

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ФАКУЛЬТЕТ ЕКОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕКИ, ІНЖЕНЕРІЇ ТА ТЕХНОЛОГІЙ  
КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

ДОПУСТИТИ ДО ЗАХИСТУ  
Завідувач випускної кафедри  
\_\_\_\_\_М.М. Барановський  
«\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 р.

**ДИПЛОМНА РОБОТА**  
**(ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА)**

ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ «БАКАЛАВР»  
СПЕЦІАЛЬНІСТЬ 162 «БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА БІОІНЖЕНЕРІЯ»  
ОСВІТНЬО-ПРОФЕСІЙНА ПРОГРАМА «ФАРМАЦЕВТИЧНА БІОТЕХНОЛОГІЯ»

**Тема: «Особливості технології отримання біологічно активних речовин з Багна  
звичайного (*Ledum palustre*)»**

Виконавець: студентка ФБ-402Б

Мишко О.В.

Керівник: д.б.н., професор

Гаркава К.Г.

Нормоконтролер:

Дражнікова А.В.

КИЇВ 2021

# НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет екологічної безпеки, інженерії та технологій

Кафедра біотехнології

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Фармацевтична біотехнологія»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач випускної кафедри

\_\_\_\_\_ М.М. Барановський

« \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021р.

## ЗАВДАННЯ

на виконання дипломної роботи

**Мишко Олени Василівни**

1. Тема дипломної роботи: «Особливості технології отримання біологічно активних речовин з Багна звичайного (*Ledum palustre*)» затверджена наказом ректора від «11» травня 2021 р. № 715/ст.

2. Термін виконання роботи: з 10 травня по 20 червня 2021 р.

3. Вихідні дані роботи: Об'єктом дослідження є біологічно активні речовини багна звичайного. Для опрацювання було узято літературні джерела.

4. Зміст пояснювальної записки: ВСТУП; РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД; РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ; РОЗДІЛ 3. АНАЛІЗ ВПЛИВУ ЕФІРНОЇ ОЛІЇ БАГНА ЗВИЧАЙНОГО НА БІОЛОГІЧНІ ОБ'ЄКТИ; ВИСНОВКИ; СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.

5. Перелік обов'язкового графічного (ілюстративного) матеріалу: таблиць 5, рисунків 6.

## 6. Календарний план-графік

№	Завдання	Термін виконання	Підпис керівника
1	Узгодження змісту дипломної роботи з дипломним керівником.	10 травня 2021р.	
2	Збір інформації за темою дипломної роботи: «Особливості технології отримання біологічно активних речовин з Багна звичайного ( <i>Ledum palustre</i> )».	11-15 травня 2021р.	
3	Складання плану виконання бакалаврської дипломної роботи.	15-16 травня 2021р.	
4	Ознайомлення з методиками дослідження	17-21 травня 2021.	
5	Аналіз та обробка отриманих даних.	21- 23 травня 2021р	
6	Оформлення практичної частини дипломної роботи на основі опрацьованого матеріалу.	24 – 26 травня 2021р.	
7	Формулювання висновків та рекомендацій.	27 – 28 травня 2021р.	
8	Перевірка дипломної роботи керівником.	28-31 травня 2021р.	
9	Попередній захист дипломної роботи.	1 червня 2021р.	
10	Захист дипломної роботи.	15 червня 2021р.	

7. Дата видачі завдання: «10» травня 2021 р.

Керівник дипломної роботи \_\_\_\_\_ Гаркава К.Г.

Завдання прийняла до виконання \_\_\_\_\_ Мишко О.В.

## РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка до дипломної роботи «Особливості технології отримання біологічно активних речовин з Багна звичайного (*Ledum palustre*)»: 44 сторінок, 6 рисунків, 5 таблиць, 58 використаних джерел.

**Об'єкт дослідження** – технологія виділення біологічно активних речовин з багна звичайного.

**Предмет дослідження:** біологічно активні речовини багна звичайного.

**Мета дипломної роботи** – визначити особливість технології отримання біологічно активних речовин з лікарської сировини – багно звичайне.

**Методи дослідження** – аналітичні, статистичні, мікробіологічні.

Досліджено, що лікарська рослинна сировина – багно звичайне, має у складі багато біологічно активних речовин, що активно використовуються у сьогоденні. Так глікозид арбутин використовується як антисептичний засіб, що пригнічує штами *Escherichia coli*, міститься у урологічних засобах при лікуванні циститу та пієлонефриту. А вторинний метаболіт терпеноїд – ледол – застосовується при виготовленні протикашльових та засобів для відхаркування мокроти. Дія якого полягає у подразненні слизової оболонки, внаслідок чого підсилюється секреція бронхіальних залоз і підвищується активність миготливого епітелію дихальних шляхів.

БАГНО ЗВИЧАЙНЕ, ЛІКАРСЬКА РОСЛИННА СИРОВИНА, БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ, АРБУТИН, ЛЕДОЛ, *Escherichia coli.*, *Klebsiela*, *Proteus mirabilis*, ВПЛИВ НА БІОЛОГІЧНІ ОБ'ЄКТИ.

## ЗМІСТ

РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД.....	8
1.1. Морфологічний опис багна звичайного.....	8
1.2. Структура цільної та подрібненої сировини.....	10
1.3. Поширення багна звичайного.....	11
1.4. Біологічна активність багна звичайного.....	12
1.5. Властивості БАР багна звичайного на організм.....	14
1.6. Патентний огляд парової екстракції ефірної олії багна.....	15
1.7. Висновки до розділу.....	16
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИКИ.....	18
2.1. Хроматографія.....	18
2.1.1. Паперова хроматографія.....	19
2.1.2. Тонкошарова хроматографія.....	22
2.2. Спектрафотометричний метод.....	25
2.3. Екстракція ефірної олії водяною парою.....	30
2.4. Висновки до розділу.....	31
РОЗДІЛ 3. АНАЛІЗ ВПЛИВУ НА БІОЛОГІЧНІ ОБ'ЄКТИ.....	32
3.1. Вплив на мікроорганізми.....	32
3.2. Вплив на функціональний стан бронхолегеневого дерева.....	34
3.3. Висновки до розділу.....	37
ВИСНОВОК.....	38
СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	40

## **ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ, ТЕРМІНІВ**

БАР – біологічно активні речовини

ЛРС – лікарська рослинна сировина

ЛР – лікарська рослина

ЛЗ – лікарський засіб

МПБ – м'ясо-пептонний бульйон

## ВСТУП

**Актуальність роботи.** Біологічно активні речовини надходять до нашого організму кожного дня та їх роль важлива для людства. Вміння виділення та класифікації даних речовин дозволяє біотехнології широко дослідити вплив на мікроорганізми та організми істот. Головним джерелом надходження БАР в організм є ліки, харчові та інші продукти. Багато БАР потрапляє в організм із навколишнього середовища з повітрям та питною водою. В умовах зростаючого хімічного забруднення довкілля до організму людини може потрапляти велика кількість ксенобіотиків, які можуть викликати захворювання. Дослідження лікарської сировини дає змогу використовувати її для фармацевтичної, хімічної та медичної галузей. Особливістю виділення БАР з багна звичайного полягає у паровій екстракції зі збереженням активних речовин, таких як: ледол, арбутин, дубильні речовини.

**Мета роботи:** оцінити особливості технології виділення біологічно активних речовин з багна звичайного.

Необхідно вирішити такі питання для опанування:

1. Охарактеризувати рослинну сировину;
2. Охарактеризувати методики і матеріал;
3. Обґрунтувати виділення БАР з ефірної олії;
4. Охарактеризувати вплив БАР з багна звичайного на біологічні об'єкти.

**Об'єкт дослідження:** технологія виділення біологічно активних речовин з багна звичайного.

**Предмет дослідження:** біологічно активні речовини у багні звичайному.

**Методи дослідження:** аналітичні, статистичні, мікробіологічні.

Досліджено та описано особливість виділення біологічно активних речовин з багна звичайного. Так стало відомо, що БАР можуть впливати на організм людини, її нервову систему. Опрацьовано методики виділення та характеризування активності БАР з багна звичайного.

# РОЗДІЛ 1

## ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

### 1.1. Морфологічний опис багна звичайного

Багно представлений чагарниками і кустарничками з вічнозеленими, почерговими, шкірястими, часто з загорнутим краєм, листям [1]. Лист на сонці, а також до осені набуває буро-коричневий відтінок, темно-зелений лист тільки у кущів, що ростуть в стійкою тіні, а також у гілок, що перезимували під снігом. Рослина росте в хвойних і змішаних, часто модринових лісах з підвищеною вологістю ґрунту, а також уздовж струмків і на марях, нерідко утворюючи суцільний труднопрохідними килим підліску. У заростях багна може рости брусниця, плодоноси рідкісними, але великими ягодами.

Листя і гілки багна (а особливо квітки, пилок і насіння) видають різкий, специфічний одурманюючий запах, що пояснюється вмістом в рослині ефірної олії складного складу. Квітки білі, п'яти мірні, в зонтиковидних або щитовидних суцвіттях на кінцях торішніх пагонів.

Плід представляє собою коробочку, розкривається від підстави догори. Насіння дуже дрібні, крилаті. (*Ledum palustre* L.) - сім. Вересові (*Ericaceae*). Вічнозелений чагарник висотою 5-12 см. Має сильний запах. Верхівки молодих гілок, квітконіжки і листя знизу покриті рижеватими густими волосками і дрібними залозками. Листки чергові, на коротких черешках, шкірясті, лінійно ланцетні, з загорнутими на нижню сторону краями. Квітки білі, зібрані в зонтикоподібних щитки. плід - довгаста железисто опущена багатонасінні коробочка довжиною 3-8 мм. Цвіте в травні - червні, плоди утворюються в серпні - вересні. Зростає в лісах на заболочених торф'янистих ґрунтах. Від лежачих стебел піднімається безліч гілочок багна, утворюючи пагони. Молоді пагони прикрашені густим рудувато-бурим пушком. на



старих гілочках багна звичайного кора зовсім гола сіро-блакитного кольору. Дуже специфічні вузькі листочки - вони маленькі (7-50мм), чергові, на коротких черешках.

