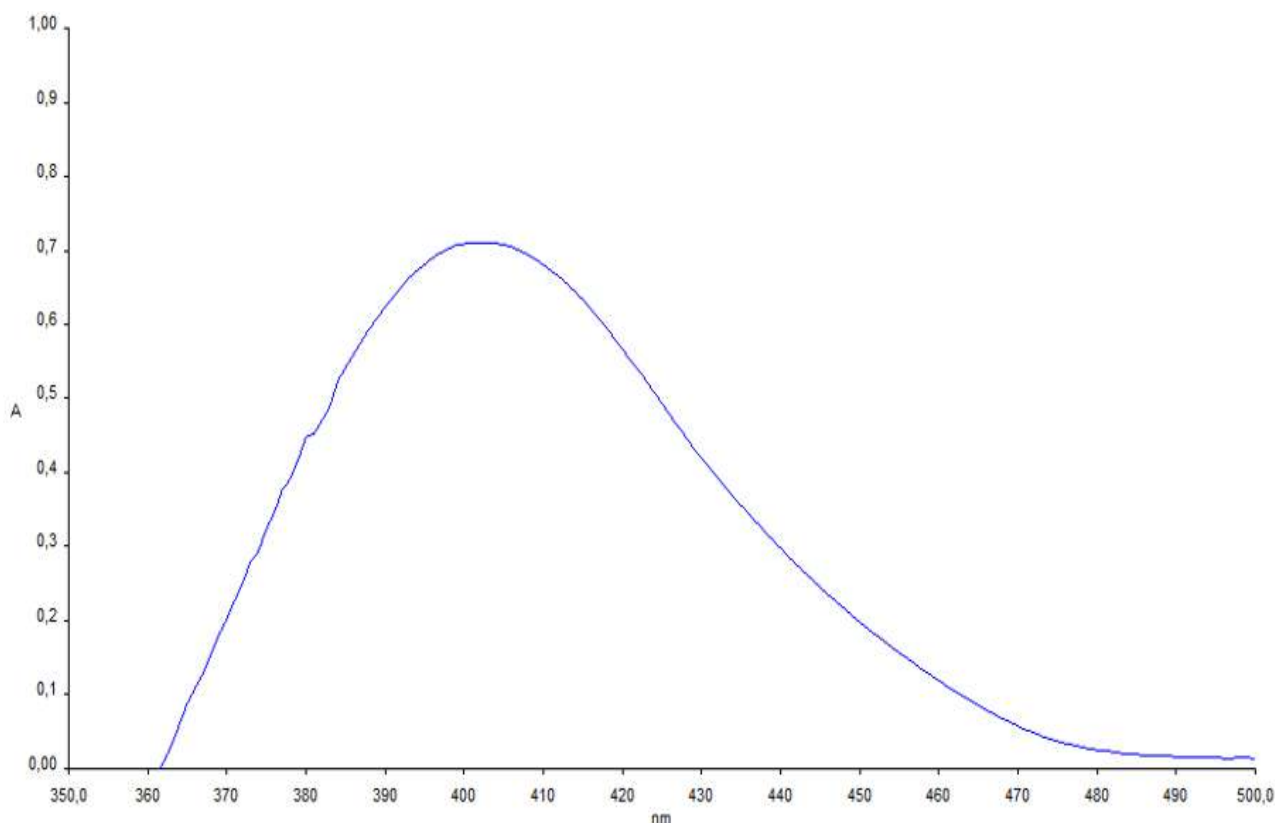


Рисунок 3.6 – Спектр поглинання комплексу суми флаваноїдів з алюмінію хлоридом

Таблиця 3.4

Визначення кількісного вмісту суми флаваноїдів у сировині рудбекії волосистої

Сировина	Кількісний вміст суми флаваноїдів у перерахунку на рутин, % (n=5)
Трава	3,56±0,01

Примітка. Вірогідність похибки $P < 0,05$.

Методом ВЕРХ визначено індивідуальні сполуки флаваноїдів у *Rudbeckia hirta* L. траві. Результати проведеного аналізу представлено на рисунку 3.7 і в таблиці 3.5.

