

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ
О.О.БОГОМОЛЬЦЯ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

Кафедра фармакогнозії та ботаніки

КВАЛІФІКАЦІЙНА ВИПУСКНА РОБОТА

На тему: Вивчення ліпофільних речовин насіння смородини червоної

Виконав: здобувач вищої освіти 5 курсу, групи 9804
напряму підготовки (спеціальності)

226 «Фармація, промислова фармація»
освітньої програми фармація
Алієва С.Е.

Керівники: к. фарм. н., доцент Підченко В.Т.,
к. фарм. н., доцент Чолак І.С.

Рецензент: ПІБ

Київ – 2024 рік

ЗМІСТ

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	4
ВСТУП	5
РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	8
1.1. Ліпофільні речовини: склад, характеристика та значення	8
1.1.1 Жирні кислоти.	8
1.1.2. Вітаміни (каротиноїди, токофероли і т.д.)	10
1.1.3. Стероли	15
1.1.4. Сквален	
1.2 Комплексна ботанічна характеристика, хімічний склад та застосування смородини червоної (<i>Ribes rubrum</i> L.).	16
1.2.1. Ботанічна характеристика	16
1.2.2. Поширення та ресурсна оцінка сировини.	19
1.2.3. Хімічний склад	22
1.2.4. Біологічна активність та фармакологічна дія	27
РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	29
2.1. Об'єкти дослідження	29
2.2. Макроскопічне дослідження	29
2.3. Мікроскопічне дослідження	29
2.4. Гістохімічні дослідження	29
2.5. Отримання ліпофільної фракції.	29
2.6. Якісне та кількісне визначення жирних кислот	31
2.7. Кількісне визначення суми каротиноїдів	31
2.8. Якісне та кількісне визначення фітостеролів	32
2.9. Статистична обробка отриманих результатів	33
РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ	34
3.1. Макроскопічне дослідження	34

3.2. Гістохімічне дослідження	37
3.3. Якісне та кількісне визначення жирних кислот	38
3.4. Кількісне визначення суми каротиноїдів	41
3.5 Якісне та кількісне визначення фітостеролів.	42
Висновки	45
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	46
SUMMARY	51

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АФК – активні форми кисню

БАР – біологічно активні речовини

ГХ - газова хроматографія

ДФУ – Державна Фармакопея України

ЛПНЦ – ліпопротеїни низької щільності

ЛРС – лікарська рослинна сировина

МС- масспектрометрія

ПНЖК - поліненасичені жирні кислоти

LA - ліолева кислота

ALA - α -ліноленова кислота

ВСТУП

Останні роки велика увага дослідників приділяється вивченню ліпофільної фракції, виділеної з лікарської рослинної сировини та створення на її основі лікарських засобів різноманітної фармакологічної дії. Це обумовлено тим, що до складу фракції можуть входити такі речовини, як жирні кислоти, сквален, фітостероли, хлорофіли, токофероли та каротиноїди. Кожна з цих речовин застосовується в медицині та фармації для лікування та профілактики захворювань різної етіології. Так, ненасичені жирні кислоти знижують рівень холестерину в крові, зменшують ризик серцевих захворювань, посилюють утворення гормонів, проявляють антиоксидантні та протизапальні властивості; сквален, жиророзчинні вітаміни та стероли є природними антиоксидантами, мають протизапальні, антимікробні, імуномодуючі та протипухлинні властивості [23].

У зв'язку з цим актуальним є вивчення ліпофільних речовин насіння смородини червоної (*Ribis rubri semina*) з метою комплексної переробки сировини та створення лікарських засобів з різною біологічною активністю. Необхідно відмітити, що при отриманні соків та джемів з ягід червоної смородини в харчовій промисловості залишається значна кількість відходів до складу яких входить насіння, яке в подальшому не використовується. Тому, технологія комплексної переробки рослинної сировини в фармації є одним з актуальних напрямків раціонального використання сировинних ресурсів та зниження собівартості лікарських засобів.

Мета роботи – проведення комплексного аналізу ліпофільних речовин з насіння смородини червоної.

Для досягнення поставленої мети були заплановані наступні **завдання**:

1. Узагальнення та критичний аналіз літературних даних щодо характеристики ліпофільних речовин, що містяться в рослинній сировині та комплексної ботанічної характеристики, вивчення хімічного складу та застосування смородини червоної

2. Встановлення основних анатомо-діагностичних ознак сировини.
3. Проведення гістохімічних реакцій на жирні олії.
4. Визначення загального вмісту каротиноїдів.
5. Визначення якісного та кількісного вмісту стероїдних сполук та жирних олій.

Об'єктами дослідження було насіння смородини червоної.

Предмет дослідження – ліпофільні речовини (їхній якісний та кількісний аналіз).

Методи дослідження:

Макро- та мікроскопічний аналіз насіння проводили за допомогою світлової мікроскопії. Якісний склад БАР визначали за допомогою гістохімічних реакцій.

Якісний та кількісний вміст ліпофільних речовин визначали фармакопейними методами: стероїдних сполук та жирних олій - методом газової хроматографії/маспектрометрії (ГХ/МС), каротиноїди – спектрофотометричним методом.

Обробку експериментальних даних проводили за допомогою математично-статистичних методів.

Наукова новизна та значення одержаних результатів. Уперше проведено комплексне дослідження ліпофільних речовин насіння смородини червоної з метою подальшого використання їх в фармації.

У результаті проведених фармакогностичних досліджень встановлено перспективність використання досліджуваної сировини у фармації та медицині з лікувальною та профілактичною метою.

Особистий внесок здобувача. Дана робота є самостійним дослідженням автора, проведеного упродовж 2023-2024 рр. Експериментальною роботою охоплено усі ботанічні та фармакогностичні дослідження.

Апробація результатів роботи. Результати дослідження, викладені в магістерській роботі, доповідалися та обговорювалися на засіданнях кафедри фармакогнозії та ботаніки, а також представлені у вигляді тез на міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження», 12 квітня 2024 р., м. Харків.

Структура і обсяг роботи. Магістерська робота складається зі вступу, двох розділів, висновків, списку використаних джерел. Загальний обсяг роботи – 51 сторінка машинописного тексту. Робота ілюстрована 3 таблицями, 18 рисунками. Бібліографія нараховує 45 джерел.

РОЗДІЛ І.

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Ліпофільні речовини: склад, характеристика та значення

Серед цих речовин основними є жирні кислоти, сквален ($C_{30}H_{50}$), фітостероли, токофероли ($C_{29}H_{50}O_2$) та каротиноїди ($C_{40}H_{56}$).

Розглянемо докладніше їхню роль та властивості.

1.1.1. Жирні кислоти

Жирні кислоти можна поділити на насичені та ненасичені, де ненасичені поділяються на мононенасичені та поліненасичені [8].

Жирні кислоти мають значний біологічний вплив на здоров'я людини, обумовлений їхньою унікальною біохімічною структурою та фізіологічними властивостями. Ці компоненти виконують важливі функції в організмі людини, що включають роль у побудові клітинних мембран, забезпеченні енергії, регуляції запальних процесів, а також вплив на серцево-судинну систему та когнітивні функції [4].

Наукові дослідження показують, що основними жирними кислотами в рослинах є ліолева (LA) та α -ліноленова (ALA) кислоти, які належать до класу поліненасичених жирних кислот (ПНЖК). Ліолева кислота є омега-6 жирною кислотою, тоді як α -ліноленова кислота є омега-3 жирною кислотою. Омега-3 та омега-6 жирні кислоти є незамінними, оскільки вони не синтезуються в організмі людини та повинні надходити з їжею.

Поліненасичені жирні кислоти мають декілька подвійних зв'язків у своєму вуглеводневому ланцюзі. Ці подвійні зв'язки надають молекулам жирних кислот підвищену хімічну реактивність та здатність утворювати конформаційні структури, які є важливими для функціонування клітинних мембран.

Критичним для підтримання здоров'я є баланс між омега-6 та омега-3 жирними кислотами. Ідеальне співвідношення омега-6 до омега-3 у дієті

вважається приблизно 2:1 або 3:1, тоді як багато звичайних дієт мають надмірне споживання омега-6 жирних кислот.

Важливо також зауважити, що якість та відсоткове співвідношення жирних кислот може змінюватися в залежності від багатьох факторів, включаючи сорт рослини, умови вирощування, кліматичні умови та методи обробки насіння [30].

ПНЖК відзначаються важливими біологічними властивостями. Вони є попередниками ейкозаноїдів, що є біологічно активними сполуками з протизапальними, антиоксидантними та нейропротекторними властивостями та відіграють важливу роль у підтримці імунної системи та запобіганні запаленню. Вони можуть зменшувати ризик розвитку різних захворювань, включаючи серцево-судинні та нейродегенеративні захворювання, сприяють зниженню рівня тригліцеридів у крові, поліпшенню еластичності судин та зниженню артеріального тиску. Крім того, вони можуть покращувати інсулінову чутливість, що має важливе значення для профілактики та лікування цукрового діабету 2-го типу; є важливими компонентами мозкових клітин і сприяють підтримці когнітивних функцій, здоров'я нейронів та нервової провідності; знижують ризик розвитку депресії та інших психічних розладів [21].

ПНЖК також можуть зменшувати ризик утворення тромбів, які можуть блокувати кровоносні судини та спричиняти інфаркт міокарда або інсульт. Додатково, жирні кислоти можуть впливати на здоров'я шкіри. Омега-3 жирні кислоти мають протизапальні властивості, які можуть бути корисними для лікування таких станів, як екзема, псоріаз та акне. Вони також сприяють здоровому вигляду шкіри, підтримуючи її гідратацію та еластичність [12].

Крім лінолевої та α -ліноленової кислот, у рослинах містяться також інші важливі жирні кислоти. Серед них - олеїнова кислота, що є мононенасиченою жирною кислотою. Олеїнова кислота, як мононенасичена жирна кислота, має значний біологічний потенціал. Вона є ключовим компонентом рослинних олій і відзначається антиоксидантними властивостями, які зміцнюють захист

організму від вільних радикалів. Олеїнова кислота також впливає на рівень холестерину в крові, сприяючи його зниженню, що може вплинути на загальний стан серцево-судинної системи [18].

Насичені жирні кислоти «наповнені» (насичені) воднем. Більшість насичених жирних кислот є прямими вуглеводневими ланцюгами з парною кількістю атомів вуглецю. Найбільш поширені жирні кислоти містять 12-22 атоми вуглецю [30].

Під час зберігання та обробки насіння, жирні кислоти можуть окислюватися, що призводить до утворення летких сполук, які мають специфічні ароматичні властивості. Окислення жирних кислот може викликати різке погіршення аромату, утворюючи небажані запахи, які сприймаються як "зіпсовані".

Також важливим аспектом є вплив жирних кислот на тривалість зберігання насіння. Насичені жирні кислоти, зазвичай, більш стабільні при зберіганні і менше схильні до окислення, ніж ненасичені. Отже, насіння з вищим вмістом насичених жирних кислот може мати довший термін придатності. В той же час, високий вміст ненасичених жирних кислот, хоча і є корисним з точки зору дієтології, може сприяти швидкому окисленню та погіршенню органолептичних характеристик протягом зберігання.

Значення жирних кислот у формуванні органолептичних характеристик сировини підкреслює необхідність ретельного контролю їх вмісту та співвідношення в харчових продуктах.

При вирощуванні рослин та обробці їх насіння потрібно враховувати, що різні агрономічні практики та методи збирання врожаю можуть впливати на профіль жирних кислот у насінні. Наприклад, стресові умови, такі як посуха або висока температура, можуть спричинити зміни у вмісті та співвідношенні жирних кислот. Також значення має технологія обробки насіння, особливо сушіння, яке може впливати на ступінь окислення жирних кислот [6].