Листочки блискучі зверху, дуже щільні і шкірясті, їхні краї загортаються вниз. Якщо подивитися на лист багна болотного знизу, то можна побачити спущені іржавого кольору, досить густе, і дрібні жовтуваті залізяки. Завершують довгі і тонкі квітконіжки білі квіти багна, зібрані в зонтикоподібних пензлика по 16-25 (діаметр однієї квітки близько 10 мм). З цвітінням багна пов'язано чимало казок про виконання добрих бажань.

У лікувальних цілях використовують молоді гілочки - облистяні пагони поточного року довжиною до 10 см, які збирають під час цвітіння, але краще - в серпні - вересні. Сушать під навісом і в сушарках при температурі 30-35 С.



Рис. 1.1. Пагін багна болотного

*Ledi palustris cormi* (рис.1.1.) - багна болотного пагони. ЛРС - суміш облистяні пагонів з оранжево-коричневим повстяним опушенням, шкірястих цілокраї довгасто-еліптичних або лінійно-продовгуватих загорнутими вниз краями листя довжиною 15-45 мм, шириною 1-5 мм і невеликої кількості плодів. Запах різкий, специфічний. У зв'язку з отруйністю ЛРС зберігають за списком Б (окремо від інших рослин) протягом 3 років.

## 1.2. Структура цільної та подрібненої сировини

Суміш об листяних пагонів, листя і невеликої кількості плодів. Листки чергові, на коротких черешках, шкірясті, лінійно-довгасті або довгасті або довгасто еліптичні, цільнокраї, завдовжки 15 - 45 мм, шириною 1 - 5 мм, з загорнутими вниз краями; зверху темно-зелені, блискучі; з нижньої сторони покриті густим оранжево-коричневим повстяним опушенням. Стебла циліндричні з оранжево-коричневим повстяним опушенням. Плід - багатонасінні довгаста коробочка 3 - 8 мм довжиною, залізисто-опушена, що розкривається при дозріванні знизу вгору п'ятьма стулками. Запах різкий, специфічний. Смак не визначається.

Шматочки стебел, листя і плодів, що проходять крізь сито з отворами розміром 5 мм. При розгляді подрібненого сировини під лупою (10 ×) або стереомікроскопом (16 ×) повинні бути видні фрагменти листової пластинки з блискучою нерівною поверхнею світло сірого, сірувато-зеленого, темно-зеленого, коричнево-зеленого кольору (Верхня шкіряста сторона) або покриті густим оранжево-коричневим опушенням (нижня сторона); шматочки черешків і циліндричних стебел з оранжево-коричневим повстяним опушенням, іноді розщеплені уздовж зі світло-жовтою пористої серцевиною; окремі світло-жовті і жовті фрагменти серцевини стебел; залізисто-опушені шматочки плода коробочці, окремі фрагменти стулок. Колір зелений, темно-зелений, оранжево-коричневий, сірувато-коричневий. Запах різкий, специфічний. Смак не визначається.

Мікроскопічний огляд цільної та подрібненої сировини. При розгляді листа з поверхні повинні бути видні клітини епідермісу з обох сторін аркуша - дрібні з тонкими або чітко видно потовщеними звивистими стінками, над жилками - з прямими. Устячка тільки на нижній стороні, великі, підняті, з 4-8 клітинами (аномоцїтний тип). Верхня сторона листа покрита товстою кутикулою; волоски зустрічаються рідко. Нижня сторона густо опушена волосками трьох типів: довгі, багатоклітинні, стрічкоподібні, звивисті і перекручені волоски, що складаються з двох рядів клітин, з червонокоричнева вмістом; дрібні одноклітинні волоски з

товстою оболонкою, покритою бородавчастою кутикулою; головчаті волоски на одній багатоклітинній ніжці з багатоклітинною круглою головкою, що містить маслянисті краплі. Ефіроолійні залозки зустрічаються на обох сторонах аркуша, але більше на нижній; вони складаються з великої округло приплюснуті головки, утвореної клітинами двох типів: 6-10 дрібних округлих клітин, розташованих біля основи залізяки, і 10-12 великих майже плоских клітин, що утворюють купол над першими; ніжка коротка дворядна, з кількох дрібних клітин. Мезофіл листа характеризується яскраво вираженою аеренхімою і містить друзи оксалату кальцію, рідше поодинокі призматичні кристали і їх зростки.

### 1.3. Поширення багна звичайного

Виростає в субарктичному і помірному поясах Північної півкулі[3]. Ростає багно у заболочених і сирих соснових, рідше мішаних лісах, на торф'яних болотах. Світлолюбна рослина. Цвіте у травні — червні. В Україні поширений(рис. 1.2.): Полісся, Прикарпаття, Карпати. Районами заготівель є: Волинська, Житомирська та Рівненська області. Запаси сировини значні. Часто утворює суцільні зарості, через осушення болот запаси даної сировини щорічно зменшуються.



Рис. 1.2. Райони поширення багна звичайного в Україні

Розмножуються насінням, живцями, відводками, поділом кущів і кореневими нащадками. Штучне розведення важко: потрібна без вапняний ґрунт, а насіння слід висівати відразу після збору в торф'янистої або піщаний ґрунт.

#### **1.4. Біологічна активність багна звичайного**

Всі надземні частини рослини містять ефірну олію, але найбільша його кількість (7%) накопичується в листках поточного року. Ефірна олія має густу консистенцію, зеленуватий колір і сильний дурманний запах, на холоді випадає в осад (стеароптен). До складу ефірної олії багна входять мирцен, цимол, геранілацетат (ациклічні монотерпени), ледол, палюстрол (трициклічні сесквітерпени, що становлять 60-70% від усіх ефірних масел), арбутин, дубильні речовини, флавоноїди.

У всіх частинах багна, крім коренів, міститься ефірна олія: в листі першого року 1,5-7,5%, другого року - 0,25-1,4%; в гілках першого року - 0,7-1,5%, другого року - від слідів до 0,2%; в кольорах - 2,3% і в плодах - до 0,17% [2, 3, 9].

Надземна частина містить:

- макроелементи (мг / г) - К - 4,2, Са - 6,1, Mg - 2,0, Fe - 0,45;
- мікроелементи (мкг / г) - Mn - 0,54, Cu - 0,05, Zn - 0,06, Co - 0,02, V - 0,25, Cr - 0,08, Al - 0,37, Ba - 0,98, Se - 3,6, Ni - 0,27, Sr - 0,04, Pb - 0,04, I - 0,15, B - 4,6; концентрує Mn, особливо Se [2].

Крім ефірної олії, в листі багна містяться глікозид еріколін (арбутин) і дубильні речовини [2].

Трава багна болотного має фітонцидною активністю [20], а ефірне масло - сильним протистоїдним дією [21]. Фітонциди багна звичайного активні щодо золотистого стафілокока і кишкової палички [22].

Основні компоненти досліджуваного ефірного масла, концентрацію яких вказані в% щодо цілісного ефірного масла і значення яких вище 0,1%, показані в таблиці 1.1.

Основні компоненти ефірної олії багна болотного [О.Ю. Веретнова, Н.А. Поляков,  
А.А. Ефремов, 2007]

№	Компонент	Концентрація, %	№	Компонент	Концентрація, %
1	3-туйен	0,18	18	цимен-8-ол	1,46
2	$\alpha$ -пінен	0,87	19	$\alpha$ -терпінеол	0,26
3	Камфен	0,18	20	Міртінол	0,61
4	Сабіна	0,79	21	Цитронелол	0,65
5	$\beta$ -пінен	0,91	22	Терпенілацетат	41,05
				т	
6	$\beta$ -мирцен	0,27	23	Гераніол	1,67
7	$\alpha$ -терпінен	9,77	24	Карвенон-оксид	0,88
8	P-цімол	17,11	25	борнілацетат	1,17
9	Лимонен	0,46	26	Терпінол -4-ацетат	0,32
10	$\beta$ -Філандрі	0,46	27	Карвакрол	0,29
11	Транс- $\beta$ -оцімен	0,26	28	Ледол	7,40
12	$\gamma$ -терпінен	1,86	29	Геранілацетат	0,33
13	Терпінолін	0,95	30	Аромадендрін	0,49
14	Ліналоол	0,27	31	$\Delta$ -кадинен	0,43
15	Транс-пінокарвіол	0,65	32	Гермакрін-В	0,49
16	Борнеол	1,03	33	$\beta$ -оплопенон	0,41
17	Терпінеол-4	1,90	34	Гермакрен	2,11

## 1.5. Властивості БАР багна звичайного на організм

Застосування настою пагонів багна ефективно в як антисептичний, відхаркувальний, протизапальний засіб при кашлюку, гострому і хронічному бронхіті, а також зовнішньо у дерматології - при бешиховому запаленні шкіри, гнійничковому алергічному захворюванні, мікробної екземи, псоріазі. З ефірної олії пагонів багна отримують ЛЗ Ледин. Відхаркувальний, протикашльовий, дезінфікуючий.

