

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

Кафедра фармакогнозії та ботаніки

КВАЛІФІКАЦІЙНА ВИПУСКНА РОБОТА

На тему: Фармакогностичне дослідження *Trigonella foenum-graceum* L.

Виконав: здобувач вищої освіти 5 курсу, групи 98М1А
напряму підготовки (спеціальності)

226 «Фармація, промислова фармація»
освітньої програми фармація
Палієнко Є.С.

Керівник: к. фарм. н., доцент Підченко В.Т.

Рецензент: к.фарм.н., доцент Козіко Н.О.

Київ – 2023 рік

ЗМІСТ

| | |
|--|----|
| СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ | 3 |
| ВСТУП | 4 |
| РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ | 7 |
| 1.1. Ботанічна характеристика <i>Trigonella foenum-graceum</i> | 7 |
| 1.2. Поширення та історія застосування гуньби сінної | 8 |
| 1.3. Хімічний склад <i>Trigonella foenum-graesium</i> | 10 |
| 1.4. Біологічна активність та фармакологічна дія | 14 |
| РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ | 24 |
| 2.1. Об'єкти дослідження | 24 |
| 2.2. Макроскопічне дослідження | 24 |
| 2.3. Мікроскопічне дослідження | 24 |
| 2.4. Визначення показника набухання. | 24 |
| 2.5. Ідентифікація основних груп БАР в сировині | 25 |
| 2.5. Статистична обробка отриманих результатів | 25 |
| РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ | 26 |
| 3.1. Макроскопічне дослідження <i>Trigonella foenum-graesium</i> | 26 |
| 3.2. Мікроскопічне дослідження сировинних частин <i>Trigonella foenum-graesium</i> | 27 |
| 3.3. Ідентифікація БАР в сировинних частинах гуньби сінної | 32 |
| 3.3.1. Полісахариди та слиз | 33 |
| 3.3.2. Сапоніни | 35 |
| 3.3.3. Флавоноїди і фенольні сполуки. | 36 |
| Висновки | 38 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ | 39 |
| SUMMARY | 44 |

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АФК – активні форми кисню

БАР – біологічно активні речовини

ДФУ – Державна Фармакопея України

ЛПНЩ – ліпопротеїни низької щільності

ЛРС – лікарська рослинна сировина

T. foenum-graecum – *Trigonella foenum-graceum* L.

ВСТУП

Актуальність

Гуньба сінна (*Trigonella foenum-graecum* L.) — це лікарська рослина, яка з давніх часів використовується як приправа до їжі, а також як лікарська рослина у різних країнах світу завдяки своїм численним терапевтичним властивостям.

Відомо, що гуньба є однією з найдавніших у світі лікарських трав, насіння та листя якої використовують для лікування різних захворювань [30]. Листя та насіння *T. foenum-graecum* широко використовуються для виготовлення екстрактів і порошку для терапевтичного застосування в медицині країн Сходу. Встановлено, що *T. foenum-graecum* має антифертильну, протиракову, антипаразитарну, гіпоглікемічну, гіполіпідемічну, гіпохолестеринемічну та антимікробну дію [12, 30, 31, 43].

В Україні офіційною сировиною гуньби є насіння. Воно має характерну ромбовидну форму золотисто-жовтого кольору. Незважаючи на те, що гуньба більш відома своїм насінням, аналіз літературних джерел вказує на те, що інші частини рослини, зокрема листя та стебла також використовують у медицині різних країн. Встановлено, що ці частини рослини також містять в своєму складі різні біологічно активні речовини (БАР), зокрема алкалоїди, сапоніни, дубильні речовини, феноли та ін. [28, 30, 48]. Результати сучасних досліджень показали, що БАР, виділені з різних частин *Trigonella foenum-graecum* проявляють різні фармакологічні ефекти при пероральному застосуванні [48].

Слід зазначити, що фармакогностичних досліджень різних частин гуньби сінної, зібраної на території України, недостатньо, зважаючи на те, що їх використання може розширити використання цієї рослини як лікарської та як джерело різних сполук.