1.1.2. Вітаміни (каротиноїди, токофероли і т.д.)

До складу ліпофільної фракції також можуть входити жиророзчинні вітаміни, зокрема каротиноїди та токоферолі, що мають значний вплив на здоров'я людини [22].

Каротиноїди. Каротиноїди - пігменти, які синтезуються рослинами і мікроорганізмами, але не тваринами. Фрукти та овочі складають основні джерела каротиноїдів у раціоні людини. [31].

Каротиноїди включають бета-каротин, лікопін, зеаксантин, та лутеїн. Вони відіграють важливу роль у захисті клітин від оксидативного стресу та діють як антиоксиданти. Бета-каротин, який є провітаміном А, сприяє підтриманню зору, шкіри та імунної системи. Лікопін відомий своїми протипухлинними властивостями, особливо в контексті профілактики простатичного раку. Зеаксантин та лутеїн, які накопичуються в сітківці ока, сприяють захисту зору, зменшуючи ризик вікової дегенерації макули.

Каротиноїди, такі як бета-каротин, лікопін, лутеїн і зеаксантин, є потужними антиоксидантами, які забезпечують захист клітин від оксидативного стресу, викликаного вільними радикалами. Оксидативний стрес пов'язаний з розвитком численних захворювань, включаючи серцево-судинні захворювання, деякі види раку, а також захворювання, пов'язані зі старінням [6].

Токоферолі мають загальну хімічну формулу $C_{29}H_{50}O_2$. Вони можуть існувати у вигляді різних ізомерів, серед яких найважливішим є α -токоферол, що є найактивнішим антиоксидантом у цій групі та становить приблизно 90% загального вмісту токоферолів у рослинах.

Вітамін Е є жиророзчинним антиоксидантом, який забезпечує захист ліпідів клітинних мембран, зокрема від пероксидації ліпідів. Це важливо для здоров'я серцево-судинної системи, оскільки захист від оксидативного пошкодження низькогустинних ліпопротеїнів (LDL) може знизити ризик атеросклерозу. Крім того, вітамін Е важливий для імунної системи, особливо у літніх людей, де він може допомагати в підтримці імунної відповіді.

Дефіцит вітаміну Е у людей не призводить до характерного захворювання чи розладу; проте в літературі є чіткі вказівки на те, що вони пов'язані з високим ризиком атеросклерозу та дегенеративних захворювань. Фізіологічна роль вітаміну Е залежить від його здатності гасити вільні радикали в клітинних мембранах та інших ліпідних середовищах, запобігаючи автоокисленню поліненасичених жирних кислот. Крім того, він впливає на реакцію клітин на окислювальний стрес, модулюючи шляхи передачі сигналу [5].

Наявність каротиноїдів та токоферолів в рослинній сировині робить його цінним компонентом для збалансованого харчування, а також відкриває перспективи для розробки нових харчових добавок та функціональних продуктів [32].

Вітамін К відіграє важливу роль у згортанні крові та метаболізмі кальцію. Відомо, що вітамін К важливий для згортання крові. Сучасні дослідження все частіше вказують на те, що антигеморагічний вітамін має значну користь у профілактиці та лікуванні захворювань кісток і судин. Вітамін К₁ (філохінон) є більш поширеним у харчових продуктах, але менш біологічно активним, ніж вітамін К₂-менахінони (особливо МК-7, менахінон-7). Сполуки вітаміну К піддаються окислювально-відновним циклам у мембрані ендоплазматичного ретикулуму, віддаючи електрони для активації специфічних білків за допомогою ферментативного гамма-карбоксілювання груп глутамату перед ферментативним відновленням [14].

Вітамін D, який синтезується в шкірі під впливом сонячного світла та отримується з їжі, важливий для підтримання здоров'я кісток та зубів, а також відіграє роль у функціонуванні імунної системи. Недостатність вітаміну D асоціюється з ризиком розвитку рахіту у дітей та остеопорозу у дорослих.

Для досягнення максимальної користі від вітамінного складу рослинної сировини, важливо звернути увагу на методи її зберігання та обробки. Теплова обробка та тривале зберігання можуть зменшити вміст деяких вітамінів, зокрема вітаміну С та деяких каротиноїдів. Таким чином, для збереження

цілісності біоактивних компонентів рекомендується використовувати лагідні методи обробки та забезпечувати належне зберігання [34].

Всі ці вітаміни взаємодіють в складних метаболічних шляхах, підтримуючи різноманітні функції в організмі та допомагаючи запобігати різноманітним захворюванням. Збалансоване споживання цих вітамінів є ключовим для підтримки оптимального здоров'я та профілактики хронічних захворювань. Роль цих вітамінів у профілактиці захворювань стає все більш визнаною в наукових дослідженнях, що підкреслює важливість різноманітного та збалансованого харчування для здоров'я людини [24].

1.1.3. Стероли

Стероли є структурними компонентами клітинних мембран рослин, аналогічними до холестеролу в тваринних клітинах. Вони відомі своїми корисними властивостями для здоров'я, включаючи здатність знижувати рівень холестерину в крові та впливати на імунну відповідь.

Основні стероли, які містяться в рослинній сировині, включають бета-ситостерол, кампестерол та стигмастерол.

Бета-ситостерол є найбільш поширеним фітостеролом в рослинних продуктах і має важливе значення в регулюванні рівня холестерину в крові. Він конкурує з холестерином за абсорбцію в кишечнику, що сприяє зниженню його рівня в організмі. Також бета-ситостерол має протизапальні та імуностимулюючі властивості [25].

Кампестерол, ще один важливий фітостерол, зустрічається у рослинних маслах та цілісних зернових. Він також сприяє зниженню рівня холестеролу в крові, допомагаючи зменшити ризик розвитку серцево-судинних захворювань.

Стигмастерол, хоча й присутній у менших кількостях, відіграє важливу роль у біосинтезі фітогормонів, включаючи стероїдні гормони. Він також володіє антиоксидантними та імуномодулюючими властивостями.

Крім цих трьох основних стеролів, ліпофільна фракція може містити інші стерольні компоненти, такі як брассикастерол і δ -5-авенастерол.

Стероли мають складну структуру, яка включає поліциклічний стероїдний кістяк. Ця структура надає їм здатність взаємодіяти з ліпідними шарами клітинних мембран, впливаючи на їхню консистентність і функціональність. Фітостероли також можуть впливати на біосинтез холестеролу, інгібуючи фермент 3-гідрокси-3-метилглутарил-КоА редуктазу, що є ключовим ферментом у синтезі холестерину [27].

Стероли відкривають нові можливості в області фармацевтики та харчової промисловості, завдяки своїм унікальним хімічним властивостям і біологічній активності. Вони є важливими біоактивними компонентами, які можуть відігравати ключову роль у розробці нових лікарських препаратів для зниження рівня холестерину, які можуть бути ефективною альтернативою синтетичним лікарським засобам, зокрема статинам, а також для лікування різноманітних захворювань, включаючи аутоімунні розлади, запальні захворювання та деякі види раку .

Крім того, фітостероли можуть бути використані як харчові добавки або інгредієнти у виробництві молочних продуктів, маргарину, злакових та соків. Це також може бути корисним у виробництві дієтичних продуктів, спрямованих на підтримку серцево-судинного здоров'я [37] .

Додатково, існує потенціал для використання стеролів у косметичній промисловості. Вони можуть бути використані в формулах кремів та лосьйонів для шкіри завдяки своїм зволожуючим, антиоксидантним та захисним властивостям. Таке застосування може бути особливо корисним для розробки продуктів проти старіння шкіри.

Інша цікава область дослідження - це використання стеролів як носіїв для покращення біодоступності лікарських препаратів. Фітостероли можуть допомогти підвищити розчинність та стабільність деяких активних фармацевтичних інгредієнтів, покращуючи їхню ефективність та зменшуючи потрібну дозу.

Крім того, науковці вивчають можливість використання стеролів в якості природних консервантів у харчовій промисловості. Їх антиоксидантні

властивості можуть допомогти продовжити термін придатності продуктів, зменшуючи потребу в синтетичних консервантах [33].

1.1.4. Сквален

Сквален, органічна сполука з хімічною формулою $C_{30}H_{50}$, є тритерпеноїдом, який займає важливе місце в хімічному складі ЛРС. Ця сполука має унікальні антиоксидантні та захисні властивості, які відіграють значну роль у підтримці здоров'я людини та можуть бути використані у фармацевтичній та косметичній промисловості.

Антиоксидантні властивості сквалену пов'язані з його здатністю поглинати та нейтралізувати вільні радикали, які є продуктами оксидативного стресу в клітинах. Вільні радикали можуть пошкоджувати клітинні мембрани, білки, ліпіди та нуклеїнові кислоти, сприяючи розвитку різноманітних патологій, включаючи серцево-судинні захворювання, рак, та захворювання, пов'язані зі старінням. Сквален, завдяки своїй антиоксидантній активності, може запобігати цим пошкодженням, тим самим сприяючи захисту клітин та підтриманню їхньої функціональності.

Крім того, сквален відомий своїми імуномодулюючими властивостями. Він може впливати на імунну систему, підвищуючи її здатність протистояти інфекціям та зменшуючи ризик розвитку запальних процесів. Ця здатність робить сквален потенційно корисним у лікуванні та профілактиці різних імунних розладів [26].

У фармацевтичній промисловості сквален використовується як натуральний емомент (зволожувач) у косметичних засобах. Його ліпофільні властивості дозволяють зміцнювати гідроліпідний бар'єр шкіри, захищаючи її від зневоднення та шкідливих зовнішніх факторів. Таким чином, сквален сприяє здоровому вигляду та еластичності шкіри, роблячи її більш стійкою до впливу старіння. Його здатність проникати через шкіру та властивості, які допомагають відновленню та захисту шкірного покриву, роблять його корисним у лікуванні таких захворювань, як екзема та псоріаз [22].

Сквален також може використовуватися як основа для мазей та кремів, для покращення доставки активних інгредієнтів до глибоких шарів шкіри [19].

Важливою особливістю сквалену є його роль у біосинтезі холестерину та інших стероїдів. Сквален є прекурсором у біосинтетичному шляху холестеролу, відіграючи ключову роль у метаболізмі ліпідів. Холестерол є необхідним компонентом клітинних мембран, бере участь у синтезі стероїдних гормонів, жовчних кислот та вітаміну D, тому наявність сквалену в дієті може сприяти підтримці цих життєво важливих функцій [35].

Цікавою особливістю сквалену є його роль у розробці вакцин. Як ад'ювант, сквален збільшує імуногенність вакцин, покращуючи імунну відповідь організму на вакцину. Це зробило сквален важливим компонентом у розробці деяких вакцин, зокрема проти грипу.

Отже, потенціал ліпофільних речовин у фармацевтичній та харчовій промисловості є значним. Вони пропонують цілий ряд можливостей для розробки нових продуктів для поліпшення здоров'я з корисними властивостями та терапевтичним потенціалом. Проте для реалізації цього потенціалу необхідні подальші дослідження та розробки.

1.2 Комплексна ботанічна характеристика, хімічний склад та застосування смородини червоної (*Ribes rubrum* L.).

Смородина червона (*Ribes rubrum* L.) — одна з цінних ягідних культур, що відрізняється високою врожайністю, скоростиглістю та гарними харчовими якостями ягід.

1.2.1. Ботанічна характеристика

Систематичне положення виду *Ribes Rubrum* L. (смородина червона) [15]:

Царство – Рослини (Plantae)

Відділ – Покритонасінні (Magnoliophyta)

Клас – Дводольні (Magnoliopsida)

Порядок – Ломикаменецевіті (*Saxifragales*)

Родина – Агрусові (*Grossulariaceae*)

Рід – Порічки (*Ribes*)

Вид – Смородина червона (*Ribes Rubrum*) (рис. 1.1).