Багно звичайне має великі можливості застосування в медицині. У ньому міститься цілий комплекс біологічно активних сполук: дубильні речовини, кумарини, флавоноїди, феноли, фенолокислоти, катехіни, мікроелементи, аскорбінова кислота, тритерпеноїдів [10]. Однак найбільший інтерес викликають склад і біологічна активність ефірної олії. Багно звичайне має здатність порушувати центральну нервову і серцево-судинну систему, а також показує хороші протипаразитарні властивості. Так, наприклад, ефірне масло багна підсилює діурез, при внутрішньовенно введенні збуджує дихання і знижує кров'яний тиск [11-12]. Така ефірна олія викликає спочатку пригнічення роботи серця жаби, потім відбувається кардіотонічний ефект [13]. Багно звичайне має терапевтичний ефект при лікуванні хронічних легеневих захворювань - бронхітів, бронхіальної астми та ін. [2-3, 14-16].

Протикашльову дію ефірної олії багна пов'язано з наявністю в ефірному маслі левола [16]. Левола володіє також інсектицидною дією [14]. Ефірна олія багна болотного надає згубну дію на найпростіших і черв'яків, що пояснює застосування багна в народній медицині як інсектицидного і антигельмінтного кошти [17-19].

У разі передозування настає пригнічення функцій центральної нервової системи, що виявляється в легкому запамороченні, дратівливості, змінюючись гальмуванням психофізичної активності, а в тяжких випадках - в паралічі попереочно-смугастих і гладких м'язів.

Ефірна олія багна звичайного має виражену антимікробну активність відносно стафілокока, лістерії, сінної і дизентерійної паличок [23]. При гострих запальних

реакціях ефірне масло багна перешкоджає розвитку судинних порушень і пов'язаних з ними ексудативних явищ [24].

З наведених вище даних випливає, що ефірне масло багна болотного містить цінні біологічно активні компоненти і може використовуватися в практиці охорони здоров'я.

## **1.6. Патентний огляд парового виділення ефірної олії багна**

Винахід відноситься до способів отримання ефірних масел з листяних кущів, зокрема з багна, і може бути використано в хімічній, парфумерній, фармацевтичній промисловості і в медичній практиці.

Відомі способи отримання ефірних масел з листяних чагарників, наприклад багна болотного, перегонкою з водяною парою [25]

Недоліками відомого способу в порівнянні з тим, що заявляється є незначний вміст біологічно активних речовин і відсутність кумаринів.

Метою винаходу є отримання ефірної олії багна з підвищеним вмістом біологічно активних речовин: кумаринів, борнілацетата (складних ефірів) та левола (багатоатомних спиртів); розширення асортименту лікарської сировини.

Поставлена мета досягається тим, що відгонку з водяною парою проводять при температурі 120-125°C, тиску 0,11-0,14 МПа протягом 8-9,5 год, використовуючи в якості сировини надземну частину (стебла, листя, квітки) багна болотного і багна підбілу.

Офіційним лікарською рослиною є багно болотний *Ledum palustre L.* Найбільше застосування він знайшов як рослина, що володіє відхаркувальну і протикашльову дію [26]. Розширення асортименту лікарської сировини досягається тим, що в якості сировини для виробництва ефіро масла багна використовують надземну частину багна болотного і багна підбілу. Надземну частину багна завантажують в перегінний чан місткістю 2-4 м<sup>3</sup> і пропускають через неї водяна пара з котла пароутворювач (типу КТ-Ф-300) при температурі 120-125°C і тиску 0,11-0,14 МПа. Проходить пар

витає ефірні масла, що містять біологічно активні речовини, і конденсується в холодильнику, з якого суміш ефірних олій з погонного водою надходить і розділяється на Флорентіно (оліє відокремлювач). У відстійниках ефірне масло-сирець відстоюється протягом 3 діб. З однієї тони сировини виходить 4,5-8,5 кг ефірного масла.

### **1.7. Висновки до розділу**

Отже, проведено літературний огляд та проаналізовано:

1. Розглянуто морфологічний опис багна звичайного. Багно представлений чагарниками і кустарничками з вічнозеленими, черговість, суцільнокрайнім, шкірястими, часто з загорнутим краєм, листям. Листя і гілки багна (а особливо квітки, пилок і насіння) видають різкий, специфічний одурманюючий запах, що пояснюється вмістом в рослині ефірної олії складного складу. Квітки білі, в зонтикоподібних або щитоподібних суцвіттях на кінцях торішніх пагонів.

2. Дана лікарська сировина росте у заболочених і сирих соснових, рідше мішаних лісах, на торф'яних болотах. В Україні набула поширення на Поліссі, Прикарпатті, Карпатах. Часто утворює суцільні зарості.

3. Визначено, що у всіх частинах багна, крім коренів, міститься ефірна олія. А саме, всі - надземні частини - рослини містять ефірну олію, найбільше накопичується в листках. Ефірна олія має густу консистенцію, зеленуватий колір і сильний дурманний запах, на холоді випадає в осад (стеароптен). До складу ефірної олії багна входять біологічно активні речовини: мирцен, цимол, геранілацетат (ациклічні монотерпени), ледол, палюстрол (трициклічні сесквітерпени, що становлять 60-70% від усіх ефірних масел), арбутин, дубильні речовини, флавоноїди.

4. У ході хімічного аналізу визначено також і вплив на організм. Біологічно активні речовини, що містяться в сировині багна звичайного, використовується у медицині як протикашльові та відхаркувальні препарати, має протипаразитарні властивості, знижує кров'яний тиск, пригнічує роботу центральної нервової системи



та може викликати порушення у її роботі. Зазвичай, використовується ефірна олія яка має виражену протимікробну властивість.

5.В результаті патентного пошуку було знайдено виробництво ефірної олії з багна звичайного. Виділення відбувається паровою дистиляцією при температурі 120-125°C, тиску 0,11-0,14 МПа протягом 8-9,5 год, використовуючи в якості сировини надземну частину (стебла, листя, квітки) багна болотного(звичайного). Обумовлено воно тим, що при такій переробці ЛС вдається отримати ефірну олію з високим вмістом БАР: кумаринів, борнілацетата (складних ефірів) та левола (багатоатомних спиртів).

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИКИ

#### 2.1. Хроматографія

Хроматографією прийнято називати метод заснований на розділенні і аналізу сумішей речовин, вивчення їх фізико-хімічних властивостей речовин. Виникає при розподілі двох фаз - нерухою (тверда фаза або рідина) з рухою (газова або рідка фаза, елюент).

Класифікують та розрізняють:

- середовищем розділення (газова і рідинна);
- механізмом розділення (молекулярна, йонообмінна, осадова і розподільча);
- за технікою проведення розділення (колонкова, капілярна, тонкошарова і хроматографія на папері, HPLC (ВЕРХ, ВисокоЕфективна Рідинна Хроматографія).

Хроматографічний аналіз[27] досі широко використовується, наприклад, для аналізу корисних копалин, при дослідженні гірських порід та мінералів, у біотехнологічній та хімічній промисловостях – очищення та опріснення води. Де далі охарактеризовується отриманий результат за отриманою хроматограмою. Хроматограма – зображена зона розподілу компонентів досліджуваної суміші.

Сприймати спрощену картину при хроматографії можна як в ході безперервного врівноваження в процесу поділу. У секції колонки відбувається встановлення рівноваги між речовиною – рухою та нерухою фаз. Воно описується константою розподілу  $K$ , що характерне для даного типу речовини.

Так частина речовини рухою фази переміщується потоком до наступної секції колонки, знову відбувається врівноваження фаз. Це дуже спрощена модель для сприйняття. Ми можемо зрозуміти, що розподіл речовини по секціях колонки

відповідає нормальному розподілу і ідеальний пік на хроматограмі має форму Функція Гауса [28].

### 2.1.1. Паперова хроматографія

Паперова хроматографія – один з видів хроматографії, де носій нерухомої рідкої фази – папір(рис.1). Використовується для аналізу сумішей речовин, їх аналізу. Відкрито в 1944 році Констоном, Гордоном, Мартіном і Сингом [29]. Вони використовували його для аналізу сумішей амінокислот. Було надано Нобелівську премію за відкриття хроматографії розподілення Мартіну та Сінгу. Даний метод швидко поширився, це дало поштовх для науки та вже через 10 років її витіснив тонкошаровий метод хроматографії.

Для розділення носієм нерухомої фази у ПХ – є целюлоза у складі паперу, вона містить значну кількість води зв'язаної води. Саме між зв'язаною водою і розчинником відбувається розділення, також присутні адсорбційні ефекти. Використовується модифікований папір для такої хроматографії. Також може використовуватись папір зі скловолокна(через стійкість до корозійно-активним реагентів, бо має низьку адсорбційну здатність).

Відомо один спосіб з ранніх модифікувань паперу для паперової хроматографії – ацетилювання.

Речовини розрізняють за їх відносного положення на папері після проходження розчинника. Так наносять невелику кількість розчину суміші (10-20мкл), що потрібно розділити, у точку на папері і висушують – отримується так званий «старт».

Наступним етапом є поміщення паперу у герметичну камеру, де один з кінців занурюється в розчинник – рухому фазу. Діють капілярні сили, розчинник рухається вздовж паперу, розчиняє та захоплює певні компоненти досліджуваного зразка.

Ефективність розділення визначається швидкістю розчинення компонентів у рухомій фазі, що повинні у зразку розчинитись до початку руху. Лист виймають після того, як розчинник пройде певну відстань, утворюються плями – видимі чи невидимі,

що виявляють та визначають. Ставиться позначка  $R_f$  – відстань пройдена плямою до відстані пройденої розчинником.