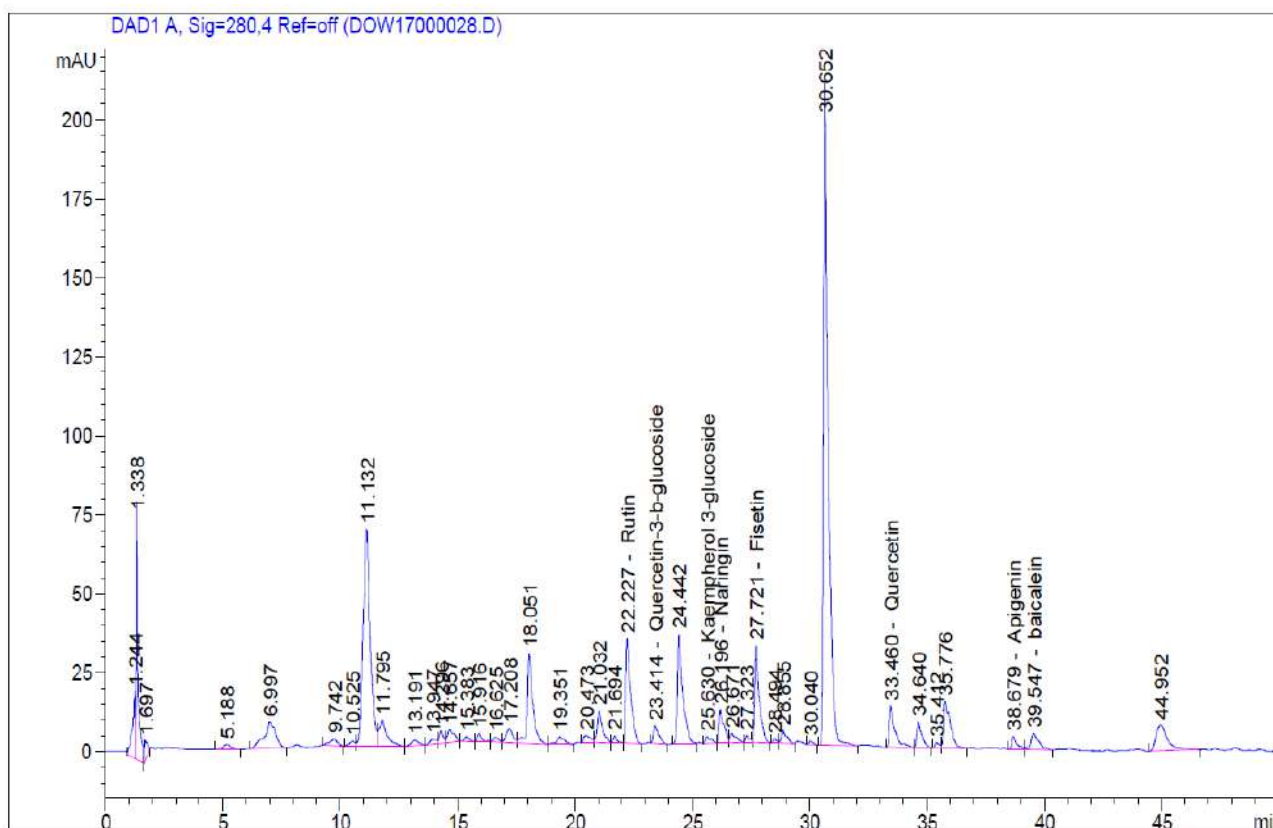


Рисунок 3.7 – ВЕРХ-хроматограма індивідуальних сполук флавоноїдів *Rudbeckia hirta* L. трави при $\lambda = 280$ нм

Таблиця 3.5

Якісний склад та кількісний вміст індивідуальних сполук флавоноїдів у *Rudbeckia hirta* L. траві

Час утримання, хв	Назва сполуки	Кількісний вміст	
		мкг/г	%*
22.23	Рутин	1308,96	21,19
23.42	Ізокверцитрин	97,68	1,58
25.63	Астрагалін	43,93	0,71
26.20	Нарингін	673,82	10,91
27.72	Фізетин	2 381,39	38,55
33.46	Кверцетин	800,90	12,97
38.68	Апігенін	307,95	4,99
39.55	Байкалеїн	562,72	9,11
	Всього	6177,35	100

Примітка. %* - від загальної кількості виявлених індивідуальних сполук флавоноїдів.

Проаналізувавши дані, наведені у таблиці 3.5, можна зробити висновок, що флавоноїдними сполуками, виявленими у *Rudbeckia hirta* L. траві, є астрагалін, нарингін, рутин, фізетин, кверцетин, апігенін, байкалеїн та ізокверцитрин [30]. Загальна кількість виявлених флавоноїдів становить 6177,35 мкг/г.

Найбільшу частку серед виявлених флавоноїдів має фізетин (рис. 3.8) – 2381,39 мкг/г або 38,55 % від загальної кількості виявлених індивідуальних сполук флавоноїдів.

Фізетин – природний флавоноїд, що проявляє широкий спектр біологічних властивостей, які інтенсивно досліджуються у контексті різних патологій, зокрема злоякісних новоутворень. Він чинить протипухлинну дію через пригнічення проліферації клітин, індукцію апоптозу, інгібування ангіогенезу, зменшення оксидативного стресу, гальмування міграції пухлинних клітин і підвищення чутливості до хіміотерапії.