Рис. 1.1. *Ribes Rubrum* L. [47]

Рід *Ribes* L. (порічки) раніше належав до родини Saxifragaceae, але на сьогоднішній день він належить до *Grossulariaceae* через його морфологію квітів. Родина *Grossulariaceae* налічує всього 1 рід *Ribes*, який в свою чергу поділений на 5–12 підродів. В свою чергу деякі дослідники виділяють 5 підродів (зокрема і підрід *Ribes*), які розділяють ще на різні секції. [13.] Так підрід *Ribes* включає вісім секцій, чотири з яких важливі для культивованих форм: (1) чорна смородина, (2) декоративна смородина; (3) червона і біла смородина і (4) золотоквіткова смородина з чорними плодами. [17.]

Смородина червона – представляє собою кущ, до 2 м у висоту. Пагони голі або мають залозисті волоски, а молода поросль містить кристалічні залози. Старі стебла покриті гладкою блідо-жовтою корою. Листя

глибоко розсічене, 5-лопатеве, серцеподібне. Квітки - дрібні, зеленувато-білі або жовто-зелені, зібрані в китицю. У смородини чорної здебільшого від 6 до 12 квіток у китиці, тоді як у смородини червоної їх більше. Гіпантій майже плоский. Плоди - кулясті, червоні, кисло солодкі ягоди, 6–10 мм у діаметрі, голі з напівпрозорою шкіркою. Дозрівають у серпні. Плодоносить червона смородина практично щороку. Урожайність порічок більш стабільна і набагато перевищує збір чорної смородини [32].

Рослини зазвичай досягають повної зрілості через 3–4 роки, коли починають давати врожай. Види *Ribes* запилюються комахами, хоча більшість сортів, які використовуються для розведення, майже самозапилюються. Тим не менш, перехресне запилення має велике значення для досягнення оптимальної врожайності. Початок цвітіння сильно залежить від сорту та умов навколишнього середовища, цвітіння триває до 3–4 тижнів. Квіти смородини чутливі до пізніх весняних заморозків, хоча, якщо переохолодження зведене до мінімуму, вони можуть витримувати температури приблизно до -5°C . Тому багато селекційних програм зосереджені на створенні нових сортів, які є більш стійкими до низьких температур або цвітуть пізніше. Крім того, високі температури та інтенсивне сонячне світло можуть збільшити ризик пошкодження листя рослини [36].

Червона смородина відрізняється від білої і чорної тим, що ягоди розташовані ближче до пагонів, вони також широко центровані. Гілки червонувато-коричневі, молоді гілки сіруваті. На гілках червоної смородини можна помітити відступ кори від основи, яка стає більш помітною в кущі.

У однорічної червоної смородини є бруньки росту. Змішані бруньки починають формуватися на старих пагонах, які досягли 20-30 метрів в довжину. На слабших гілках утворюються тільки квіткові бруньки. На однорічних пагонах зазвичай є ростові бруньки. Плоди утворюються переважно на квітучих гілках з багаторічними гілками. Утворюються молоді пагони до 25 см від верхньої бруньки.

Червона смородина дає більше плодів, ніж чорна, за рахунок наявності на пагонах більшої кількості плодоносних пагонів. Найбільшу врожайність мають 10-річні гілки, які можуть давати до 3 кг плодів. Вегетаційний період в червоної смородини починається наприкінці весни (в залежності від погодних умов), значно пізніше чорної смородини, бруньки якої прокидаються від спокою пізніше. Бруньки червоної смородини спочатку з'являються на бутонах, потім на листках. Цвітіння більшості сортів відбувається одночасно і триває близько двох тижнів. Сорти червоної смородини самозапильні, але при перехресному запиленні підвищується врожайність. Розмір кореневої системи приблизно в два рази перевищує розмір надземної частини. Глибина залягання коренів близько 1-1,5 м, але більшість коренів залягають неглибоко.

1.2.2. Поширення та ресурсна оцінка сировини.

Вид *Ribes rubrum* поширений в Європі, Азії, в Америці як Північній так і Південній, а також деяких країнах Африки (рис.1.2). У дикому вигляді зростає майже по всій Європі (рис.1.3).

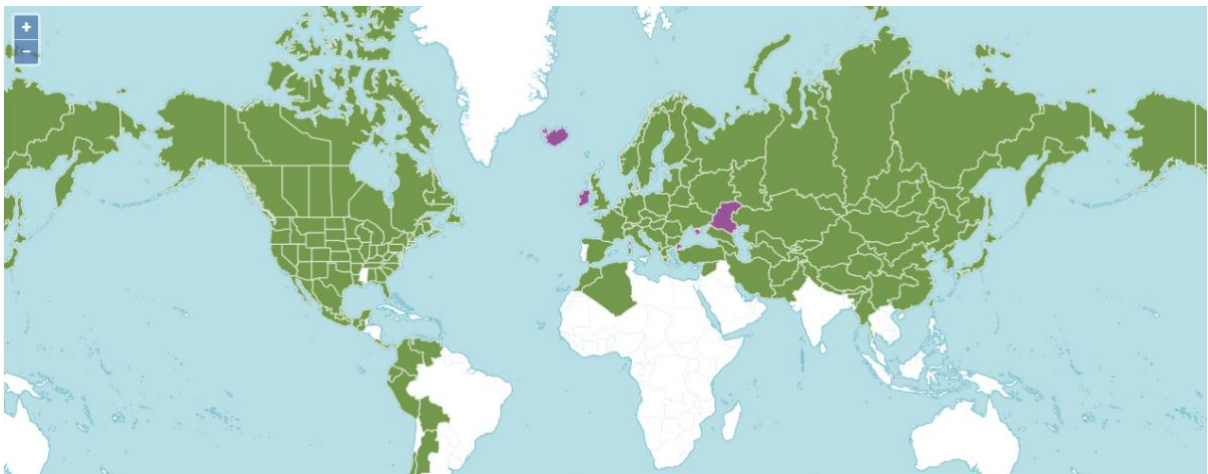


Рис. 1.2. Ареал поширення роду *Ribes* L.: зелений – природний ареал, фіолетовий – інтродукований ареал [45]

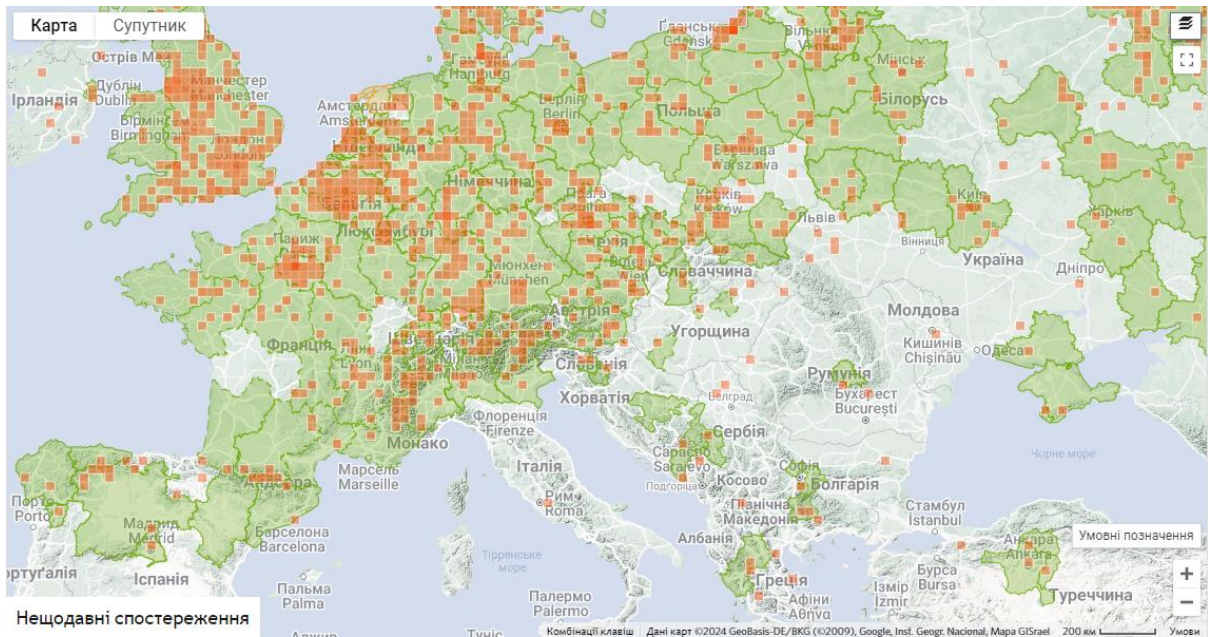


Рис. 1.3. Ареал поширення *Ribes Rubrum* в Європі та Україні [46]

У середні віки у Франції та Німеччині культивували червону смородину (чорну почали розводити пізніше). Вперше про смородину згадується у 1484 р. у Майницькому гербаріумі. Росте вона у сирих лісах, між чагарниками, на берегах річок, озер, біля боліт. На півдні смородина часто зустрічається у горах. Дикі рослини за своїми якостями мало чим поступаються культурним.

Перший опис смородини відноситься до середньовіччя. Пізніше розпочався бурхливий етап окультурення смородини. Передусім у Франції, Англії, Німеччині, а потім і далі на захід. З'явилися перші сорти. Кількість їх швидко зростала. У XVIII-XIX століттях із Західної Європи вони поширилися далі. У Європі зустрічається лише один дикий вид чорної смородини і п'ять червоної. Справжнє царство дикої смородини у Північній і Південній Америці, Азії.

Якщо чорну смородину вперше почали окультурювати у X столітті, то червону вже у V столітті вирощували голландці. Найцікавіше, що вони вводили її як культуру не заради врожаю ягід, а заради її декоративних

якостей, щоб зробити сади більш привабливими. Тому в Європі вона була популярніша за чорну смородину.

У XI столітті смородина чорна з'явилася у монастирських садах Русі, і лише після цього перекочувала до країн Європи, червону вже у V столітті вирощували голландці. На Русі вона стала відома з XV ст. Смородина – дуже популярна садова культура нашої країни. Крім смородини чорної та червоної сьогодні культивують також білу, але смородина чорна переважає над іншими видами як найсмачніша ягода, і як найкорисніша. Смородина червона і біла не такі ароматні, як чорна, оскільки ефірних олій у них менше, проте вони також дуже корисні. Включає в себе близько 190 видів.

Червона смородина родом з лісових масивів Євразії. Росте на узліссях, віддає перевагу берегам річок і струмків, утворює зарості. Червона смородина – одна з найбільш зимостійких ягід. Квіти можуть пошкоджуватися весняними заморозками. Червона смородина добре переносить значне підвищення температури. У дикій природі червона смородина росте в гірських районах, трав'янистих місцях і серед рідкісних дерев. Віддає перевагу сонячним місцям, можна охарактеризувати як світлолюбна рослина. Має дуже добре розвинену кореневу систему, а коріння сягає на значну глибину, тому явних вимог до вологості ґрунту немає.

Але якщо смородина росте на схилах пагорбів, погіршується вологозабезпеченість, послаблюється її ріст, знижується плодоношення та холодостійкість. Червона смородина добре росте на піщаних ґрунтах, але може рости і на інших ґрунтах. Вони віддають перевагу більше світла, ніж чорна смородина, але потребують менше вологи. Найкраще садити на початку осені, у вересні.

Найкращими ґрунтами для смородини за родючістю та фізико-хімічними властивостями є чорноземи, чорноземи лучні, світло-сірі, сірі, темно-сірі лісові, дернові, середньо- та слабоопідзолені. У передгірних і гірських районах придатні бурі опідзолені, середньоглибокі дернові і бурі лісові ґрунти.