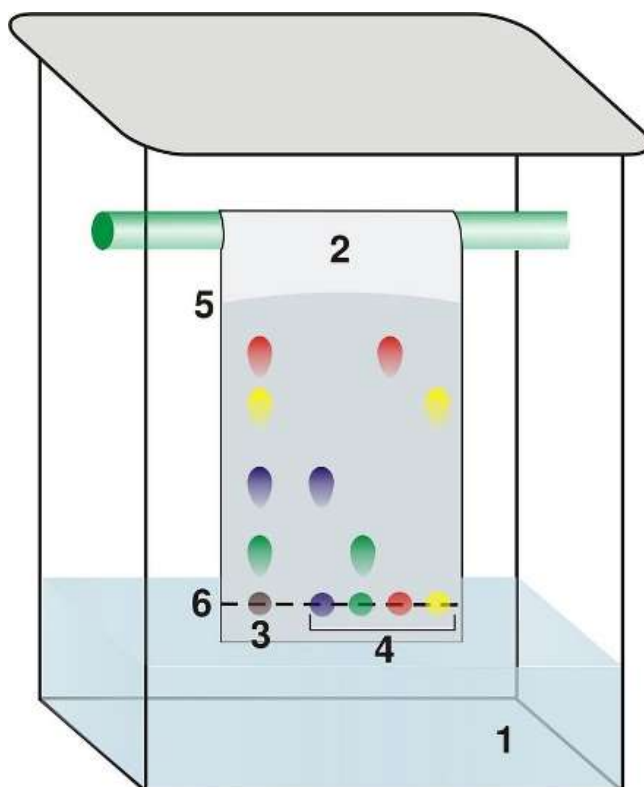


Рис. 2.1. Паперова хроматографія: 1 - розчинник, 2 - папір, 3 - зразок досліджуваної суміші, 4 - зразки потенційних компонентів, 5 - капілярний просування розчинника, 6 - стартова лінія для зразків

Вона може залежити від паперу, розчинника, речовини. Важливу роль відіграє і забруднення, поганий контакт паперу в місці прилягання зі стінкою та призводитиме до неоднорідного переміщення з утворенням хибних смуг.

Швидкісна ПХ, запропонована Буш і Кроушоу, передбачає використання вузьких камер з горизонтальною хроматографією, де відбуватиметься насичення парою розчинника, це забезпечить попереднє просочування паперу нерухомої фази (водної).

Для фітохімічного дослідження продуктів комплексної переробки пагонів багна болотного, створення на їх основі нового лікарського засобу, може бути використання паперової хроматографії. Об'єктом дослідження є сухий екстракт, отриманий з пагонів багна після виділення ефірного масла.

Приготування: 30 г пагонів *Ledum palustre*, поміщають в колбу місткістю 1000 мл і заливали 400 мл води очищеної. Ефірна олію отримували за методикою Державної фармакопеї СРСР XI видання, час перегонки до 4 годин [30, 31]. Водний екстракт, що залишився після отримання ефірної олії, фільтрують і встановлюють його обсяг.

До шроту, що залишився після отримання ефіру додавали 400 мл 50% спирту етилового з урахуванням води очищеної, що залишилася в шроті пагонів багна звичайного після отримання ефірної олії. Екстракцію проводили протягом доби, після чого екстракт фільтрували і встановлювали його обсяг. Отриманий водний екстракт і спиртовий екстракт об'єднують і упарюють у сушильній шафі до сухого екстракту. З отриманого екстракту готують 1% спиртовий розчин (спирт етиловий 50%), який і використовували для подальшого аналізу.

Ідентифікацію похідних гідроксикоричні кислоти, флавоноїдів і поліфенольних з'єднань проводили паперової хроматографією і якісними реакціями.

Флавоноїди. Після обробки двомірної хроматограми парами аміаку і 2% спиртовим розчином алюмінію хлориду плями агліканів набували яскраво-жовту флуоресценцію, темно-коричневі плями ставали жовто-зеленими, що характерно для флавоноїдних глікозидів. Для встановлення природи їх агліконів проводили кислотний гідроліз глікозидів 8% соляної кислотою і хроматографували з достовірними зразками агліканів флавоноїдів з подальшою обробкою хроматограми парами аміаку і розчином алюмінію хлориду [31,34]. Похідні гідроксикоричні кислоти. Розчин сухого екстракту хроматографували з достовірним зразками похідних гідроксикоричні кислоти в системах: - н-бутанол – кислота оцтова - вода (4: 1: 2) - 15% кислота оцтова з подальшою обробкою парами аміаку і diazoreактивом [35].

Поліфенольні сполуки. В результаті хроматографічного вивчення спиртового екстракту і продуктів його гідролізу (5% сірчаною кислотою) за допомогою паперової хроматографії (ПХ) в системах: - н-бутанол- кислота оцтова-вода (4: 1: 2), - 5%, -

30% і V - 60% кислота оцтова з використанням 1% спиртового розчину заліза хлориду, як хромогенного реактиву[36].

### 2.1.2. Тонкошарова хроматографія

Тонкошарова хроматографія полягає у використанні в якості нерухокої фази тонкого шару адсорбенту[37,38]. Речовини розподіляються між сорбуючим шаром та елюентом (розчинник) розділяються по-різному, тому відстань протікання різниться. Через велике варювання сорбенту і елюенту використання тонкошарової хроматографії відкриває великі можливості. Комерційно доступний ряд пластинок з різними сорбентами за рахунок чого швидке і рутинне використання методу. Як нерухома фаза використовується силікагель, оксид алюмінію, кізельгур, целюлоза, поліамідні матеріали, йонообмінні синтетичні смоли, мінерально-органічні йоніти, як рухома фаза — органічні розчинники (напр., спирти, кетони, феноли, їх суміші)[39].

Тонкошарова хроматографія використовується у фармацевтичній, медичній, харчовій сферах, а також в академічній і промислової науці. Відкриття припало у 1889 році, та прогресивно розвинена у ХХ століття та до сьогодення.

Тонкошарова хроматографія із сировини багна звичайного відбувається наступним чином: розчин стандартного зразків (СО) тимолу і ментолу. 5 мг тимолу і 10 мг ментолу розчиняють в 10 мл спирту 96% при перемішуванні. Термін придатності розчину не більше 3 міс при зберіганні в прохолодному, захищеному від світла місці.

Випробуваний розчин. До 20 мкл масла, отриманого при кількісному визначенні, додають 1 мл толуолу.

На лінію старту високоефективної хроматографічної пластинки із шаром силікагелю на алюмінієвій підкладці розміром 10 × 10 см наносять смугами 15 мкл випробуваного розчину і 20 мкл розчину СО тимолу і ментолу. Платівку з нанесеними пробами сушать при кімнатній температурі, поміщають в камеру з сумішню розчинників етилацетат - толуол (5:95), і хроматографірують висхідним способом.

коли фронт розчинників пройде близько 80 - 90% довжини пластинки від лінії старту, її виймають з камери, сушать до видалення слідів розчинників, обробляють анісовою альдегідом розчином спиртовим сірчаноокислим, витримують при температурі від 100 - 105 ° С протягом 5 - 10 хв і переглядають при денному світлі[40].

На хроматограмі розчину СО тимолу й ментолу повинна виявитися зона адсорбції синього кольору (ментол) в нижній частині і зона адсорбції рожевого кольору (тимол).

На хроматограмі випробуваного розчину повинні виявлятися[40,41]: зона адсорбції від фіолетового до червонувато-фіолетового кольору трохи вище рівня зони адсорбції ментолу на хроматограмі розчину СО тимолу й ментолу (ледол), а також зона від фіолетового до червонувато- фіолетового кольору трохи вище зони адсорбції тимолу на хроматограмі розчину СО тимолу й ментолу (пальоустрол); допускається виявлення інших зон адсорбції.

Близько 2,0 г подрібненої сировини, що проходять крізь сито з отворами розміром 2 мм, поміщають в колбу місткістю 100 мл, додають 20 мл спирту 70% і нагрівають на водяній бані із зворотним холодильником протягом 10 хв. Потім екстракт охолоджують і фільтрують (випробуваний розчин).

А) 1 мл випробуваного розчину поміщають в пробірку, додають цинку порошок і 5 - 7 крапель хлористоводневої кислоти концентрованої, перемішують; має спостерігатися слабо-рожеве фарбування, яке стає інтенсивніше при нагріванні (флавоноїди);

Б) До 1 мл випробуваного розчину додають 2 краплі заліза (III) амонію сульфату розчину; має спостерігатися чорно-зелене фарбування (дубильні речовини).

Далі проводиться випробування і сировина повинна відповідати таким референтним значенням:

Вологість. Незбиране сировину, подрібнену сировину - не більше 14%.

Зола загальна. Незбиране сировину, подрібнену сировину - не більше 4%.

Зола, нерозчинна в хлористоводневій кислоті. Незбиране сировину, подрібнену сировину - не більше 1%;

Подрібненість сировини. Подрібнене сировину - частинок, що не проходять крізь сито з отворами розміром 5 мм, - не більше 5%; частинок, проходять крізь сито з отворами розміром 0,5 мм, - не більше 5%.

Сторонні домішки: стебла сірувато-коричневі. Незбиране сировину - не більше 10%. Шматочки стебел сірувато-коричневих. Подрібнене сировину – не більше 10%.

Органічна домішка. Незбиране сировину, подрібнену сировину - не більше 1%.

Мінеральна домішка. Незбиране сировину, подрібнену сировину - не більше 0,5%.

Важкі метали. Відповідно до вимог ОФС «Визначення вмісту важких металів і миш'яку в лікарському рослинній сировині та лікарських рослинних препаратах ».

Радіонукліди. Відповідно до вимог ОФС «Визначення вмісту радіонуклідів в лікарській рослинній сировині та лікарських рослинних препаратах ».