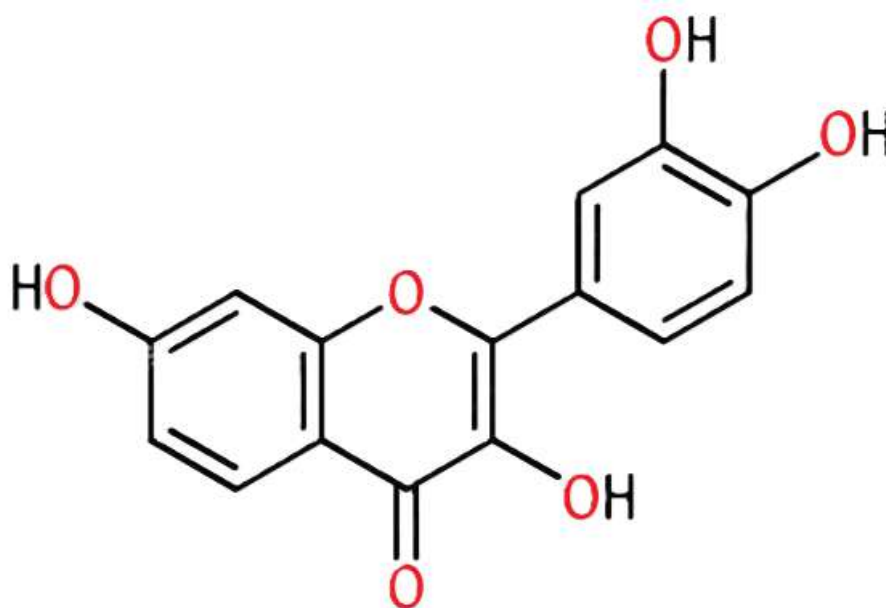


Рисунок 3.8 – Структурна формула фізетину [47]

Основні механізми дії фізетину реалізуються за участі різноманітних сигнальних шляхів та молекул. Зокрема, доведено, що фізетин інгібує проліферацію ракових клітин, викликаючи зупинку клітинного циклу та пригнічуючи синтез ДНК. Він блокує активність комплексу CDK6/cyclin D, що є критичним регулятором фази G1, а також може ініціювати передчасний поділ хромосом і вихід з мітозу без нормального цитокінезу.

Фізетин також чинить протизапальну дію: зменшує активність мієлопероксидази, а також рівні IL-1 β , IL-6, TNF- α , пригнічуючи активацію NF- κ B та транслокацію цього фактора до ядра. Фізетин ефективно знижує запальні

ураження в легенях і тканинах матки, індуковані токсинами, а також зменшує рівень IgE та прозапальних цитокінів у моделі алергічної астми у мишей.

Завдяки своїм антиоксидантним властивостям, фізетин нейтралізує вільні радикали, пригнічує утворення активних форм кисню та захищає клітини від окисного стресу. Він також модулює сигнальну мережу LPS-TLR та покращує функціонування нейронів у моделі ішемічного ураження мозку, блокуючи апоптоз у гіпокампі.

У кардіологічному контексті фізетин проявляє кардіопротекторну дію, зменшуючи рівень окисативного стресу та апоптозу у тканинах серця.

Крім того, фізетин проявляє протиульцерову активність, зменшуючи ушкодження слизової оболонки шлунка завдяки своїм цитопротекторним і антиоксидантним властивостям. Він стимулює секрецію слизу, блокує пепсиноген, гальмує надходження іонів кальцію й нормалізує обмін глутатіону.

Не менш важливою є антидіабетична дія фізетину. Він допомагає знижувати гіперглікемію, а також захищає від розвитку діабетичної ретинопатії.

Фізетин розглядається як перспективна природна речовина для комплексної протипухлинної, протизапальної, антиоксидантної, кардіо- та нейропротекторної терапії [48].

3.4 Визначення суми поліфенолів

Вміст суми поліфенолів у *Rudbeckia hirta* L. траві практично визначали спектрофотометричним методом. Перерахунок вели на пірогалол.

Результати дослідження суми поліфенолів у рудбекії волосистої траві представлено у таблиці 3.6.

Таблиця 3.6

**Визначення кількісного вмісту суми поліфенолів у сировині рудбекії
волосистої**

Сировина	Кількісний вміст суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол, % (n=5)
Трава	6,97±0,08

Примітка. Вірогідність похибки $P < 0,05$.

3.5 Дослідження ліпофільних комплексів

Ліпофільні фракції рудбекії волосистої трави одержували вичерпним екстрагуванням досліджуваної сировини хлороформом в апараті Сокслета (рис. 3.9).



Рисунок 3.9 – Одержання ліпофільної фракції *Rudbeckia hirta* L. трави

Ліпофільна фракція рудбекії волосистої трави – масляниста, густа, жовто-зеленого кольору однорідна маса із характерним запахом, що практично у воді очищеній та етанолі 96 % нерозчинна, легкорозчинна у хлороформі.

Результати визначення виходу фракцій ліпофільних рудбекії волосистої трави представлено у таблиці 3.7.

Таблиця 3.7

Вихід ліпофільної фракції сировини рудбекії волосистої

Назва сировини	Вихід ліпофільної фракції, %, у перерахунку на абсолютно суху сировину, (n=5)
Трава	11,07 ± 0,29

Одержані ліпофільні фракції золототисячника звичайного трави і тирличу хрещатого трави використовували для визначення хлорофілів і каротиноїдів.

Вміст каротиноїдів і хлорофілів у ліпофільній фракції рудбекії волосистої трави становив $(0,05 \pm 0,001) \%$ і $(0,14 \pm 0,006) \%$, відповідно. Результати дослідження наведено на рисунку 3.12.