На сьогодні Польща та Україна є основними виробниками червоної смородини [15].

Таблиця 1.1- Країни з найбільшим виробництвом смородини у світі [1].

№ з/п	Країна	Виробництво (тонни)
1	Польща	194,522
2	Україна	24,100
3	Австрія	19,140
4	Об'єднане Королівство	15,400
5	Данія	12,793
6	Франція	11,411
7	Німеччина	10,764
8	Нова Зеландія	7600

Україна займає третє місце у світі з рейтингу найбільшого виробництва червоної смородини.

На плантаціях вирощують багато сортів смородини, які дають великі врожаї: Версальська червона, Вікторія, Герой, Голландська червона, Червоний хрест, Латурнайс, Рання чудова, Файя родюча, Чулковська (Крюківська) та ін.

1.2.3. Хімічний склад (3-5)

Смородина червона походить із Західної Європи. Завдяки високій цукристості ягід, в групі соковитих фруктів, вирощування смородини знаходиться в світі на другому місці. Це пов'язано з багатим хімічним складом смородини, яка містить фенольні сполуки, цукри, органічні кислоти, вітаміни, макро-та мікроелементи. На склад та кількісний вміст цих речовин впливає географічне походження сортів [Boban Djordjević]. Основними групами первинних метаболітів, які присутні в цих ягодах, є цукри та органічні кислоти, тоді як домінуючими групами вторинних метаболітів є фенольні сполуки.

Вуглеводи. Ягоди смородини червоної містять 6,2-20% цукрів . У тому числі, загалом, 42,3 % становить фруктоза. Наприклад, при вмісті цукрів 6,22% на сиру масу, 2,63% становить фруктоза. Вміст фруктози у червоній смородині нижче, ніж у яблуках, грушах, вишні, суниці, чорній смородині. Можливо тому смородина червона – не солодка ягода. Адже фруктоза - найсолодший із усіх цукрів і низький вміст їх у ягодах супроводжується значним зниженням солодощі.

Глюкоза і фруктоза є основними цукрами в червоній смородині, тоді як концентрація сахарози становить лише 0,2-0,8% від свіжої ваги, що становить близько 6% від загального вмісту цукрів. Загальна концентрація цукру може коливатися від 5,18 до 7,49% і ніколи не перевищує 11%. Суха речовина ягід коливається від 10,8 до 18,7 %, а загальна розчинна речовина коливається від 8,3 до 11,2 %. У сухому і жаркому кліматі накопичується більший вміст цукру, ніж у холодному і вологому .

Органічні кислоти. Основними органічними кислотами червоної смородини є лимонна і яблучна кислоти (у співвідношенні 47:1).

Макро- і мікроелементи. Велике значення в харчуванні людини має правильне споживання мінеральних елементів. Вони можуть бути елементами клітинної будови, тому що вони присутні в клітинах і тканинах у значних кількостях (макроелементи), або вони можуть бути необхідними для фізіологічної рівноваги організму, але їх кількість дуже мала (мікроелементи). У дослідженні червона смородина містила 349 мг P на 100 г сухої маси, 1876,94 мг K, 8,25 мг Na, 281,08 мг Ca, 1,18 мг Mn, 94,43 мг Mg, 3,73 мг Fe, 2,41 мг Zn.

Вітаміни. Аскорбінова кислота, антоціани і флавоноїди є найціннішими сполуками, присутніми в чорній і червоній смородині. Вітамін С, включаючи L-аскорбінову кислоту та дегідроаскорбінову кислоту, є одним із найважливіших факторів якості харчування в багатьох садових культурах і проявляє різноманітну біологічну активність в організмі людини [20.]. Відомо, що вітамін С є одним із найважливіших поглиначів вільних радикалів у рослин, тварин і людини. Вважається, що вітамін С відіграє значну роль у

зниженні канцерогенезу та частоти серцево-судинних захворювань, а також стимулює імунну систему людини. Холодніше літо в більш північному кліматі загалом сприяє накопиченню більшої кількості вітаміну С у смородині, порівняно з більш південним кліматом із жарким сухим літом. Однак суттєвої кореляції між температурою або вологістю ґрунту під час росту і дозрівання ягід і вмістом вітаміну С не виявлено.

Свіжозібрана червона/біла смородина може містити від 5 до 77 мг на 100 г вітаміну С, залежно від сорту та умов вирощування, рідко може досягати 188 мг/100 г. Під час зберігання протягом кількох тижнів може бути втрачено до 20% вітаміну С. Перероблена червона і біла смородина містить на 30-70% менше вітаміну С, ніж свіжі ягоди, лише 2,7-18,4 мг на 100 г.

У червоній смородині міститься приблизно 0,2-0,5 мг на 100 г β -каротину, 2,5 мкг на 100 г біотину і 3-5 мкг на 100 г фолієвої кислоти.

Таким чином, вміст аскорбінової кислоти в цих плодах значно вищий порівняно з іншими ягодами (Benvenuti et al., 2004; Ciornea et al., 2009). На вміст цих сполук впливає тип сорту, методи культивування, умови навколишнього середовища, час збору врожаю (Anttonen and Karjalainen, 2006; Maatta-Riihinen et al., 2004; Zheng et al., 2012).

Фенольні речовини. У ягодах смородини міститься катехинів і лейкоантоціанів 300-400 мг %. Антоціанів у червоній смородині 93-100 мг %, флавонів – до 151 мг %, фолієвої кислоти 0,08-0,12 мг %, до 30 мг % рутину.

Вважається, що флавоноїди та фенольні кислоти сприятливо впливають на здоров'я як антиоксиданти та антиканцерогени. Була показана зворотна залежність між споживанням флавонолів і флавонів і ризиком ішемічної хвороби серця, інсульту та раку легенів (16).

Фенольні сполуки та антоціани відомі як поглиначі супероксидних аніонів і мають антиліпопероксидантну активність тощо. Загалом активність фруктів по видаленню радикалів залежить від загального вмісту поліфенолів у фруктах, хоча існує кілька винятків.

Встановлено, що загальний вміст фенольних речовин у червоній і білій смородині нижчий (< 10 мг на 100 г) порівняно з іншими ягідними культурами. Однак, хоча червона смородина містить приблизно в 10 разів менше антоціанів (10-20 мг/100 г) і в 2-3 рази менше поліфенолів (190-320 мг/100 г), порівняно з чорною смородиною, її поглинання супероксидних радикалів і інгібування ксантиноксидази активність *in vitro* майже така ж висока, як і в екстрактах чорної смородини. Отже, червона смородина може стати надзвичайно важливою рослиною в дієтології та гомеопатичній медицині в майбутньому через надзвичайно високу активність поглинання радикалів.

Хаккінен та ін. виявили, що флавоноли домінують (44% від загальної кількості фенольних сполук) у ягодах червоної смородини, тоді як гідроксибензойна кислота домінує в білій смородині (54% від загальної кількості фенольних сполук). Домінуючими фенольними сполуками в червоній смородині є кверцетин (39,6% від загальної кількості фенолів), п-гідроксибензойна кислота (15,9%), кавова кислота (14,4%) і п-кумарова кислота (12,1%). Хоча в інших дослідженнях повідомлялося, що кількість ферулової, р-кумарової та кавової кислот однакова. У білій смородині переважають п-гідроксибензойна кислота (53,7%), кавова кислота (16,1%) і п-кумарова кислота (14,4%). Проте Störr і Herrmann (1975) повідомили, що п-кумарова кислота домінує в білій смородині і що кількість п-гідроксибензойної кислоти є відносно низькою. Відмінності можна пояснити різними стадіями дозрівання, різними сортами та умовами вирощування.

Ціанідин 3-рутинозид, дельфінідин 3-рутинозид, дельфінідин 3-глюкозид і ціанідин 3-глюкозид є домінуючими антоціанами в чорній смородині, тоді як найбільш поширеними антоціанами в червоній смородині є ціанідин 3-глікозиди. (рис. 1.1) [7].

У хімічному класі антоціанів найбільш поширеними агліконами як у чорній, так і в червоній смородині є дельфінідин і ціанідин. Серед них ціанідин менш стійкий, тому однією з цілей селекції є створення сортів із більшим

вмістом дельфінідину в плодах, а потім і в соках. В сортах червоної смородини домінують похідні ціанідину.

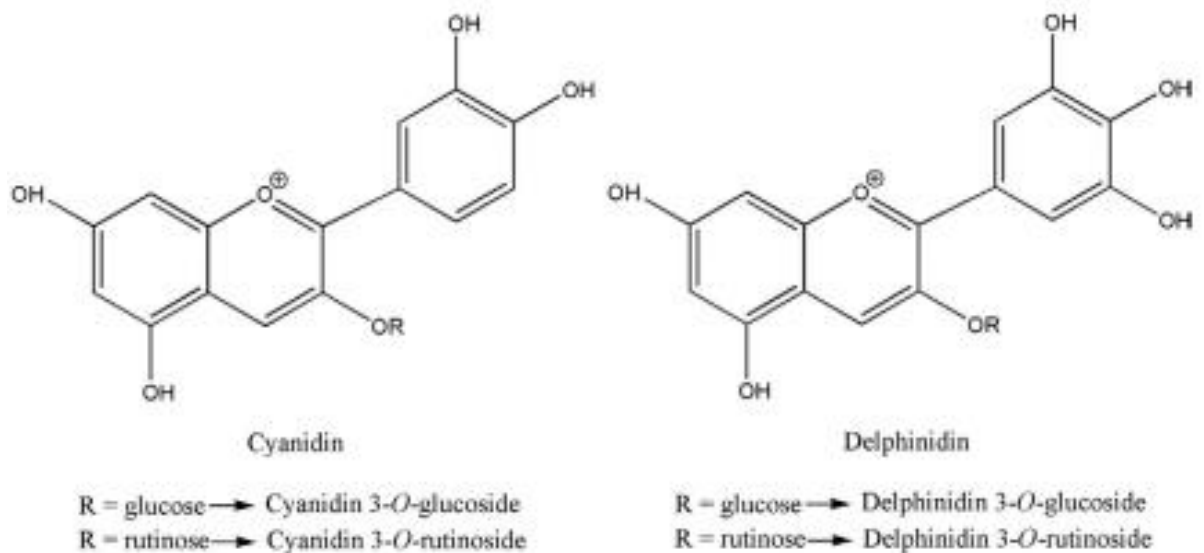


Рис. 1.1. Антоціани, виділені зі смородини чорної та смородини червоної.

Хімічний склад насіння. Менш дослідженим, на відміну від, плодів, є насіння. В свою чергу, насіння смородини, також є цінним джерелом олії, багаті поліненасиченими жирними кислотами. Шавікіна та ін. встановили, що вміст жирної олії в насінні різних сортів чорної та червоної смородини в Сербії, коливається від 18,2% до 27,7%, а розрахункова урожайність олії в промисловому виробництві складає від 26,4 до 212,4 кг/га [Шавікін та ін. (2013а)]

Лінолева кислота (ЛК) є основним компонентом жирної олії, а її вміст складає від 32,7 до 46,9% від загальної кількості жирних кислот. Також були виділені α-ліноленова кислота (АЛК; 2,9-32,0%), олеїнова кислота (ОА; 9,8-19,9%), γ-ліноленова кислота (GLA; 3,3 – 18,5%), пальмітинова кислота (РА; 4,4 – 8,1%) і стеаринова кислота (СА; 1,2 – 2,4%).

Слід зазначити, що дослідження вмісту насіння червоної смородини не проводились, що підтверджує актуальність теми.