Залишкові кількості пестицидів. У відповідності до вимог ОФС «Визначення змісту залишкових пестицидів в лікарському рослинній сировині та лікарських рослинних препаратах ».

Мікробіологічна чистота. Відповідно до вимог ОФС «Мікробіологічна чистота».

Кількісне визначення. Незбиране сировину, подрібнена сировина: ефірної олії - не менше 0,1%.

Ефірна олія. Відповідно до вимог ОФС «Визначення змісту ефірної олії в лікарській рослинній сировині та лікарських рослинних препаратах »(метод 2, навішування 30,0 г сировини, подрібненого до величини частинок, розміром 1 - 3 см, час перегонки 4 ч, після перегонки охолодження холодильника припиняють з тим, щоб кристалізувалась частина ефірного масла на стінках холодильника розплавилася і опустилася в приймач).

Упаковка, маркування та транспортування. Відповідно до вимогами ОФС «Упаковка, маркування та транспортування лікарської рослинної сировини і лікарських рослинних препаратів ».



Зберігання. Відповідно до вимог ОФС «Зберігання лікарської рослинної сировини і лікарських рослинних препаратів».

## 2.2. Спектрофотометричний метод та екстрагування

Спектрометрія, вона ж мас-спектроскопія, мас-спектрографія, мас-спектральний аналіз, мас-спектрометричний аналіз. Метод полягає у дослідженні, ідентифікації речовин з визначенням їх концентрації, різних компонентів - ізотопний, елементний або хімічний склад[42]. На основі іонізація компонентів, фізично розрізняються компоненти, характеризуються їх відношення маси до заряду. А також, з виміром інтенсивності іонного струму, розраховуються частки кожного з компонентів.

Дослідження хімічного складу дає можливість розуміти властивості компонентів речовин, через що, спектрометрія набула попиту серед біотехнології, хімії та медицини. Кількісне визначення похідних гідроксикоричні кислоти, флавоноїдів і поліфенольних сполук проводили спектрофотометричним методом(рис.2.2) [31].

Зміст похідних гідроксикоричні кислоти визначали в перерахунку на хлорогенову кислоту при 327 нм. Розчином порівняння служив 20% спирт етиловий [35]. Зміст суми флавоноїдів визначали спектрофотометричним методом в перерахунку на рутин при довжині хвилі 417 нм, після утворення комплексу  $AlCl_3$ . Розчином порівняння служив розчин, що містить екстракт без  $AlCl_3$ . Перед вимірюванням оптичної щільності розчини фільтрували через паперовий фільтр [31,34].

Зміст суми поліфенольних сполук визначали спектрофотометричним методом в перерахунку на галову кислоту. Вимірювання проводили при 270 нм. Як розчин порівняння використовували 40% спирт етиловий [36].

Протизапальну активність сухого екстракту з пагонів багна звичайного вивчали в дослідах на білих мишах масою 18 - 23 г на моделі формалінового запалення.



Рис. 2.2. Спектрометр «Shimadzu»

Досвідчені тварини були поділені на три групи: контрольна група; група, яку лікували екстрактом з пагонів багна болотного і група лікувальним препаратом порівняння. Ступінь протизапальної активності екстракту оцінювали по антиексудативному ефекту [32,33].

Для відтворення гострого асептичного ексудативного запалення використовували як флогогена 2% розчин формаліну, який вводили субплантарно в кількості 0,05 мл через 1 годину після перорального введення досліджуваного екстракту з багна болотного, препарату порівняння Вольтарена і в контрольній групі - води. Активність досліджуваних препаратів вивчали по їх здатності зменшувати розвиток набряку в порівнянні з контролем [32,33].

Для дослідження було взято листя, квітки, коріння, здеревілі і пагони абагна болотного (*Ledum palustre L.*, сім. *Ericaceae*). Спектро-, фотометричні методики кількісного визначення арбутина, суми флавоноїдів і гідроксикоричних кислот вивчали умови екстракції цих груп з'єднань з сировини (ступінь подрібнення сировини, концентрація етанолу, співвідношення сировина-екстрагент, час і кратність екстракції), спектральні і фотометричні характеристики стандартних

зразків арбутина, хлорогенова кислоти і гіперозиду. Відомо, що на результати кількісного визначення різних фармакологічно активних речовин в фітосировині впливають екстрагент, співвідношення сировини і екстрагента, ступінь мелення сировини, умови екстракції.

Важливе значення під час добування лікарської рослинної сировини має ступінь його подрібнення (табл.2.1.) [46].

Таблиця 2.1

Вміст фенольних сполук в пагонах багна в залежності від ступеня їх подрібнення [Хотетовская Ж.В., Солодков А.П., Тихонова Л.В., Бузук Г.Н., Карусевич А.А.,2000]

Ступінь помолу	Вміст, %		
	флавоноїди	арбутин	гідроксичні кислоти
цільне	0,806±0,006	3,628±0,033	1,810±0,020
5мм	0,866±0,006	3,486±0,031	1,788±0,014
3мм	0,982±0,007	3,953±0,028	2,098±0,015
2мм	1,051±0,009	4,158±0,033	2,055±0,020
1мм	1,223±0,006	4,070±0,028	2,213±0,019
кавомолка	0,875±0,007	4,068±0,028	2,164±0,013

Виходячи з даних, наведених у таблиці 2.1, слід, що максимальний вміст флавоноїдів і гідроксикоричних кислот спостерігалось в сировину, що проходить через сито діаметром 1 мм; арбутина - в зразках, проходять через сито діаметром 2 мм. У результати кількісного визначення фенольних сполук у пагонах багна, в залежності від співвідношення (1:10, 1:20, 1:30, 1:50, 1:100) сировини до екстрагенту, відображені дані в таблиці 2.2 [45-46].

На підставі даних, представлених в табл. 3, видно, що максимальний вихід фенольних сполук спостерігався при співвідношенні сировини до екстрагенту 1: 100. Широкий аспект досліджень при виборі оптимальної концентрації етилового спирту. З даних, узагальнених в табл.2.3., максимальне вилучення гідроксичних кислот з пагонів багна відбувалося при використанні 70% етилового спирту [44].

Таблиця 2.2

Зміст фенольних сполук в пагонах багна в залежності від співвідношення сировини до екстрагенту [Хотетовская Ж.В., Солодков А.П., Тихонова Л.В., Бузук Г.Н., Карусевич А.А., 2000]

Співвідношення	арбутин	гідрокси.к-та	флавоноїди
1:10	3,511±0,028	1,674±0,017	0,485±0,003
1:20	4,428±0,037	2,075±0,021	0,851±0,006
1:30	4,527±0,031	2,103±0,017	1,009±0,010
1:50	4,961 ±0,029	2,182±0,015	1,288±0,012
1:100	5,489±0,054	2,444±0,019	1,416±0,008

Таблиця 2.3

Вибір оптимальної концентрації спирту для екстракції суми гідроксичних кислот з пагонів багна [Хотетовская Ж.В., Солодков А.П., Тихонова Л.В., Бузук Г.Н., Карусевич А.А., 2000]

Концентрація спирту, %	Вміст гідроксичних кислот, %
20	1,275±0,015
40	2,146±0,028
50	1,442±0,017
70	2,542±0,024
90	2,369±0,021
96	1,526±0,015

Також наведено другий варіант, де загальний вміст екстрактивних речовин, що витягають із багна болотного різними розчинниками, показано в табл. 2.4. Видно, що найбільша кількість речовин при послідовній екстракції витягується діетиловим ефіром і водою. Для визначення основних класів органічних сполук, що витягають різними екстрагентами, використовували метод електронної спектроскопії в ультрафіолетовій і видимій областях.

На підставі отриманих даних і атласів електронних спектрів [43-45] були зроблені висновки про зміст біологічно активних речовин.

Таблиця 2.4

Кількісний склад екстрактивних речовин трави багна болотного [Хотетовская Ж.В., Солодков А.П., Тихонова Л.В., Бузук Г.Н., Карусевич А.А., 2000]

Екстрагент	Зміст екстрактивних речовин, %	
	послідовна екстракція	вичерпна екстракція
Діетиловий ефір	16,98 ± 0,8	16,97 ± 0,8
Етилацетат	6,07 ± 0,5	13,46 ± 0,9
Пропанол-2	0,67 ± 0,3	18,09 ± 0,4
Вода	18,16±0,6	21,49±0,5
Всього	41,88	

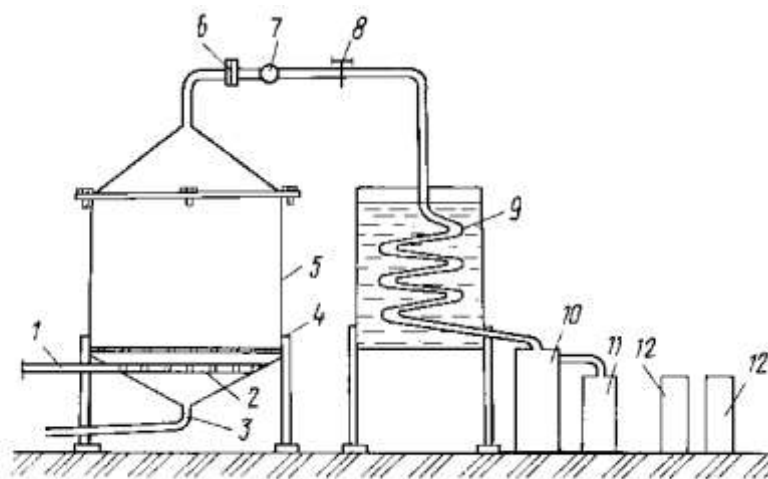
В електронних спектрах діетилефірного екстракту багна болотного міститься велика кількість смуг поглинання, в числі яких смуга 265 нм, що відповідає простим фенолу, смуга при 310 нм, що свідчить про наявність кумаринів, оксибензойних кислот і флавонів, дві смуги 405 і 403 нм і додатковий максимум при 450 нм підтверджують присутність Аурон, на наявність в досліджуваному зразку антоціанів вказує триплет на 502, 532 і 560 нм, а хлорофіл ідентифікується, як відомо, смугою 665 нм і плечем при 610 нм. Спектри етилацетатних екстрактів багна мають смуги поглинання 267 і 284 нм з додатковими максимумами 360 і 320 нм відповідно, належать флавонони і флавонолів. Смуги 405, 430 і 450 нм показують присутність Аурон, при послідовній екстракції такий набір смуг поглинання відсутня, це говорить про те, що аурони були витягнуті попереднім розчинником, тобто діетиловим ефіром.