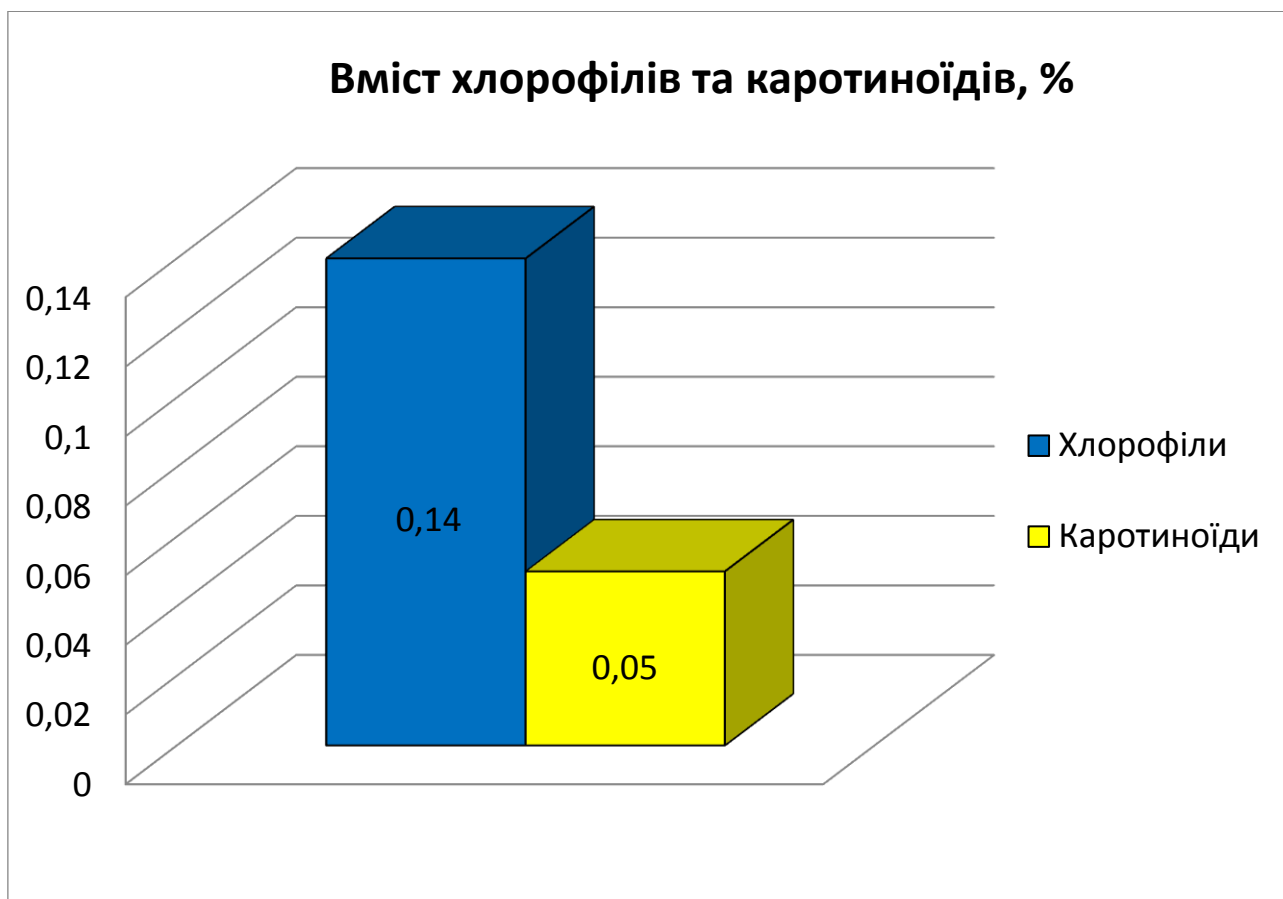


Рисунок 3.10 – Вміст хлорофілів та каротиноїдів у ліпофільній фракції *Rudbeckia hirta* L. трави

Проаналізувавши результати, представлені на рисунку 3.10, можна зробити висновок, що вміст хлорофілів у ліпофільній фракції *Rudbeckia hirta* L. трави майже втричі перевищує вміст каротиноїдів.

Хлорофіли та каротиноїди – це природні пігменти, що входять до складу нашого щоденного раціону, особливо в умовах зростання популярності здорового способу життя та споживання натуральних продуктів серед населення.

Хлорофіли – це група зелених пігментів, що містяться у хлоропластах і беруть участь у процесі фотосинтезу. Вони мають антиоксидантні, гепатопротекторні, протизапальні властивості, а також здатні стимулювати регенерацію тканин. Крім того, хлорофіли виявляють антибактеріальну

активність. Деякі дослідження свідчать про антиканцерогенну дію похідних хлорофілу.

Каротиноїди – це жовті, помаранчеві та червоні пігменти, основна їх функція у різних видів тварин та людини, полягає в тому, що вони виступають основними попередниками вітаміну А, необхідного для зору, росту, диференціації клітин та інших фізіологічних процесів.

До категорії провітаміну А належать лише ті каротиноїди, які мають щонайменше одне незаміщене β -кільце та полієновий ланцюг, що містить 11 атомів вуглецю. Основними дієтичними джерелами провітамінної А-активності є β -каротин, його ізомери та інші.

Ця функція каротиноїдів є надзвичайно важливою для тих людей, які залежать від споживання фруктів і овочів для покриття добової потреби у вітаміні А – як у розвинених країнах, так і в тих, що розвиваються [49].