1.2.4. Біологічна активність та фармакологічна дія

Широкий спектр лікувальної та профілактичної дії плодів смородини червоної на організм людини проявляється завдяки наявності в них комплексу найважливіших у біологічному відношенні сполук: антиоксидантів, низькомолекулярних фенольних сполук, вітамінів, поліфенольних сполук, органічних кислот, харчових волокон, мінеральних речовин. Вони забезпечують нормальну життєдіяльність та сприяють збереженню здоров'я та продовженню активного способу життя людини.

Завдяки цьому плоди смородини мають широкий спектр біологічної активності – антиоксидантна, протипухлинна, протизапальна, антибактеріальна, антимікотична та противірусна.

Дослідження *in vitro* показали, що екстракти смородини та їхні біологічно активні сполуки пригнічують проліферацію клітин, модулюють зупинку клітинного циклу та індукують апоптоз ракових клітин із помітною селективністю до нормальних клітин. Сік чорної та червоної смородини були протестовані на антипроліферативну дію проти лінії клітин шийки матки (HeLa), лінії клітин меланоми (Fem X), лінії клітин товстої кишки (LS 174), лінії клітин молочної залози (MCF-7) і лінії клітин простати (PC-3), і обидва досліджувані екстракти показали антипроліферативну активність залежно від дози. Екстракт чорної смородини, досліджено Jia et al. (2012), пригнічував проліферацію клітин раку шлунка SGC-7901 залежно від дози та часу, з IC₅₀ 12,7, 10,2 та 9,0 мг/мл протягом 12, 24 та 48 годин відповідно. Крім того, морфологічне дослідження показало зморщування клітин, утворення цитоплазматичних ниток, конденсацію ядерного хроматину та апоптоз клітин у присутності екстракту. У дослідженні на тваринах Vishayee et al. (2011) досліджували хіміопрофілактичну дію екстракту з шкірки плодів смородини чорної, багатих антоціанами, використовуючи модель канцерогенезу печінки

щурів. Екстракт залежно від дози зменшував частоту, загальну кількість, множинність, розмір і об'єм передпухлинних печінкових вузликів. Антигепатоканцерогенний ефект також підтверджено гістопатологічними, імуногістохімічними та механічними дослідженнями.

Крім того, плоди смородини червоної мають насамперед загальнозміцнюючу, детоксикуючу, антиоксидантну дію, а також протизапальну, жарознижувальну, м'яку жовчогінну та сечогінну дію. Вони корисні при застуді, деяких шлунково-кишкових, урологічних та судинних захворюваннях. Фахівці вважають, що червона смородина зменшує згортання крові (і тому корисна людям, схильним до тромбофлебітів).

Плоди та сік смородини червоної завдяки високому вмісту органічних кислот добре вгамовують спрагу, усувають почуття нудоти, зменшують температуру при гарячкових захворюваннях, підвищують апетит, збуджують перистальтику кишечника, є тонізуючим засобом, застосування якого показано після важких хвороб, що виснажують, з метою відновлення сил.

Пектинові речовини плодів смородини червоної сприяють очищенню організму від шлаків, а також зниженню рівня холестерину. Смородина червона корисна під час лікування алергічних захворювань, кандидозу, розсіяного склерозу та геморагічного васкуліта (містить значну кількість вітаміну Р).

З лікувально-дієтичною метою плоди смородини червоної застосовують при такому неприємному захворюванні, як фенілкетонурія (генетичне захворювання, при якому відбувається мутація гену, що відповідає за обмін фенілаланіну). Плоди ефективні при цьому захворюванні, оскільки містять значну кількість фенілаланіну (в 100 г плодів міститься 65 мг фенілаланіну).

Також плоди смородини червоної широко використовуються в харчовій промисловості для приготування компотів, соків, морсів, мармеладів, пастилик, джемів, настоянок.

РОЗДІЛ II.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Об'єкти дослідження

Об'єктами дослідження було насіння смородини червоної, яку збирали в Київській області, м. Бровари.

2.2. Макроскопічне дослідження

Макроскопічне дослідження проводили за допомогою цифрового світлового мікроскопа SIGETA Superior 10-220x LCD 1080P HDMI/USB/TV та програмного забезпечення Levenhuk для операційної системи Windows на персональному комп'ютері.

2.3. Мікроскопічне дослідження

Мікропрепарати виготовляли згідно загальновідомих методик – препарати витримували у мацеруючому розчині протягом 7–14 діб, обробляли гематоксиліном та сафраніном і готували до світлової мікроскопії, яку проводили із використанням світлового бінокулярного мікроскопу ULAB для дзеркальної камери Canon EOS D550, використовуючи збільшення x20, x40, x100 та x400.

2.4. Гістохімічні дослідження

Гістохімічні реакції проводили для ідентифікації ліпідів у насінні смородини червоної згідно загальновідомих методик, використовуючи реактив Судан III [1-3].

2.5. Отримання ліпофільної фракції.

Отримання ліпофільної фракції проводили за допомогою апарата Сокслета (рис. 2.1).

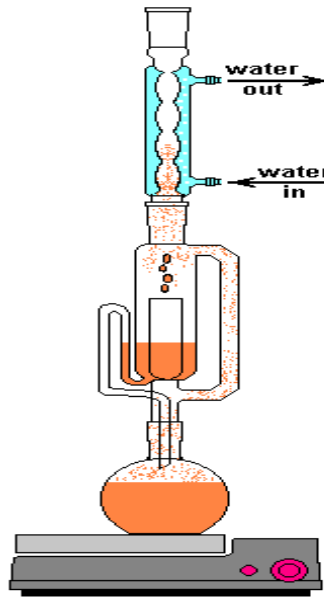


Рис. 2.1. Апарат Сокслета.

Суть метода полягає в екстракції ліпофільних речовин з сировини органічними розчинниками в апараті Сокслета, який складається з екстрактора, холодильника та колби приймача. Для цього аналітичну пробу подрібненої сировини поміщали в зважений паперовий конверт (патрон). Після чого патрон поміщали в екстрактор та заливали розчинником (хлороформом) поки рідина не переливалася через сифон в приймач. Колбу-приймач нагрівали на нагрівнику. Розчинник випаровувався піднімався в холодильник, де конденсувався і стікав в екстрактор. Рідина піднімалася до висоти сифона та зливалася в приймач.

Цей процес тривав до тих пір поки не залишалася жирна пляма від екстракту на фільтрувальному папері. Коли екстракція була закінчена, апарат охолоджували, розбирали, патрон з сировиною висушували до повного видалення розчинника та зважували. Вміст ліпофільних сполук у відсотках визначали за допомогою формули:

$$X = (a - b) \times 100 \times 100 / m \times (100 - W),$$

де: a – маса патрона з сировиною до екстракції, г; b – маса патрона з сировиною після екстракції, г; m – маса сировини, г; W – вологість сировини, %.

2.6. Якісне та кількісне визначення жирних кислот

Дослідження якісного та кількісного вмісту жирних кислот проводили методом газової хромато-мас- спектрометрії.

Аналітичну пробу сировини, подрібненої до порошкоподібного стану поміщали в скляну віалу та додавали в якості внутрішнього стандарту 2,0 мл 2% розчину ацетилхлориду в метанолі та розчин нонадеканової кислоти. Суміш ретельно перемішували та поміщали на ультразвукову баню при 80°C. Метильовання жирних кислот проводили впродовж 2 годин. Екстракцію метильованих жирних кислот проводили двічі гексан-ефірною сумаішню (у співвідношенні 1:1) в кількості 5 мл. Аліквоту екстракту використовували для хроматографічного дослідження.

Хроматографічне розділення проводили на газовому хромато-мас-спектрометрі - Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA) при наступних умовах: колонка капілярна DB-FFAP (30m×0,25mm×0,25µm, Agilent technologies, USA), температура випаровувача - 250°C, температура інтерфейсу - 280°C. Розділення проводили в режимі програмування температури - початкову температуру 150°C витримували впродовж 4 хв., піднімали з градієнтом 2°C/хв до 200°C, потім піднімали з градієнтом 10°C/хв до 230°C. Кінцеву температуру витримували впродовж 5 хв. 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 1,0 мл/хв. Ідентифікацію метилових ефірів жирних кислот проводили з використання бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту (30 мкг/зразок) в досліджувані проби [1, 2].

2.7. Кількісне визначення суми каротиноїдів

Кількісне визначення суми каротиноїдів проводили спектрофотометричним методом.

Аналітичну наважку сировини, подрібнену до 1 мм екстрагували ацетоном за постійного перемішування протягом 60 хв. Після закінчення екстрагування екстракт відділяли від нерозчинних часток центрифугуванням при 3000 об/хв протягом 10 хвилин. Надосадову рідину використовували для зняття спектрів поглинання на спектрофотометрі/флюориметрі DeNovix DS-11 FX+(DeNovix Inc.) при довжині хвилі 470нм, 662нм та 646нм у кюветі з товщиною шару 10 мм.

Загальний вміст каротиноїдів (Cx+c) визначали за формулами:

$$Ca = 11.75 A_{662} - 2.350 A_{645}$$

$$Cb = 18.61 A_{645} - 3.960 A_{662}$$

$$Cx+c = 1000 A_{470} - 2.270 Ca - 81.4 Cb/227$$

$$Ca = \text{Chlorophyll a}, Cb = \text{Chlorophyll b}, Cx+c = \text{Total carotene [11]}.$$

2.8. Якісне та кількісне визначення фітостеролів.

Ідентифікацію та кількісне визначення стероїдних сполук проводили методом газової хроматографії/маспектрометрії (ГХ/МС).

Пробопідготовка та умови хроматографування: 0,2-1,0 г подрібненої сировини поміщали у віалу об'ємом 20 мл, додавали тридекан в якості внутрішнього стандарту та 10 мл метиленхлориду в якості розчинника. Віалу витримували протягом 3 год в ультразвуковому екстракторі або протягом доби при кімнатній температурі. Аліквоту одержаної витяжки (10 мл) переносили до віали та концентрували, продуваючи потоком особливо чистого нітрогену (швидкість потоку – 100 мл/хв.) до залишкового об'єму витяжки 10 мкл.

Експеримент проводили на хроматографі Agilent Technologies 6890 з маспектрометричним детектором 5973 з капілярною колонкою HP-5ms (діаметр 0,25 мм, довжина – 30 м). Швидкість газу-носія (гелію) становила 1,0 мл/хв., температура нагрівача вводу проби – 350°C, температура термостату програмувалася від 150°C до 300°C зі швидкістю 7 град/хв. Компоненти

ідентифікували з використанням бібліотеки мас-спектрів у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS та NIST.

Кількісний вміст стероїдів (X, мкг/г) визначали за методом внутрішніх стандартів за формулою:

$$X = \frac{P_1 \times 30}{P_2 \times m}$$

де P_1 – площа піка речовини, що вивчалася; 30 – маса внутрішнього стандарту,

що вводився в зразок, мкг; P_2 – площа піка стандарту; m – наважка сировини, г.

2.9. Статистична обробка отриманих результатів

Для отримання достовірних результатів залежно від умов аналізу та вимог математичного планування експериментальні дослідження здійснювали у 3–4 повторностях. Достовірні значення досліджуваних показників обчислювались статистичними методами аналізу та вказувались такі показники: середні квадратичні відхилення, коефіцієнти варіацій та довірчих інтервалів. У таблицях наведені середні статистично достовірні дані за 95%-й імовірності.

Для статистичної обробки отриманих даних застосовували комп'ютерний пакет програм – Microsoft Office 365 для Windows.

РОЗДІЛ III.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Макроскопічне та мікроскопічне дослідження насіння смородини червоної.