Також присутні смуги, що підтверджують наявність антоціанів (532 і 505 нм) і хлорофілу (665, 650 і 605 нм).

### 2.3. Екстракція ефірної олії водяною парою

Задля збереження та одержання ефірної олії з багна у складі якого підвищений вміст біологічно активних речовин, таких як: кумаринів, борнілацетата (складних ефірів) та левола (багатоатомних спиртів), використовують технологію екстракції водяною парою[25].

Так відгонку з водяною парою(рис.2.3.) проводять при температурі 120-125°C, тиску 0,11-0,14 МПа протягом 8-9,5 год, використовуючи в якості сировини надземну частину багна болотного і багна підбілу[25]. Таку сировину використовують через те, що у надземній частині найбільша концентрація БАР, особливо у квітках та листі. Для екстракції сировину обирають цьогорічну та минулорічну, однак, за лабораторними дослідженнями при порівнянні виявлено, що у складі цьогорічної сировини на 60% більший вміст БАР аніж у минулорічній.



Р

1-паропровід, 2-розпилювач пари, 3-труба для зливу конденсату,  
4-решітка, 5-перегонний чан, 6-фланцеве з'єднання, 7-манометр, 8-кран, 9-  
холодильник, 10-неперервний відстійник, 11 - приймач олії,  
12-відстійники

Офіційним лікарською рослиною є багно болотний *Ledum palustre L.* Найбільше застосування він знайшов як рослина, що володіє відхаркувальну і протикашльову дію[26]. Розширення асортименту лікарської сировини досягається тим, що в якості сировини для виробництва ефіро масла багна використовують надземну частину багна болотного і багна підбілу.

Надземну частину багна завантажують в перегінний чан місткістю 2-4 м<sup>3</sup> і пропускають через неї водяна пара з котла пароутворювач (типу КТ-Ф-300) при температурі 120-125оС і тиску 0,11-0,14 МПа. Проходить пар витягує ефірні масла, що містять біологічно активні речовини, і конденсується в холодильнику, з якого суміш ефірних олій з погонного водою надходить і розділяється на Флорентіно (оліє відокремлювач). У відстійниках ефірне масло-сирець відстоюється протягом 3 діб. З однієї тони сировини виходить 4,5-8,5 кг ефірної олії.

## **2.4. Висновки до розділу**

1.Хроматографією прийнято називати метод заснований на розділення і аналізу сумішей речовин, вивчення їх фізико-хімічних властивостей речовин. Хроматографічний аналіз [27] досі широко використовується, наприклад, для аналізу корисних копалин, при дослідженні гірських порід та мінералів, у біотехнологічній та хімічній промисловостях – очищення та опріснення води.

2.Спектрометрія, вона ж мас-спектроскопія, мас-спектрографія, мас-спектральний аналіз, мас-спектрометричний аналіз. Метод полягає у дослідженні, ідентифікації речовин з визначенням їх концентрації, різних компонентів - ізотопний, елементний або хімічний склад[42]. Дослідження хімічного складу дає можливість розуміти властивості компонентів речовин, через що, спектрометрія набула пошуків серед біотехнології, хімії та медицини.

3.Отже, екстракція ефірної олії багна звичайного використовують водяну пару. Для парової екстракції використовуються надземну частину та обробляється парою при 120- 125С. З 1 тони можна отримати до 8,5 кг ефірної олії.

## РОЗДІЛ 3

### АНАЛІЗ ВПЛИВУ НА БІОЛОГІЧНІ ОБ'ЄКТИ

#### 3.1. Вплив на мікроорганізми

Препарати рослинного походження все частіше використовуються в якості лікарських засобів, наприклад, при лікуванні урологами. Характеризується це широким розповсюдженням стійких форм штамів мікроорганізмів до ліків, через пристосування та зміну імунної відповіді людини. Однією з головних переваг використання рослинної сировини у якості ліків, варто зазначити відносну нешкідливість до організму людини у тій концентрації, що пригнічує шкідливі мікроорганізми.

Широкого застосування серед урологічних захворювань мають лікарські препарати з арбутином. Найбільш концентрованими є: багно, мучниця, брусниця, зимолобка і інші. Відомо, що ці рослини мають досить вираженими сечогінними, протизапальними, антиоксидантними, антибактеріальними властивостями [47-49].

Саме у надземній частині багна звичайного арбутин входить до складу виділених БАР. Антимікробні властивості даних рослин часто пов'язують з гідролізом арбутина до гідрохінону [50]. Антимікробну активність вивчали на музейних стандартних штамів (*Escherichia coli.*, *Klebsiela*, *Proteus mirabilis*) виділених від хворого на хронічний пієлонефрит та хронічний цистит. Для поживного середовища використовувався МПБ. У пробірках, що містять по 5 мл середовища, розчиняли стандартний зразок арбутина в кількості, необхідній для створення концентрацій 37, 70, 100 ммоль / л, і хімічно чистий гідрохінон в тих же концентраціях. До цих пробірок стерильною піпеткою вносили по 0,2 мл культури за стандартом мутності Мак Фарланда 1,0, що керується за допомогою терморегулятора при температурі 35 ° С. Час експозиції складало 10 год. виміром оптичної щільності



розчинів кожні 2 год., а потім через добу термостатування. Оптичну щільність вимірювали на приладі Densi La Meter. Для контрольного зразку - 5 мл середовища, з вмістом 0,2 мл відповідної культури. Відбулося потемніння середовища при розчиненні гідрохоніна. Тому для гідрохоніна, в якості контролю, використали розчини концентрації: 37, 70 і 100 ммоль / л.

Результати дослідження. Арбутин у концентрації 100 ммоль / л в деякій мірі стримує ріст *E. coli*. З четвертої години експозиції розмноження кишкової палички зменшувалася в порівнянні з контролем на 30%, до шостої години ця різниця знизилася до 17 % і залишалася такою до кінця експерименту.

Також спостерігалася тенденція до придушення розмноження *Proteus mirabilis* у всіх трьох концентраціях арбутина. Найбільш вираженою була у концентрації речовини 100 ммоль / л., де затримка росту починалась з 4 години та 29 у порівнянні з контролем, а з шостої години і до закінчення експерименту різниця була у 20%.

На зростання *Klebsiela* арбутин протягом 10 год. не пригнічував, до кінця доби навіть був ріст бактерій у середовищі з арбутином (на 17%).

На розмноження *E. coli*, виділеної від хворого на хронічний пієлонефрит, розчини арбутина також не впливали, а у зразках від хворого на хронічний цистит, в середовищі з вмістом арбутину, спостерігали активне розмноження з виділенням бульбашок газу і рясною піною при збовтуванні.

При розчиненні гідрохоніна в середовищі спостерігалася її потемніння, а це викликає збільшення показань оптичної щільності розчинів. Тому для гідрохоніна були взяті окремі контролю, в якості яких використовували гідрохонон, розчинений в середовищі в тих же концентраціях, що і в дослідних пробірках. Також, відбувалось потемніння у зразках з гідрохоніном в процесі термостатування через дію температури і кисню повітря.

При порівнянні антимікробного ефекту арбутина і гідрохонону виявлені значні відмінності їх дії. Встановлено, що найвищі досліджувані дози арбутина незначно затримують розмноження стандартних штамів *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiela*.

Арбутин є глікозидом і здатний при впливі деяких бактеріальних ферментів розкладатися до гідрохінону і глюкози. В літературі наводяться відомості про виражену антибактеріальну активність гідрохінона [51]. Так, виділяючись при гідролізі арбутина, чинив протизапальну дію на досліджувані штами *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiela*. Та деякі досліджувані штами *E. coli*, *Klebsiela* ймовірно, не виділяють ферментів, здатних гідролізувати арбутин до гідрохінона. Однак штам *E. coli*, що був виділений від хворого на хронічний цистит, розкладає арбутин і активно використовує виділену глюкозу як джерело живлення, - про це свідчить збільшений процес розмноження даного штаму, а й виділення бульбашок газу і піни.

Таким чином, арбутин, з одного боку, може проявляти антимікробну активність за рахунок виділення гідрохінону, а з іншого боку, сприяти зростанню бактерій за рахунок виділення глюкози.

Дослідження антимікробного ефекту гідрохінона показало високу його активність щодо всіх досліджуваних грамнегативних мікроорганізмів [51]. Оскільки розчини гідрохінона зупиняли зростання і розмноження не тільки стандартних, але і клінічних штамів. Ця дія гідрохінону обумовлено його структурою. Гідрохінон є фенолом і надає токсичний ефект на живі клітини, в тому числі і бактеріальні [52]. Окислюючись він перетворюється у бензохінон, який, може мати пригнічувану дію на мікроорганізми.