3.6 Визначення числових показників у *Rudbeckia hirta* L. траві

Доброякісність рослинної сировини має безпосередній зв'язок із відповідністю її якісних і кількісних показників вимогам чинної нормативної документації. Саме ці параметри забезпечують стабільність хімічного складу, терапевтичну ефективність та безпеку лікарських засобів, виготовлених на її основі. Тому з метою встановлення доброякісності трави *Rudbeckia hirta* L. нами визначено низку стандартизованих показників: втрату в масі при висушуванні (як індикатор допустимого вмісту вологи та летких речовин), вміст золи загальної (що характеризує загальну кількість неорганічних компонентів після згоряння) та вміст золи, нерозчинної у 10% розчині хлоридної кислоти (який свідчить про кількість мінеральних домішок механічного або зовнішнього походження – пилу, піску, ґрунту тощо).

Отримані результати дозволяють дати обґрунтовану оцінку якості сировини та її придатності до подальшого фармацевтичного використання.

3.6.1 Визначення втрати в масі при висушуванні

Залежно від морфологічної групи повітряно-суха рослинна сировина може містити до 14 % гігроскопічної вологи та летких речовин. Перевищення цього показника призводить до псування сировини: змінюється забарвлення, з'являється неприємний запах, розвивається пліснява, руйнуються БАР [9]. Надлишок вологи також створює сприятливе середовище для розвитку мікроорганізмів, особливо цвілевих грибів, що може призвести до мікотоксикації готової продукції. У зв'язку з цим нами було визначено вологість трави рудбекії волосистої з метою оцінки її відповідності нормативним вимогам та забезпечення належних умов зберігання.

Результати визначення втрати в масі при висушуванні трави рудбекії волосистої наведено у таблиці 3.8.

Таблиця 3.8

Визначення втрати в масі при висушуванні *Rudbeckia hirta* L. трави

Сировина	Втрата в масі при висушуванні, % (n=5)
Трава	10,15±0,31

Примітка. Вірогідність похибки $P < 0,05$.

3.6.2 Визначення загальної золи

Вміст загальної золи у перерахунку на абсолютно суху сировину *Rudbeckia hirta* L. визначали згідно ДФУ.

Цей показник є важливим критерієм доброякісності рослинної сировини, оскільки характеризує загальну кількість мінеральних речовин, які залишаються після повного згоряння органічних компонентів.

Результати визначення загальної золи в досліджуваному об'єкті наведено у таблиці 3.9.

Таблиця 3.9

Визначення загальної золи *Rudbeckia hirta* L. трави

Сировина	Кількість загальної золи, % (n=5)
Трава	4,87±0,15

Примітка. Вірогідність похибки $P < 0,05$.

3.6.3 Визначення золи, нерозчинної у 10 % розчині кислоти хлористоводневої

Вміст золи, що нерозчинна у кислоті хлористоводневій у перерахунку на абсолютно суху сировину *Rudbeckia hirta* L. визначали згідно ДФУ.

Цей показник дозволяє оцінити кількість нерозчинних мінеральних домішок, які не є характерними для самої рослини й здебільшого мають механічне або стороннє походження – наприклад, частинки піску, пилу, ґрунту чи інших неорганічних домішок, що могли потрапити до сировини під час збору, транспортування або сушіння.

Результати визначення золи, нерозчинної в 10 % розчині кислоти хлористоводневої, в траві досліджуваного об'єкта наведено у таблиці 3.10.

Таблиця 3.10

Визначення золи, нерозчинної в 10 % розчині кислоти хлористоводневої у *Rudbeckia hirta* L. траві

Сировина	Кількість золи, нерозчинної в 10 % розчині кислоти хлоридної, % (n=5)
Трава	0,95±0,04

Примітка. Вірогідність похибки $P < 0,05$.

Висновки до розділу 3

1. Використовуючи фітохімічні методи аналізу у *Rudbeckia hirta* L. траві, встановлено наявність вуглеводів, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, поліфенолів, пігментів, які забезпечують її активність.

2. Досліджено полісахаридні комплекси рудбекії волосистої трави, виділено фракції водорозчинних полісахаридів та пектинових речовин, кількісний вміст яких становив $(5,11 \pm 0,24) \%$, $(9,46 \pm 0,37) \%$, відповідно. Визначено якісний склад та кількісний вміст моносахаридів, їх похідних та сахарози методом ГХ/МС.

3. Спектрофотометричним методом у *Rudbeckia hirta* L. траві визначено кількісний вміст сполук фенольної природи: сума поліфенолів становить $(6,97 \pm 0,08) \%$; сума гідроксикоричних кислот – $(5,62 \pm 0,01) \%$; сума флавоноїдів – $(3,56 \pm 0,01) \%$.