Сировиною для дослідження було висушене насіння смородини червоної (рис. 3.1а). У висушеному вигляді воно має розміри 0,25–0,35 см в довжину, 0,2–0,3 см і ширину (Рис. 3.1б). Після розмочування у воді розміри склали 0,45–0,5 см і 0,3–0,4 см відповідно (Рис.3.1в).

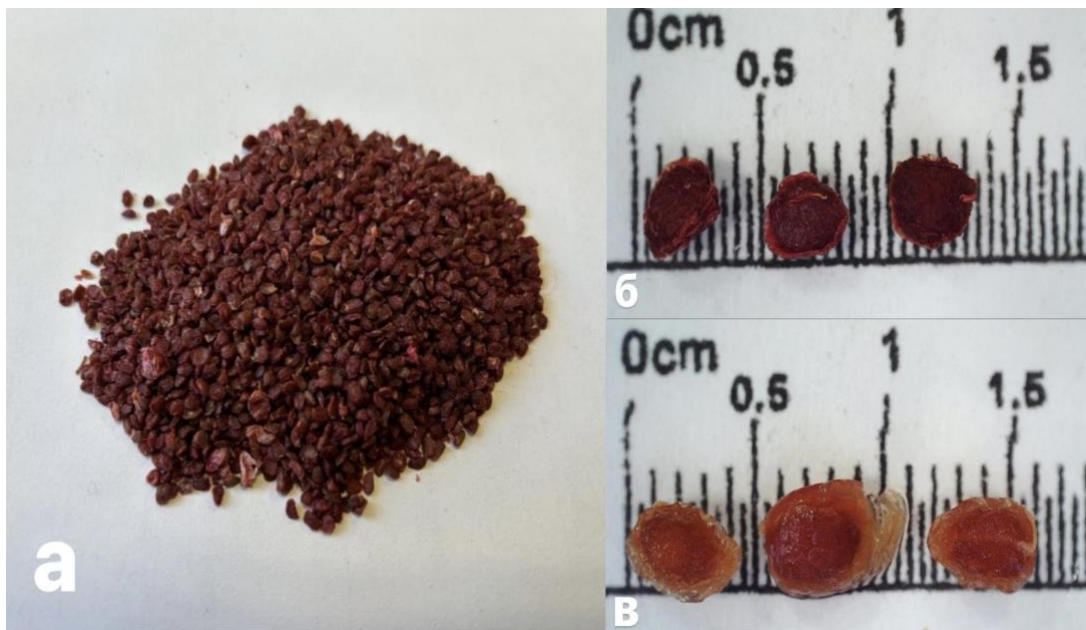


Рис. 3.1. Насіння смородини червоної: а – загальний вигляд сировини, б – у висушеному вигляді, в – після розмочування

Форма насіння еліптична, широко еліптична, яйцеподібна чи широко яйцеподібна. Верхівка насіння гостра, загострена або тупа; основа – тупа. Колір від темно-червоного, темно-коричневого до світло-помаранчевого.

Макроскопічне дослідження насіння показало, що поверхня зморшкувата, перфорована, утворена невеликими округлими западинами та ребрами по всій поверхні (рис. 3.2а, 3.2б).

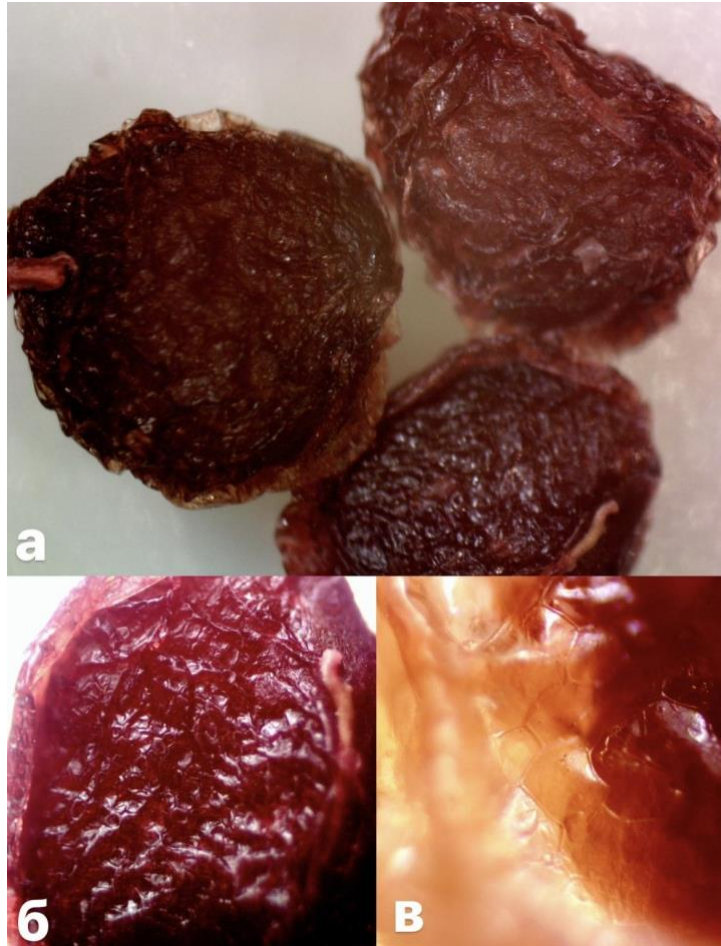


Рис. 3.2. Структура поверхні *Ribes rubrum*, а – зб. х20, б – зб. х40, в – зб.х100

Анатомічно *Ribes rubrum* насіння (пірени) складається ззовні всередину з ендокарпію, оболонки насіння, ендосперму та ембріона (рис.3.3.).

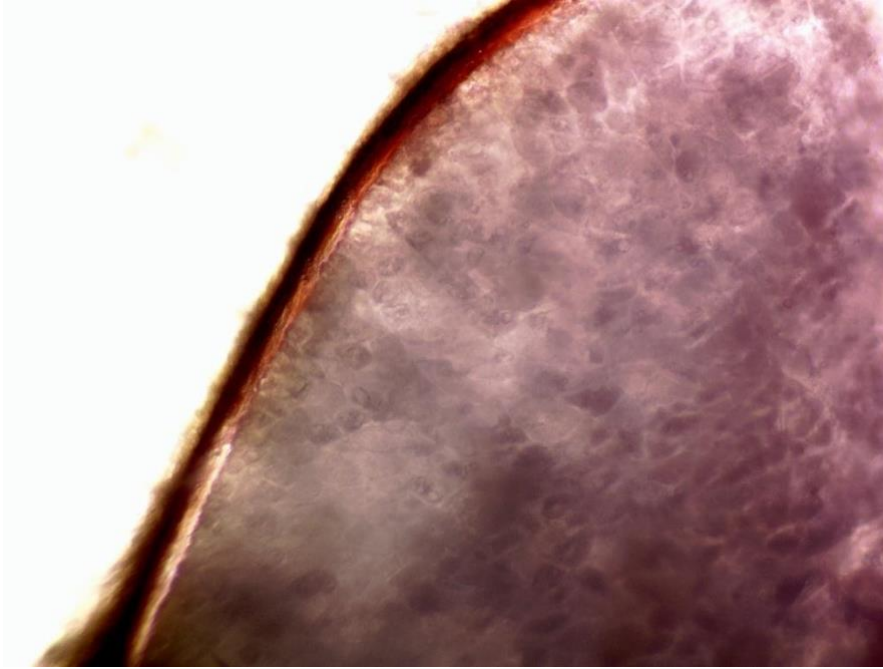


Рис. 3.3. Поперечний зріз насіння смородини червоної, 36.х100

Насіння вкладено в желатинову оболонку, яка складається з великих тонкостінних клітин. Ендокарпій твердий, грубий, складається з кількох шарів склеренхіматозних здерев'янілих клітин. Клітини оболонки насіння - паренхімні, 5-6-кутні, добре видимі, містять кутикулу, яка добре помітна у розмоченому стані насінини (рис. 3.4.)

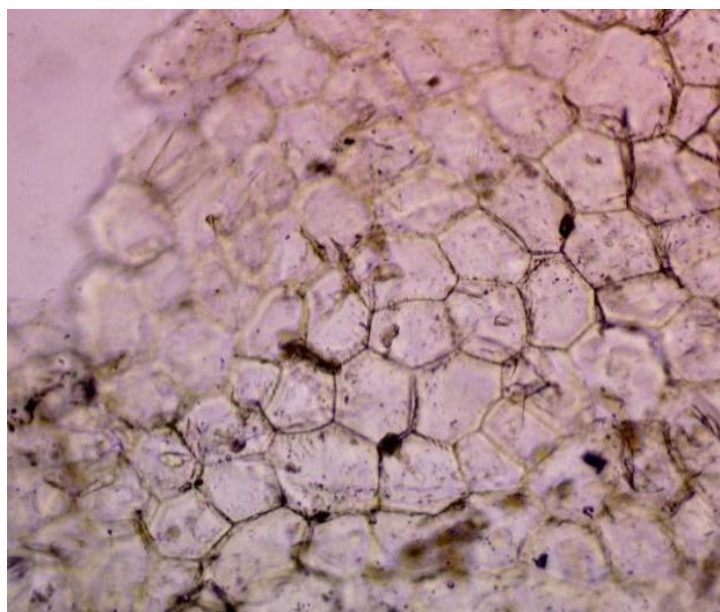


Рис. 3.4. Клітини епідерми насіння *Ribes rubrum* 36. х100

Клітини ендосперму великі, видовжені, тонкостінні, вільно розташовані (рис.3.5).

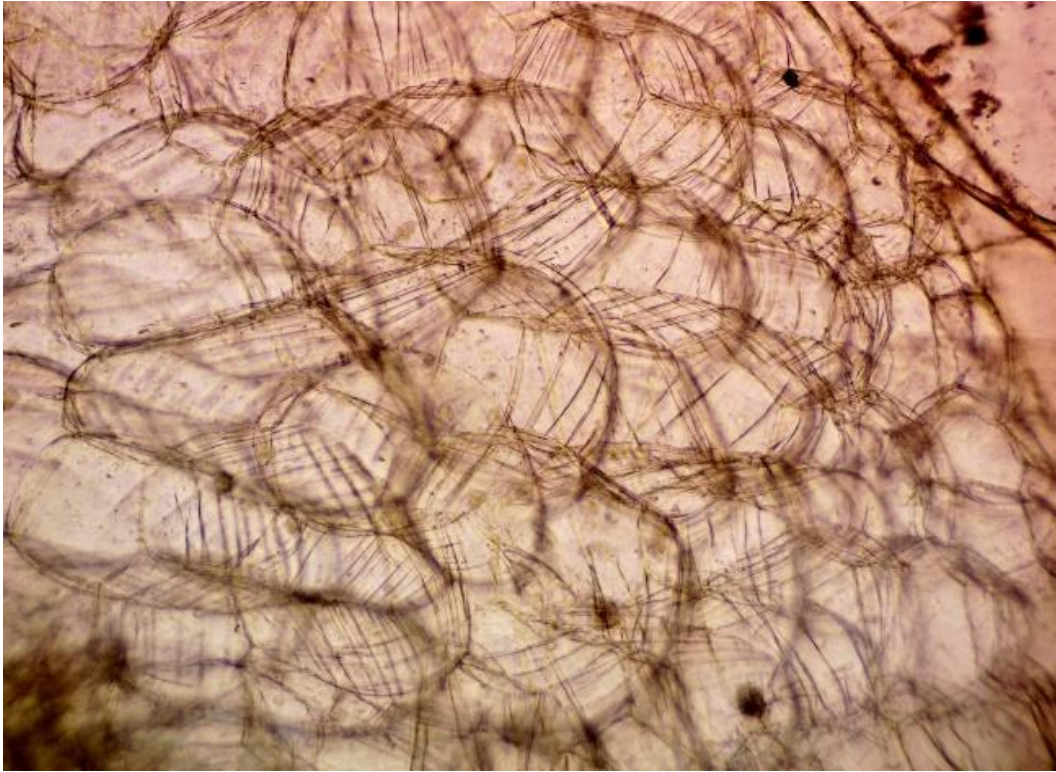


Рис. 3.5. Клітини ендосперму насіння *Ribes rubrum* Зб. x100

3.2. Гістохімічне дослідження.