### **3.2. Вплив на функціональний стан бронхолегеневого дерева**

Проблема вибору препаратів для лікування кашлю є актуальною завжди. Зважаючи на поширення захворювання дихальних шляхів, небезпеки пов'язаної з наслідками самолікуванням, що, на жаль, характерне для нашого населення, з проявами кашлю. Кашель - складна рефлекторно-захисна дія, націлена на очищення дихальних шляхів від сторонніх часток, мокротиння [57].

Роздратування кашльового центру в довгастому мозку або слизової оболонки респіраторного тракту викликає мимовільний кашель, цей кашель

характерний при багатьох захворюваннях органів дихання [57]. Безліч захворювань, одним із симптомів якого є сухий кашель: застуда на ранніх стадіях, ларингіт, трахеїт, плеврит, пневмонія, бронхіт, коклюш, несправжній круп, кір, туберкульоз, пухлини, алергія, бронхіальна астма, паразитарні інвазії, рефлюксна хвороба, професійний кашель, медикаменти, серцево-судинні захворювання, потрапляння сторонніх предметів в дихальні шляхи, куріння. Протикашльові засоби застосовують в тих випадках, коли реакція для організму не обумовлена необхідністю видалення секрету (мокротиння) з дихальних шляхів (сухий кашель). Протикашльові при сильному вологому кашлі не застосовуються тому може розвинути набряк легенів [57].

Біологічно активні речовини з багна звичайного мають відхаркувальну і протикашльову дію, розширюють бронхи [53]. Також притаманна антисептична, седативна та сечогінна дії та знижує тиск. Встановлено, що препарати багна розширюють судини, знижують кров'яний тиск, що виявилось корисним гіпертонікам з легкою формою захворювання. Відхаркувальна дія обумовлена наявністю у засобах летких компонентів ефірної олії багна: палюстрол, ледол [54,55]. Помірно виділяючись через бронхи діють на слизові оболонки, подразнюючи їх, внаслідок підсилюється секреція бронхіальних залоз і підвищують активність миготливого епітелію дихальних шляхів. Рослинна сировина багно звичайного спазмолізує на гладкій мускулатурі бронхів, діє протизапально [55].

Дія на центральну нервову систему: спочатку збуджує, а потім паралізує.

У народній медицині відомі різні лікарські форми багна звичайного: відвари, спиртові настої, олії, мазі. ЛРС квітне на початку літа, виділяючи при цьому сильний специфічний запах[56]. Під час цвітіння вже можна розпочинати заготівлю (на початку літа) або ж після повного дозрівання плодів(наприкінці серпня – початок вересня). Для сушіння зрізають молоду надземну частину – пагони з квітками та листям, через високу концентрацію таких БАР як ледол, арбутин. В минулорічних частинах ці БАР знижуються до 40%. Перед сушінням ЛР розкладають на папері під накриттям – при природньому сушінні, а для промислового використанні штучне висушування. При промислового сушінні важливо дотримуватись температурного

режиму, де позначна не повинна перевищувати 40°C. Аромат у висушеної трави багна смолистий та здатний викликати головний біль, непритомність. Після закінчення сушіння пакують у паперові пакети.

Рослинну сировину багна треба зберігати окремо, уникаючи контакту з іншими травами, через токсичність.

У медицині використовується трава багна звичайного (рис. 3.1.) для відхаркувальної дії та як протимікробний препарат при бронхіті, трахеїті, пневмонії, коклюші та туберкульозі.



Рис. 3.1. Лікарський засіб багна звичайного

Антисептичні властивості багна допоможуть у період епідемії грипу. У якості противірусного засобу вживається відвар, закачують у ніс олію або відвар.

### 3.3. Висновки до розділу

1. Оцінено вплив БАР багна звичайного на мікроорганізми. Головними біологічно активними речовинами, що використовуються з багна звичайного, є: арбутин, ледол.

У складі лікарських препаратів містяться визначені дози цих речовин з подальшим використанням. На основі досліджень стало зрозуміло, що арбутин можна використовувати як антисептичний засіб. Для експерименту було узяті декілька штамів *Escherichia coli.*, *Klebsiela*, *Proteus mirabilis*, де арбутин пригнічував ріст одного штаму кишкової палички. Однак, інший штамп *E. coli*, що був виділений від хворого на хронічний цистит, розкладає арбутин і активно використовує виділену глюкозу як джерело живлення, - про це свідчить збільшений процес розмноження даного штаму, а й виділення бульбашок газу і піни.

Таким чином, арбутин, з одного боку, може проявляти антимікробну активність за рахунок виділення гідрохінону, а з іншого боку, сприяти зростанню бактерій за рахунок виділення глюкози. На *Klebsiela*, *Proteus mirabilis* не чинив негативної дії.

2. Охарактеризовано вплив БАР з багна звичайного на функціональний стан бронх легеневого дерева. Ліки на основі таких біологічно активних речовин мають протикашльову дію. Обумовлена вона тим, що помірно виділяючись через бронхи діють на слизові оболонки, подразнюючи їх, внаслідок підсилюється секреція бронхіальних залоз і підвищують активність миготливого епітелію дихальних шляхів.

Відхаркувальна дія обумовлена наявністю у засобах летких компонентів ефірної олії багна: палюстрол, ледол.

## ВИСНОВКИ

Отже, на основі виконаного завдання, можна дати висновки:

1. Багно представлений чагарниками і кустарничками з вічнозеленими, шкірястими, часто із загорнутим краєм, листям. Листя і гілки багна (а особливо квітки, пилок і насіння) видають різкий, специфічний одурманюючий запах, що пояснюється вмістом в рослині ефірної олії складного складу. Квітки білі, в зонтикоподібних або щитоподібних суцвіттях на кінцях торішніх пагонів. Дана лікарська сировина росте у заболочених і сирих соснових, рідше мішаних лісах, на торф'яних болотах. В Україні набула поширення на Поліссі, Прикарпатті, Карпатах. Часто утворює суцільні зарості.

2. Для екстракції ефірної олії багна звичайного використовується водяна пара, а у якості сировини беруть цьогорічну надземну частину (квіти, стебло, листя). Ефірна олія має густу консистенцію, зеленуватий колір і сильний дурманний запах, на холоді випадає в осад (стеароптен). До складу ефірної олії багна входять біологічно активні речовини: мирцен, цімол, геранілацетат (ациклічні монотерпени), ледол, палюстрол (трициклічні сесквітерпени, що становлять 60-70% від усіх ефірних масел), арбутин, дубильні речовини, флавоноїди. При визначенні біологічно активних речовин, їх концентрації, щільності олії у лабораторії проводять хроматографічний та спектрофотометричний аналіз.

3. Біологічні активні речовини багна звичайного, найчастіше, отримують з ефірної олії. Її отримуються шляхом парової екстракції, при температурі 120-125°C, тиску 0,11-0,14 МПа протягом 8-9,5 год, використовуючи в якості сировини надземну частину (стебла, листя, квітки) багна болотного (звичайного). Обумовлено воно тим, що при такій переробці ЛС вдається отримати ефірну олію з високим вмістом БАР: кумаринів, борнілацетата (складних ефірів) та ледола (багатоатомних спиртів). Так з 1 тони лікарської сировини отримують до 8,5 кг олії.

4. Оцінено вплив БАР багна звичайного на біологічні об'єкти. Охарактеризовано вплив на мікроорганізми та організм людини. Головними

біологічно активними речовинами, що використовуються з багна звичайного, є: арбутин, ледел. У складі лікарських препаратів містяться визначені дози цих речовин з подальшим використанням. На основі досліджень стало зрозуміло, що арбутин можна використовувати як антисептичний засіб. Для експерименту було узят декілька штамів *Escherichia coli.*, *Klebsiela*, *Proteus mirabilis*, де арбутин пригнічував ріст одного штаму кишкової палички. Однак, інший штамп *E. coli*, що був виділений від хворого на хронічний цистит, розкладає арбутин і активно використовує виділену глюкозу як джерело живлення, - про це свідчить збільшений процес розмноження даного штаму, а й виділення бульбашок газу і піни. Таким чином, арбутин, з одного боку, може проявляти антимікробну активність за рахунок виділення гідрохінону, а з іншого боку, сприяти зростанню бактерій за рахунок виділення глюкози. На *Klebsiela*, *Proteus mirabilis* не чинив негативної дії. На функціональний стан бронх легеневого дерева. Ліки на основі таких біологічно активних речовин мають протикашльову дію. Обумовлена вона тим, що помірно виділяючись через бронхи діють на слизові оболонки, подразнюючи їх, внаслідок підсилюється секреція бронхіальних залоз і підвищують активність миготливого епітелію дихальних шляхів. Відхаркувальна дія обумовлена наявністю у засобах летких компонентів ефірної олії багна: палюстрол, ледел.

## СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Головкин Б. Н. Большая российская энциклопедия в 35 т. / гл. ред. Ю. С. Осипов. — Москва : Большая российская энциклопедия, 2017. — Т. 35. — 799 с.
2. Гончарова Т.А. Энциклопедия лекарственных растений в 2 т. / Т.А.Гончаров. — Москва: Изд. дом "МСП", 1999. — Т. 1. — 560 с.
3. Зайко Л.Н., Шретер А.И. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР / Гл. ред. П.С. Чиков. — Москва : Главное управление геодезии и картографии, 1980. — 340 с.
4. Оголевец Г. С. Энциклопедический словарь лекарственных эфирномасличных и ядовитых растений / Г.С.Оголевец. — Москва: Сельхозгиз, 1951. — 487 с.
5. Гринкевич Н.И. Лекарственные растения: Справ. пособие. / Гринкевич Н.И., Баландина И.А., Ермекова В.А. и др. — Москва : Высшая школа, 1991. — 398 с.
6. Йорданов Д. Фитотерапия / Д. Йорданов. — София: Медицина и физкультура, 1970. — 344 с.
7. Машковский М.Д. Лекарственные средства в 2 т. / М.Д.Машковский. — Москва: Новая волна, 1988. — Т. 1. — 624 с.
8. Станков С.С. Дикорастущие полезные растения СССР / С.С. Станков. — Москва: Советская наука, 1951. — 226 с.
9. Машковский М.Д. Государственная фармакопея СССР в 2 т. / М.Д.Машковский, Э.А.Бабаян, А.Н.Обоймакова и др. — Москва: Медицина, 1990. — Т. 2. — 398 с.
10. Соколов П. Д. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, / П. Д. Соколов. - СПб.: Наука, 1986. - 200 с.
11. Троценко С.Д. Лекарственные ресурсы Иркутской области / С.Д. Троценко. — Иркутск: Восточно-Сибирское книжное издательство, 1961. — 172с.
12. Говоров В.П. Фармакологическое изучение лекарственных растений Западной Сибири и Алтая / В.П. Говоров. — Новосибирск: Наука, 1965. — 103 с.