Методом ВЕРХ визначено кількісний вміст індивідуальних сполук флавоноїдів: фізетину ($2\,381,39$ мкг/г), рутину ($1308,96$ мкг/г), астрагаліну ($43,93$ мкг/г), нарингіну ($673,82$ мкг/г), кверцетину ($800,90$ мкг/г), апігеніну ($307,95$ мкг/г), байкалеїну ($562,72$ мкг/г) та ізокверцитрину ($97,68$ мкг/г). Серед індивідуальних сполук гідроксикоричних кислот, кількісний вміст яких визначали методом ВЕРХ, визначено: хлорогенову ($7992,58$ мкг/г), кофейну ($191,45$ мкг/г), сирінгову ($210,95$ мкг/г), *пара*-кумарову ($763,85$ мкг/г), *транс*-ферулову ($12,63$ мкг/г), синапову ($15,11$ мкг/г), *транс*-цинамову ($93,47$ мкг/г), та хінну ($85,35$ мкг/г).

Методом ГХ/МС у траві рудбекії волосистої визначено кількісний вміст вільних цукрів: L-фукозу ($0,15$ мг/г), D-манозу ($0,38$ мг/г), D-глюкозу ($1,25$ мг/г), D-галактозу ($0,07$ мг/г), Муо-інозитол ($1,12$ мг/г), D-манітол ($0,52$ мг/г), D-фруктозу ($0,26$ мг/г), сахарозу ($2,89$ мг/г). Зв'язані цукри представлені L-арабінозою ($4,04$ мг/г), L-фукозою ($9,42$ мг/г), D-манозою ($3,55$ мг/г), D-глюкозою ($17,08$ мг/г), D-галактозою ($7,38$ мг/г), D-ксилозою ($23,56$ мг/г), D-манітолом ($1,36$ мг/г), та D-фруктозою ($2,10$ мг/г).

4. Одержано ліпофільні фракції із рудбекії волосистої трави, їх вихід становив $(11,07 \pm 0,29) \%$, відповідно. Визначено кількісний вміст хлорофілів та каротиноїдів, який у *Rudbeckia hirta* L. траві становив $(0,14 \pm 0,006) \%$, $(0,05 \pm 0,001) \%$.

5. Визначено числові показники рудбекії волосистої трави: втрата в масі при висушуванні – $(10,15 \pm 0,31) \%$, зола загальна – $(4,87 \pm 0,15) \%$, зола, нерозчинна у 10 % кислоті хлористоводневій – $(0,95 \pm 0,04) \%$.

ВИСНОВКИ

1. Проведено аналіз джерел літератури, у якому узагальнено сучасні дані про ботанічну характеристику, хімічний склад та фармакотерапевтичні властивості *Rudbeckia hirta* L.

2. Ідентифіковано біоактивні речовини трави рудбекії волосистої якісними реакціями та за допомогою методів ГХ/МС і ВЕРХ. Встановлено наявність водорозчинних полісахаридів, пектинових речовин, вільних та зв'язаних цукрів, гідроксикоричних кислот та флавоноїдів.

3. Встановлено кількісний вміст БАР у траві *Rudbeckia hirta* L. Зокрема, вміст пектинових речовин становить $(9,46 \pm 0,37) \%$, водорозчинних полісахаридів – $(5,11 \pm 0,24) \%$, суми поліфенолів – $(6,97 \pm 0,08) \%$, суми гідроксикоричних кислот – $(5,62 \pm 0,01) \%$, суми флавоноїдів – $(3,56 \pm 0,01) \%$. У ліпофільній фракції визначено хлорофіли – $(0,14 \pm 0,006) \%$ і каротиноїди – $(0,05 \pm 0,001) \%$.

Методом ВЕРХ визначено кількісний вміст індивідуальних сполук флавоноїдів: фізетину, рутину, астрагаліну, нарингіну, кверцетину, апігеніну, байкалеїну та ізокверцитрину. Серед них переважав фізетин, кількісний вміст якого становить 2 381,39 мкг/г. Серед індивідуальних сполук гідроксикоричних кислот, кількісний вміст яких визначали методом ВЕРХ, визначено: хлорогенову, кофейну, сирінгову, *пара*-кумарову, *транс*-ферулову, синапову, *транс*-цинамову та хінну кислоти. Кількісний вміст хлорогенової кислоти найвищий та становить 7992,58 мкг/г мкг/г.

Методом ГХ/МС у траві рудбекії волосистої визначено кількісний вміст вільних цукрів: L-фукози, D-манози, D-глюкози, D-галактози, Муо-інозітолу, D-манітолу, D-фруктози, сахарози. Зв'язані цукри представлені L-арабінозою, L-фукозою, D-манозою, D-глюкозою, D-галактозою, D-ксилозою, D-манітолом та D-фруктозою. Серед вільних цукрів домінувала сахароза (2,89 мг/г), серед зв'язаних – D-ксилоза (23,56 мг/г).