Для ідентифікації та локалізації ліпофільних речовин (ліпідів) використовували реакцію з Суданом III. В результаті спостерігали зафарбовування жирів у помаранчевий колір як в клітинах епідерми (рис.3.6а), так і в клітинах ендосперму (рис.3.6б), що свідчить про наявність у досліджуваному насінні ліпідів.

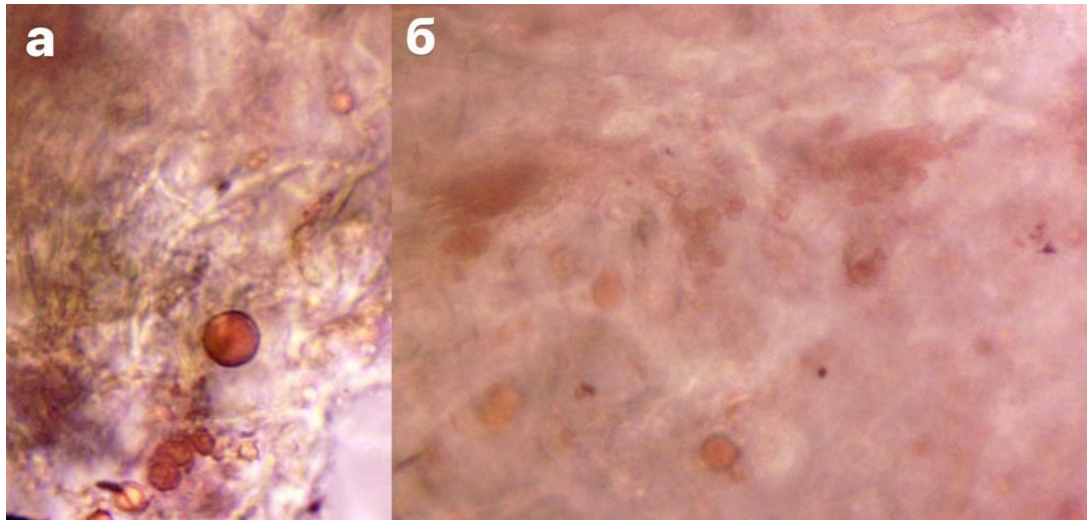


Рис. 3.6. Результат реакції ідентифікації ліпідів у насінні *Ribes rubrum*: а – ліпіди в клітинах епідерми, б – ліпіди в клітинах ендосперму, Зб. x100

3.3. Якісне та кількісне визначення жирних кислот

До складу ліпофільної фракції входять жирні кислоти, яких в природі нараховується більше 200. Їх поділяють на три групи – насичені, мононенасичені та поліненасичені кислоти.

В результаті ідентифікації та кількісного визначення жирних кислот в насінні смородини червоної методом газової хромато-мас-спектрометрії було встановлено наявність 9 жирних кислот, з яких: насичених – 6 (міристинова, пальмітинова, стеаринова, бегенова, лігноцеринова, арахінова), мононенасичених – 1 (олеїнова) та поліненасичених – 2 (лінолева та ліноленова) (табл. 3.1).

Таблиця 3.1.

**Якісний та кількісний вміст жирних кислот
в насінні смородини червоної**

№	Сполука	Час виходу, хв	Ід	Площа піка	вміст, %	вміст мкг/г
Насичені жирні кислоти						
1.	Міристинова кислота (Methyl tetradecanoate)	9,86	93	1300888	1,00	23,94
2.	Пальмітинова кислота (Hexadecanoic acid, methyl ester)	14,55	97	27992611	21,62	515,09
3.	Стеаринова кислота (Octadecanoic acid, methyl ester)	19,14	99	10913176	8,43	200,81
4.	Бегенова кислота (Docosanoic acid, methyl ester)	27,43	93	476539	0,37	8,77
5.	Nonadecanoic acid, methyl ester	21,3	BC	10450999		
6.	Лігноцеринова кислота (Tetracosanoic acid, methyl ester)	31,19	98	861169	0,67	15,85
7.	Арахінова кислота (Eicosanoic acid, methyl ester)	23,45	98	759314	0,59	13,97
Мононенасичені жирні кислоти						
8.	Олеїнова кислота (9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester)	18,7	99	4398484	3,40	80,94
Поліненасичені жирні кислоти						
9.	Лінолева кислота (9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester)	18,44	99	57071789	44,08	1050,17
10.	Ліноленова кислота (9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-)	18,59	99	44528701	34,39	819,37
	Сума насичених ЖК				32,68	778,43
	Сума ненасичених ЖК				81,87	1950,48
	Сума поліненасичених ЖК				78,47	1869,54

В досліджуваних нами зразках за кількісним вмістом з насичених жирних кислот переважають пальмітинова (515,09 мкг/г) та стеаринова (200,81 мкг/г) кислоти, а з ненасичених лінолева (1050,17 мкг/г) та ліноленова (819,37 мкг/г). Таким чином, в ліпофільній фракції з насіння смородини червоної вміст ненасичених жирних кислот (1950,48 мкг/г) в 2,5 рази перевищує вміст насичених кислот (778,43 мкг/г) (рис.3.7.).

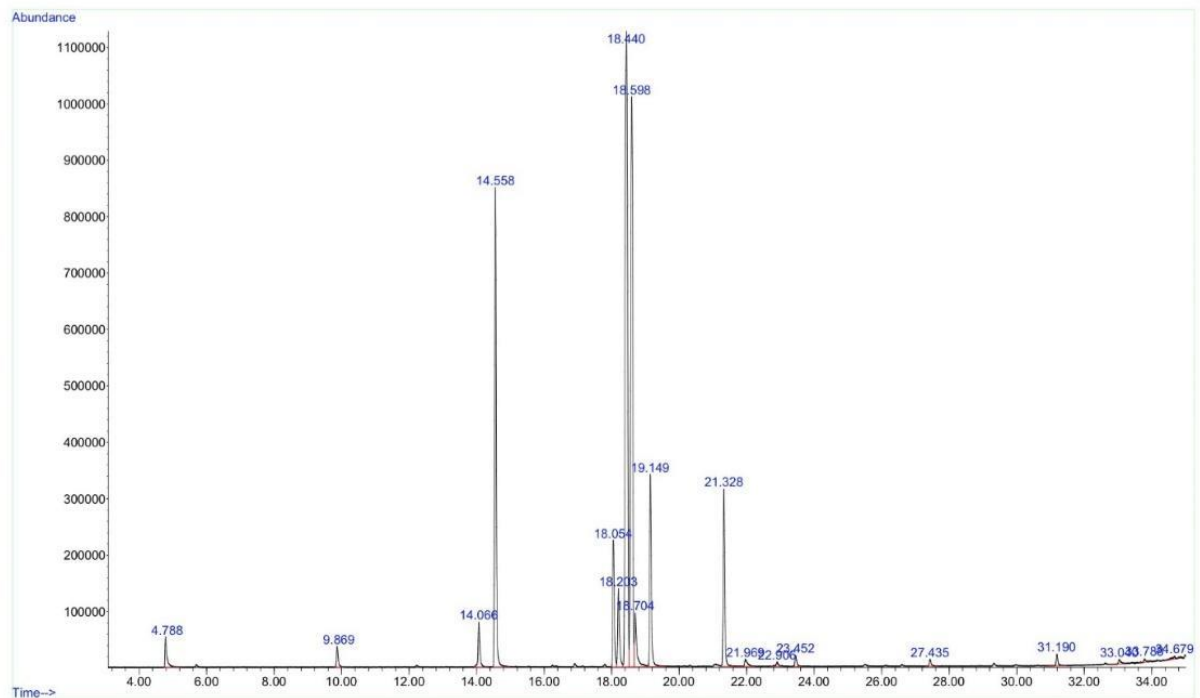


Рис.3.7. Хроматограма жирних кислот насіння червоної смородини

Встановлено, що поліненасичені жирні кислоти не синтезуються в організмі людини, а поступають тільки з їжею. Вони приймають участь в утворенні простагландинів та гормонів, в метаболізмі вітамінів, будові мембрани клітин та роботі серцево-судинної системи, а також проявляють антисклеротичну, естрогенну, антидепресантну, протизапальну, антиоксидантну дію [27].

3.4. Кількісне визначення суми каротиноїдів

Ліпофільна фракція містить пігменти – каротиноїди та хлорофіли. В рослинах каротин локалізується в хлоропластах листків та в хромопластах плодів разом з хлорофілом.

Кількісний вміст цих речовин визначали спектрофотометричним методом на спектрофотометрі/флюориметрі DeNovix DS-11 FX+(DeNovix Inc.) при довжині хвилі 470нм, 662нм та 646нм (рис.3.8.).

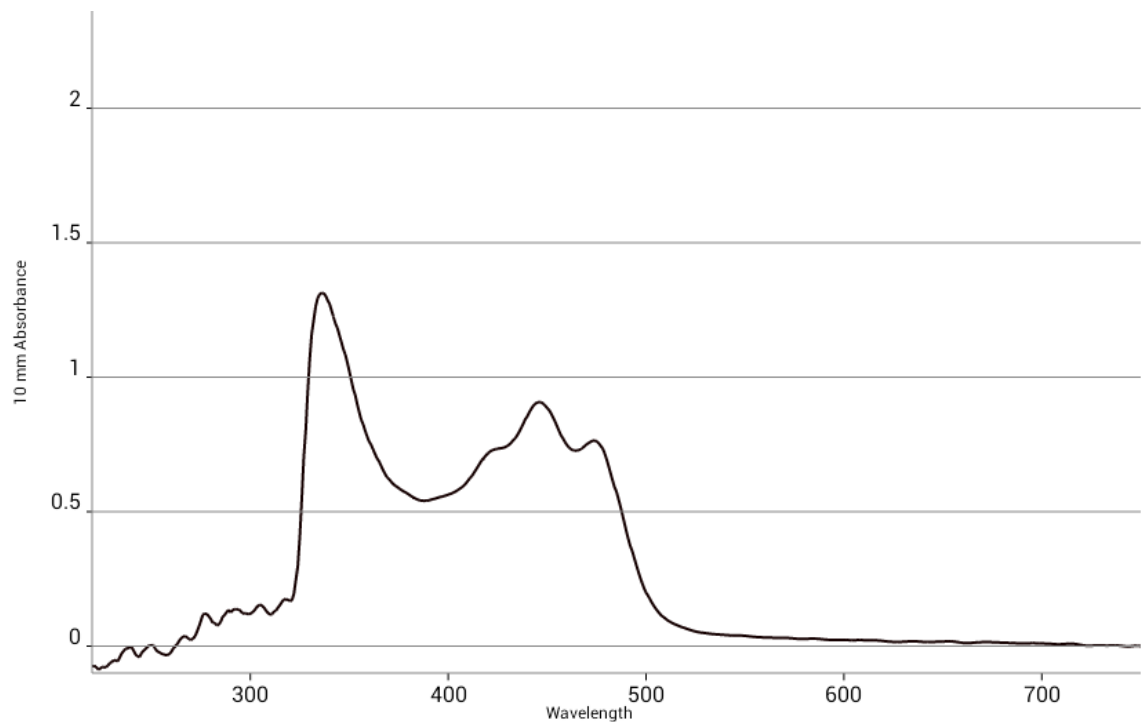


Рис. 3.8. Електронний спектр поглинання ацетонової витяжки з насіння смородини червоної

Для того щоб розрахувати сумарний вміст каротиноїдів необхідно визначити кількісний вміст хлорофілу а та хлорофілу b по формулам:

$$C_a = 11.75 \times A_{662} - 2.350 \times A_{645} = 11,75 \times 0,0114 - 2,35 \times 0,0158 = 0,0969 \text{ мкг/мл}$$

$$C_b = 18.61 \times A_{645} - 3.960 \times A_{662} = 18,65 \times 0,0158 - 3,690 \times 0,0114 = 0,24953 \text{ мкг/мл}$$

$$C_{x+c} = 1000 \times A_{470} - 2.270 \times C_a - 81.4 \times C_b / 227 = 1000 \times 0,7508 - 2,270 \times 0,0969 - 81,4 \times 0,24953 / 227 = 750,49 \text{ мкг/мл}$$

Результати досліджень відображені в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2.