13. Макаров А.А. Ботанические материалы по Якутии / Макаров А.А., Стручкова С. П. – Якутск: ЯФ СО АН СССР, 1975. – 179 с.
14. Татаров А.П. О фармакологическом действии багульника (*Ledum palustre*) в 6 т. / А.П. Татаров. – Архангельск: Северный государственный медицинский университет, 1943. – 35 с.
15. Веретнова О. Ю. Природа экстрактивных веществ багульника болотного, произрастающего в Красноярском крае / Веретнова О. Ю., Поляков Н. А., Ефремов А. А. // Химия растительного сырья, 2007. – С. 67–72
16. Ключева М.А. Лекарственные средства, применяемые в медицинской практике в СССР / М.А. Ключева. – Москва: Наука, 1989. – 512 с.
17. Андропова Л.М. Сборник научных работ ВИЛР / Л.М. Андропова. – Москва: ЦБНТИ Минмедпром, 1975. –188 с.
18. Телятьев В.В. Полезные растения Центральной Сибири / В.В.Телятьев. – Иркутск: Восточно-Сибирское книжное издательство, 1987. – 398 с.
19. Васина А.Н. Использование растений диких видов для борьбы с вредителями садовых и овощных культур / А.Н. Васина. – Москва: Колос, 1978. – 79 с.
20. Ларин И.В. Кормовые растения сенокосов и пастбищ СССР в 3т. / И.В. Ларин. – Москва: Сельхозгиз, 1956. . – Т. 3. – 194 с.
21. Токин Б.П. Целебные яды растений: Повесть о фитонцидах / Б.П. Токин. – Ленинград: Ленинградский университет, 1974. – 344 с.
22. Васильев Ф.А. Труды Архангельского лесотехнического института им. Куйбышева, 1957. – № 17. – С. 193–201.
23. Гаммерман А.Ф. их биологическая роль и значение для медицины и народного хозяйства / Гаммерман А.Ф., Блинова К.Ф., Бадмаев А.Н. – Киев: Издательство Академии наук Украинской ССР, 1967. – 114 с.
24. Клокова М.В. Успехи в изучении природных и синтетических лекарственных средств / Клокова М.В., Михайлова Т.Н., Тихонов В.Н. – Томск: Издательство Томского университета, 1982. –140 с.

25. Клокова М.В. Противовоспалительные свойства эфирных масел некоторых видов *Ledum L.*/ Клокова М.В., Чернова Н.А., Прищеп Т.П. – Москва: Растительные ресурсы, 1983. – 112с.
26. Труды Ботанического института АН СССР, Сер.5. Растительное сырье, вып. 9, 1961. – 174 с.
27. Машковський М.Д. Лікарські засоби у бт. / М.Д.Машковський. – Москва: Нова хвиля, 1984. – Т. 1 – 506 с.
28. Рудаков О. Б. Спутник хроматографиста / Рудаков О. Б., Востров И. А. – Воронеж: Водолей, 2004. – 528 с.
29. Katja Dettmer-Wilde, Werner Engewald, M Adachour Springer Practical gas chromatography / К. Dettmer-Wilde. — Berlin, 2014. – 902 p.
30. Азимов А. Краткая история химии. /Пер. с англ. В.М. Абашкина. – М.: ЗАО Центрполиграф, 2002. – 193 с.
31. Обоймакова А.Н. Государственная фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа./ А.Н. Обоймакова. – Москва: Медицина, 1987. –11-е изд., доп. – 336с.
32. Обоймакова А.Н. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / А.Н. Обоймакова. – Москва: Медицина, 1989. – 400 с.
33. Протизапальний засіб „Артрал“ : Патент 60948 Україна, МПК7 А 61 К 9/06, А 61 К 31/125. / Кучер В. Г., Пивоваров І. Д. – N 2003076479; Заявл. 11.07.2003; Опубл. 15.10.2003.
34. Спосіб одержання засобу з протизапальною та анаболічною активністю : Патент № 14493 Україна, МПК А61К 36/61 9/14 127/00. / О.М. Кошовий, О.М. Гомон, І.М. Мудрик та ін. (Україна). - № u 2005 11277; Заявл. 28.11.2005; Опубл. 15.05.2006, Бюл. № 5.
35. Бандюкова В.А. Применение цветных реакций для обнаружения флавоноидов путем хроматографии на бумаге / В.А. Бандюкова. – Москва: Растительные ресурсы, 1965. – Т. 1.- № 4. – 597 с.

36. Бандюкова В.А. Фенолокислоты растений, их эфиры и гликозиды / В.А. Бандюкова – Ташкент: Химия природных соединений, 1983. – 272 с.
37. Шмидт О. Природные дубильные вещества. Биохимические методы анализа растений / О. Шмидт. – Москва, 1960. – 578 с.
38. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии (планарная хроматография) = Fundamentals of Thin Layer Chromatography (Planar Chromatography) / Пер. с англ. М. А. Кошевник и Б. Н. Лапина, под ред. В. Г. Берёзкина. – 1988. – Т. 1.
39. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии (планарная хроматография) = Fundamentals of Thin Layer Chromatography (Planar Chromatography) / Пер. с англ. М. А. Кошевник и Б. Н. Лапина, под ред. В. Г. Берёзкина. – 1988. – Т. 2.
40. Білецький В. С. Мала гірнича енциклопедія : у 3 т. / В. С. Білецький. – Донецьк : Східний видавничий дім, 2013. – Т. 3. – 644 с.
41. Reich E., Widmer V. Thin Layer Chromatography // Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. – Wiley, 2012.
42. Cheng S.-C., Huang M.-Z., Shiea J. Thin layer chromatography/mass spectrometry (англ.) // Journal of Chromatography A. – 2011. – Vol. 1218, no. 19. – P. 2711.
43. Полищук В. Р. Как разглядеть молекулу / В. Р. Полищук. – Москва: Химия, 1979. – 135 с.
44. Запрометов М.Н. Основы биохимии природных соединений / М.Н. Запрометов. – Москва : Мир, 1974. – 451 с.
45. McLafferty F.W., Stauffer D.B. The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data; Wiley-Interscience, 1989. – 563 p.
46. McLafferty F.W., Stauffer D.B. Eight Peak Index of Mass Spectra; Royal Society of Chemistry: University of Notinham, Third Edition, 1983. – 256 P.
47. Хотетовская Ж.В. Эффект лекарственного сбора левзея- лабазник на иммуногематологические показатели в эксперименте. Патогенез, клиника, диагностика, и фармакотерапия заболеваний человека/ Хотетовская Ж.В., Солодков

А.П., Тихонова Л.В., и др. – Москва: Сборник трудов сотрудников ВГМУ, 2000. – 365 с.

48. Ботоева Е.А., Баханова Е.М. Науки о человеке: матер. III конгресса молодых ученых и специалистов. наук: Материалы III съезда молодых ученых и специалистов. Томск, 2002. – 205 с.

49. Иванов В.В. Фармакотерапевтическая эффективность таблеток сухого экстракта толокнянки обыкновенной в комплексном лечении больными циститом: автореферат диссертации кандидата медицинских наук / Иванов В.В. – Улан-Удэ, 2004. – 24 с.

50. Пензина Т.Н. Фармакологическая активность некоторых растений семьи Грушанковых: автореферат диссертации кандидата биологических наук. [Фармакологическая активность некоторых растений семейства Грушанковых: автореф. диссертация кандидата биологических наук. Барнаул, 1999, 24 с.

51. Зигерс К.П. Фитомедицина / Зигерс К.П., Бодине К. 2003. – вып. 4. – 60 с.

52. Куцик Р.В., Зузук Б.М. Провизор [Электронный ресурс]: науч. стат. / Р.В. Куцик. – Київ, 2003. Режим доступа: <http://www.provisor.com.ua/archive/2003/N18/art27.php> (дата звернення: 12.05.2021)

53. Годорович В. Медицинский прегл., 2003. – 41 с.

54. Мазнев Н. И. Золотая книга лекарственных растений / Н. И. Мазнев. – Москва: ООО «ИД РИПОЛ Классик», ООО Издательство «ДОМ. XXI век», 2008. – 621 с.

55. Мазнев Н. И. Травник / Н. И. Мазнев. – Москва: ООО «Гамма Пресс 2000», 2001. — 512 с.

56. Товстуха Є. С. Фітотерапія / Є. С. Товстуха. — Київ : Здоров'я, 1990. – 304 с.

57. Чухно Т. Большая энциклопедия лекарственных растений / Т. Чухно. – Москва: Эксмо, 2007. – 1024 с.

58. Аляутдина Р.Н. Фармакология: учебник / Р.Н. Аляутдина. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 832 с.