4. Визначено числові показники якості сировини, що є критеріями її доброякісності: втрата в масі при висушуванні становить $(10,15 \pm 0,31) \%$, загальна зольність – $(4,87 \pm 0,15) \%$, зола, нерозчинна у 10 % розчині хлороводневої кислоти – $(0,95 \pm 0,04) \%$, що відповідає нормативним вимогам для лікарської рослинної сировини.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. WHO *Traditional Medicine Strategy: 2014–2023*. Geneva : World Health Organization, 2013. 76 p.
2. Rolnik A., Olas B. The plants of the Asteraceae family as agents in the protection of human health. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22, No. 6. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22063009>.
3. Robinson M.M., Zhang X. *Traditional Medicines: Global Situation, Issues and Challenges*. Geneva : WHO, 2011. 134 p.
4. Revisiting the ancient concept of botanical therapeutics / B. Schmidt, D.M. Ribnicky, P.E. Lipsky et al. *Nature Chemical Biology*. 2008. Vol. 7, No. 3. P. 360–366.
5. Koehn F.E., Carter G.T. The evolving role of natural products in drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2005. Vol. 4, No. 3. P. 206–220.
6. Natural products in drug discovery: advances and opportunities / A.G. Atanasov, S.B. Zotchev, V.M. Dirsch et al. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2021. Vol. 20, No. 3. P. 200–216.
7. Newman D.J., Cragg G.M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*. 2020. Vol. 83, No. 3. P. 770–803.
8. Wink M. Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. *Medicines*. 2015. Vol. 2, No. 3. P. 251–286.
9. Global Compositae Database. 2024. URL: <http://www.compositae.org> (дата звернення: 17 листопада 2024).
10. Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae / V.A. Funk, A. Susanna, T.F. Stuessy et al. Vienna : International Association for Plant Taxonomy, 2009. 964 p.
11. Bremer K. *Asteraceae: Cladistics and Classification*. Portland, Oregon : Timber Press, 1994. 752 p.

12. Flora of North America. *Rudbeckia*. 2024. URL: <http://floranorthamerica.org/Rudbeckia> (дата звернення: 17 листопада 2024).
13. Reveal J.L. *A Botanist's Vocabulary: Origins and Explanations of Plant Names*. 1999. 196 p.
14. Gledhill D. *The Names of Plants*. Cambridge : Cambridge University Press, 2008. 426 p.
15. Plants of the World Online. 2024. URL: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:223740-2> (дата звернення: 17 листопада 2024).
16. Western Native Seed. *Rudbeckia hirta* Plant Guide. 2024. URL: <https://www.westernnativeseed.com/plant%20guides/rudhirpg.pdf> (дата звернення: 17 листопада 2024).
17. USDA Forest Service. *Rudbeckia hirta* – Black-eyed Susan. 2024. URL: <https://www.fs.usda.gov/database/feis/plants/forb/rudhir/all.html> (дата звернення: 17 листопада 2024).
18. Flora of North America Editorial Committee. *Flora of North America North of Mexico*. Vol. 21. 2024. URL: http://floranorthamerica.org/Rudbeckia_hirta (дата звернення: 17 листопада 2024).
19. Vital Seeds. *Rudbeckia hirta* Organic. 2024. URL: <https://vitalseeds.co.uk/product/rudbeckia-hirta-organic-new-for-2023/> (дата звернення: 17 листопада 2024).
20. Minnesota Wildflowers. Black-eyed Susan (*Rudbeckia hirta*). 2024. URL: <https://www.minnesotawildflowers.info/flower/black-eyed-susan> (дата звернення: 17 листопада 2024).
21. Afshar H.R., Jafari M., Sadeghi H. The study on flavonoid compounds in *Rudbeckia hirta* L. *ResearchGate*. 2020. URL: <https://www.researchgate.net/> (дата звернення: 17 листопада 2024).
22. Alia W.A., Ashry M., Ezzat R.A. Bioactive phenolic compounds isolated from *Rudbeckia hirta* flowers. *BioSeek*. 2019. URL: <https://bioseek.eu/> (дата звернення: 17 листопада 2024).

23. Preliminary phytochemical and biological evaluation of *Rudbeckia hirta* flowers / A.F. Burlec, Ł. Pecio, C. Mircea et al. *Plants*. 2023. Vol. 12, No. 15. Article ID: 2871. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants12152871>.
24. Stewart C.D., Jones C.D., Setzer W.N. Leaf essential oil compositions of *Rudbeckia fulgida* Aiton, *Rudbeckia hirta* L., and *Symphyotrichum novae-angliae* (L.) G.L. Nesom (Asteraceae). *American Journal of Essential Oils and Natural Products*. 2014. No. 2 (1). P. 36–38.
25. A new highly oxygenated pseudoguaianolide with 5-LOX inhibitory activity from *Rudbeckia hirta* L. flowers / B.R. Michael, S.R. Gedara, M.M. Amer et al. *Natural Product Research*. 2013. Vol. 27, No. 24. P. 2281–2285. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2013.825916>.
26. The genus *Rudbeckia*: Traditional uses, phytochemistry, and biological activities / A.M.L. Seca, A. Grigore, D.C.G.A. Pinto, A.M.S. Silva. *Industrial Crops and Products*. 2014. Vol. 59. P. 274–293. DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.05.022.
27. Evidence-based medicinal value of *Rudbeckia hirta* L. flowers / B.R. Michael, S.R. Gedara, M.M. Amer et al. *Natural Product Research*. 2014. Vol. 28, No. 12. P. 909–913. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.891202>.
28. Phytochemical composition and in vitro biological properties of several *Rudbeckia hirta* and *Tagetes erecta* flower extracts / A.F. Burlec, A. Corciova, A.-M. Vlase et al. *Farmacia*. 2022. Vol. 70, No. 2. P. 225–231.
29. Medicinal herbs – Black-eyed Susan. 2010. URL: <https://www.herbalmedicinebox.com/2010/05/medicinal-herbs-black-eyed-susan.html> (дата звернення: 17 листопада 2024).
30. Команюк Л.В., Басараба Р.Ю. Дослідження сполук фенольної природи в сировині рудбекії волосистої. *Медична та клінічна хімія*. 2025. № 4. С. 9–13. DOI: <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2024.i4.15111>.
31. Elston C.D. *15 Prairie Flowers of West Michigan*. 2000.