Вміст хлорофілів та каротиноїдів в насінні смородини червоної

Речовина	Вміст, мкг/мл	Вміст, мкг/г
Хлорофіл a (Ca)	0,0969	0,21025
Хлорофіл b (Cb)	0,24953	0,540486
Сума каротиноїдів (Cx+c)	750,49	1629,731

Отримані результати свідчать про те, що дану сировину можна буде використовувати для отримання препаратів з ранозагоювальною, протизапальною, імуномодулюючою, антиоксидантною дією та для покращення гостроти зору.

3.5. Якісне та кількісне визначення фітостеролів.

Ідентифікацію та кількісне визначення стероїдних сполук проводили методом газової хроматографії/маспектрометрії (ГХ/МС) на хроматографі Agilent Technologies 6890 з маспектрометричним детектором.

Методом ГХ-МС було ідентифіковано 6 фітостеролів, а саме: кампестерол, ергостанол, стигмастерол, β -ситостерол, стигмастанол, андрост-5,15-ен-3-ол ацетат. Встановлено, що за кількісним вмістом переважає β -ситостерол (222,402 мкг/г), а вміст стигмастеролу та ергостанолу є найменшим – 1,151 мкг/г та 9,918 мкг/г відповідно.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що основним компонентом фітостеролів у насінні смородини червоної є β -ситостерол, який проявляє гіпоглікемічну, антиоксидантну, гепатопротекторну та гіпохолестеринемічну дію [9]. Крім того, дана методика дає можливість ідентифікувати та кількісно визначити вміст сквалену, α -, β - та γ - токоферолів в сировині (рис. 3.9, табл. 3.3).

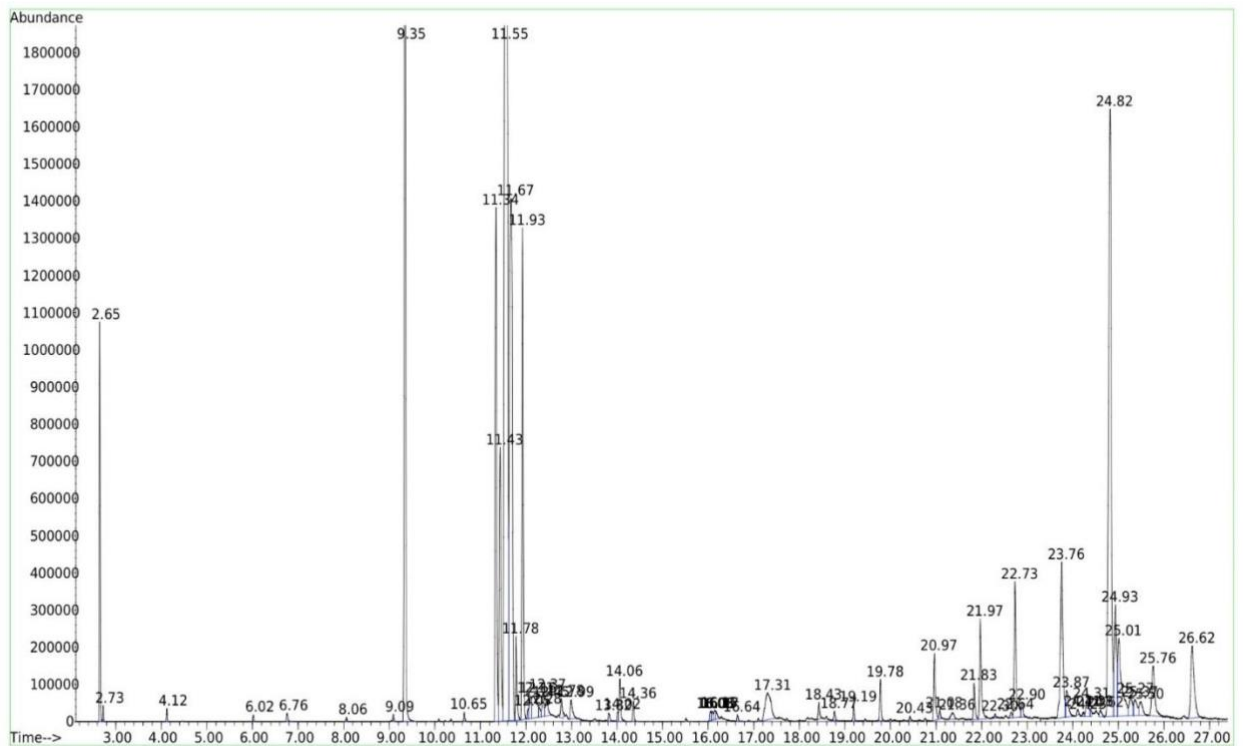


Рис. 3.9. Хроматограма визначення фітостеролів в насінні червоної смородини

Таблиця 3.3.

Якісний та кількісний вміст метиленхлоридної витяжки з насіння смородини червоної

№ п.п.	Сполука	Час виходу	% схожості	Площа піків	Вміст мкг/г
1	Тридекан	2,66	IS	12741821	IS
2	Сквален	19,77	91	2343027	7,781
3	α -Токоферол	20,95	96	4415081	14,662
4	β -Токоферол	21,83	96	2483141	8,246
5	γ -Токоферол	21,97	99	7089208	23,542
6	Кампестерол	23,76	95	16125402	53,549
7	Ергостанол	23,87	99	2986771	9,918
8	Стигмастерол	24,09	99	346578	1,151
9	β - Ситостерол	24,82	99	66972297	222,402
10	Стигмастанол	24,93	99	10514364	34,916
11	Андрос-5,15-диен-3-ол ацетат	25,01	95	12540050	41,643

Проведені дослідження свідчать про те, що в насінні смородини червоної за кількісним містом переважає γ -токоферол - 23,542 мкг/г, дещо менше α - токоферолу (14,662 мкг/г) та β -токоферолу (8,246 мкг/г). Відомо, що токоферолі проявляють антиоксидантну та імуномодулюючу дію, а також впливають на розвиток та функцію статевих залоз та зародку [10].

Вміст сквалену складає - 7,781 мкг/г. Це ациклічний тритерпен із 6-ма подвійними зв'язками, з якого синтезується холестерин, гормони та вітамін D. Сквален проявляє антиоксидантну, імуностимулюючу, радіопротекторну, ранозагоювальну дію та нормалізує рівень холестерину [26].

Отримані дані підтверджують перспективність насіння смородини червоної для подальших фармакогностичних досліджень та встановлення фармакологічної активності.

Висновки

1. Встановлені основні макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки насіння смородини червоної.
2. Гістохімічними реакціями ідентифіковані жирні олії в епідермі та ендоспермі досліджуваного насіння.
3. Спектрофотометричним методом встановлений загальний вміст каротиноїдів, який складає 1629,731 мкг/г.
4. В ліпофільній фракції з насіння смородини червоної було ідентифіковано 9 жирних кислот, з яких: насичених – 6, мононенасичених – 1 та поліненасичених – 2, при чому вміст ненасичених жирних кислот (1950,48 мкг/г) в 2,5 рази перевищує вміст насичених кислот (778,43 мкг/г). Також, було ідентифіковано 6 фітостеролів, з яких за кількісним вмістом переважає β -ситостерол (222,402 мкг/г).
5. Отримані дані підтверджують перспективність насіння смородини червоної для подальших фармакогностичних досліджень та встановлення фармакологічної активності.



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК ВИЩОЇ ОСВІТИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА ФАРМАКОГНОЗІЇ ТА НУТРИЦІОЛОГІЇ

СЕРТИФІКАТ

№ 9

Цим засвідчується, що

Алієва С. Е.

брав(ла) участь у роботі VI Міжнародної
науково-практичної Інтернет-конференції

**"СУЧАСНІ ДОСЯГНЕННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ НАУКИ
В СТВОРЕННІ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЇ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ
І ДІЄТИЧНИХ ДОБАВОК, ЩО МІСТЯТЬ КОМПОНЕНТИ
ПРИРОДНОГО ПОХОДЖЕННЯ"**

(тривалість - 6 годин)

12 квітня 2024 р., м. Харків, Україна

В.о. ректора НФаУ
д. фарм. н., проф.

Проректор з науково-педагогічної
роботи НФаУ, д. фарм. н., проф.

Завідувач кафедри фармакогнозії
та нутриціології НФаУ, д. фарм. н., проф.



Алла КОТВИЦЬКА

Інна ВЛАДИМИРОВА

Вікторія КИСЛИЧЕНКО

SUMMARY

Aliieva Sabina

STUDY OF LIPOPHILIC SUBSTANCES OF RED CURRANT SEEDS

Department of Pharmacognosy and Botany

Scientific supervisor: PhD, as. professor Pidchenko Vitalii

Keywords: *Ribes rubrum*, lipophilic substances, seeds

Introduction. In recent years, great attention of researchers has been paid to the study of the lipophilic fraction isolated from medicinal plant raw materials and the creation of medicines with various pharmacological effects based on it. The fraction may include fatty acids, squalene, phytosterols, chlorophylls, tocopherols and carotenoids. So, unsaturated fatty acids reduce the level of cholesterol in the blood, reduce the risk of heart diseases, increase the formation of hormones, and exhibit antioxidant and anti-inflammatory properties; squalene, fat-soluble vitamins and sterols are natural antioxidants, have anti-inflammatory, antimicrobial, immunomodulatory and antitumor properties. During the production of juices and jams from red currant berries in the food industry, a significant amount of waste remains, which includes seeds that are not used later. In this regard, the study of lipophilic substances of red currant seeds (*Ribes rubri semina*) is relevant for the purpose of complex processing of raw materials and the creation of medicinal products with different biological activities.

Materials and methods. Research objects are the *Ribes rubrum* ceeds. Research subject: phytochemical study of *Ribes rubrum* ceeds. Methods: literature monitoring, macro- and microscopic, histochemical and phytochemical (spectrophotometry, chromatography).

Results. The main macro- and microscopic diagnostic features of red currant seeds have been established. Fatty oils in the epidermis and endosperm of the studied seeds were identified by histochemical reactions. The total content of carotenoids (1629.731 µg/g) was determined by the spectrophotometric method. In the lipophilic fraction from red currant seeds, 9 fatty acids were identified, of which: saturated –

6, monounsaturated – 1 and polyunsaturated – 2; and the content of unsaturated fatty acids (1950.48 $\mu\text{g/g}$) is 2.5 times higher content of saturated acids (778.43 $\mu\text{g/g}$). Also, 6 phytosterols were identified, of which β -sitosterol (222,402 $\mu\text{g/g}$) predominated in terms of quantitative content.

Conclusions. The obtained data confirm the perspective of red currant seeds for further pharmacognostic studies and the establishment of pharmacological activity.