32. Wellness Herbs. Wellness Herbs – інформаційний ресурс про лікарські рослини. URL: <https://www.wellnessherbs.com> (дата звернення: 27 квітня 2025).
33. Living Earth Herbs. Black-eyed Susan. URL: <https://livingearthherbs.com/product/black-eyed-susan-7-5-ml/> (дата звернення: 17 листопада 2024).
34. Freedom Flowers. Black-eyed Susan flower essence. URL: <https://www.freedom-flowers.com/black-eyed-susan-flower-essence/> (дата звернення: 17 листопада 2024).
35. Солодовниченко Н. М., Журавльов М. С., Ковальов В. Н. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати: Посіб. з фармакогнозії з основами біохімії лікар. рослин / Харків: Вид-во НФАУ. Золоті сторінки, 2001. 408 с.
36. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид., Т. 1. Х.: Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. 1128 с.
37. Дослідження полісахаридних комплексів рослин родини Asteraceae / С. М. Марчишин, О. Л. Демидяк, І. С. Дахим та ін. ScienceRise. 2015. № 10. С. 31-36.
38. Зарічанська О. В. Фармакогностичне дослідження рослин роду Лілійник (*Heimerocallis* L.) : дис. ... к. фармац. наук: 15.00.02 / Львів. нац. мед. ун-т ім. Данила Галицького. Львів, 2016. 234 с.
39. Determination of carbohydrates and fructans content in *Cyperus esculentus* L. / S. Marchyshyn, L. Budniak, L. Slobodianiuk et al. *Pharmacia*. 2021. Vol. 68, no. 1. P. 211–216. DOI: <https://doi.org/10.3897/pharmacia.68.e54762>.
40. Дослідження гідроксикоричних кислот підземних органів катрану серцелистого та катрану коктебельського / О. Я. Скринчук, С. М. Марчишин, Л. В. Слободянюк та ін. *Медична та клінічна хімія*. 2020. № 22(4). С. 91-95.

41. Дослідження фенольних сполук у сировині дягелю лікарського (*Angelica archangelica* L.) / В. П. Сагадюк, І. С. Гуменюк, С. М. Марчишин та ін. *Медична та клінічна хімія*. 2023. № 25(4). С. 80-84.
42. Стойко Л. Фітохімічне дослідження ліпофільної фракції з трави золототисячника звичайного (*Centaurium erythraea* Rafn.). *XVIII Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених*: матер. XVIII конгр., м. Тернопіль, 28-30 квіт. 2014 р. Тернопіль, «Укрмедкнига», 2014. С. 273.
43. Antioxidant and immunomodulatory properties of polysaccharides from *Allanblackia floribunda* Oliv stem bark and *Chromolaena odorata* (L.) King and H.E. Robins leaves / T. Boudjeko, R. Megnekou, A.L. Woguia et al. *BMC Research Notes*. 2015. Vol. 8. Article ID: 759. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13104-015-1703-x>.
44. Determination of amino acids and sugars content in *Antennaria dioica* Gaertn. / L. Slobodianiuk, L. Budniak, S. Marchyshyn et al. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 2019. Vol. 11, no. 5. P. 39–43. DOI: <https://doi.org/10.22159/ijap.2019v11i5.33909>.
45. Komaniuk L.V., Basaraba R.Yu. Determination of the qualitative composition of hydroxycinnamic acids in the herb of *Rudbeckia hirta* L. *PLANTA+. Наука, практика та освіта: матеріали V науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті д-ра хім. наук, проф. Н. П. Максютіної (до 100-річчя від дня народження)*, м. Київ, 28-29 січня 2025 р. Київ, 2025. С. 44.
46. HPLC-DAD analysis of flavonoids and hydroxycinnamic acids in *Aster novi-belgii* L. / D. Demydiak, L. Slobodianiuk, O. Gerush et al. *Pharmacia*. 2023. Vol. 70, no. 3. P. 745–750. DOI: <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e94344>.
47. Fisetin molecule – structural chemical formula. *Depositphotos*. 2024. URL: <https://depositphotos.com/id/vector/fisetin-molecule-it-is-plant-flavonol-from-the-flavonoid-group-of-polyphenols-structural-chemical-formula-417799718.html> (дата звернення: 17 листопада 2024).

48. Biological effects and mechanisms of fisetin in cancer: a promising anti-cancer agent / C. Zhou, Y. Huang, S. Nie et al. *European Journal of Medical Research*. 2023. Vol. 28, no. 1. Article ID: 297. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40001-023-01271-8>.
49. Pérez-Gálvez A., Viera I., Roca M. Carotenoids and chlorophylls as antioxidants. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2020. Vol. 9, no. 6. Article ID: 505. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox9060505>.