Мета дослідження

Провести комплексне фармакогностичне дослідження перспективних видів сировини *Trigonella foenum-graecum*, а саме листя, стебел і коренів, для встановлення основних діагностичних ознак лікарської рослинної сировини, а також ідентифікації основних груп біологічно активних речовин у кожному з них.

Завдання дослідження:

- Провести макроскопічний аналіз і встановити основні видоспецифічні ознаки *Trigonella foenum-graecum*, зібраної на території України;
- Визначити основні морфологічні особливості будови сировинних частин гуньби сінної, а також порошковий препарат з цих частин за допомогою мікроскопічного аналізу;
- Визначити та порівняти якісний склад сировинних частин *Trigonella foenum-graecum*;
- Встановити індекс набухання для кожного виду сировини

Предмет дослідження:

Фітохімічне дослідження сировинних частин *Trigonella foenum-graecum*

Об'єкт дослідження:

Листя, стебла і корені *Trigonella foenum-graecum*

Методи дослідження:

Макро- і мікроскопічне дослідження морфології будови сировинних частин проводили із використанням світлової мікроскопії (СМ).

Ідентифікацію основних груп БАР проводили за загальновідомими реакціями [1-4]. Індекс набухання кожного виду сировини проводили згідно вимог ДФУ [1].

Новизна та значення одержаних результатів

Визначені видоспецифічні макроскопічні ознаки гуньби сінної. Проведене мікроскопічне дослідження морфологічної будови листя, стебел і коренів, а також порошку сировинних частин *Trigonella foenum-graceum*. В кожному виді сировини ідентифіковані біологічно активні речовини, а саме полісахариди, слизи, сапоніни та флавоноїди. Вперше визначені індекси набухання кожного виду сировини гуньби сінної. Отримані результати можуть бути використані при розробці нормативної документації та фармакопейної статті на сировину, а також при викладанні дисциплін «фармакогнозія» та «фармацевтична ботаніка» у вищих навчальних закладах медичного та фармацевтичного профілю України.

Апробація результатів дослідження

Результати роботи апробовані на круглих столах, організованих кафедрою фармакогнозії та ботаніки НМУ ім. О.О. Богомольця.

Структура роботи

Загальна кількість сторінок – 46, кількість розділів – 3, кількість використаних джерел – 49.

РОЗДІЛ І.

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Ботанічна характеристика *Trigonella foenum-graceum*.

Систематичне положення виду *Trigonella foenum-graceum* L. (гуньба сінна, пажитник, фенугрек, шамбала) [23, 33]:

Царство – Рослини (Plantae)

Відділ – Покритонасінні (Magnoliophyta)

Клас – Дводольні (Magnoliopsida)

Порядок – Бобоцвіті (Fabales)

Родина – Бобові (*Fabaceae*)

Рід – Гуньба (*Trigonella*)

Вид – Гуньба сінна (*Trigonella foenum-graceum*)



Рис. 1.1. *Trigonella foenum-graceum* у природі

1.2. Поширення та історія застосування гуньби сінної

Незважаючи на прогрес у розвитку медицини, рослинні культури все ще широко використовуються для лікування та профілактики різноманітних захворювань завдяки своїм лікувальним і поживним властивостям

Листя та насіння гуньби сінної споживають у різних країнах світу з різними цілями, наприклад, у медичних цілях (для лікування діабету, зниження рівня цукру та холестерину в крові, проти деяких форм раку, проти мікробів тощо), приготування їжі (як приправа до страв, ароматичний сир у Швейцарії, сироп і гіркий напій у Німеччині, змішаний порошок насіння з борошном для приготування плоского хліба в Єгипті, каррі, барвники, молоді саджанці, які їдять як овоч, тощо), смажене зерно як заміник кави (в Африці), а також у парфумерній промисловості тощо [30]. Гуньба сінна може бути дуже корисною бобовою культурою для включення в короткострокову сівозміну та для сіна та силосу на корм худобі, для фіксації азоту в ґрунті та його родючості тощо [19, 47]. Насіння гуньби сінної відоме і цінується як лікарська сировина з дуже давніх часів. Гуньба сінна як хемургічна культура має широке застосування в промислових цілях. Вважається, що його насіння представляє комерційний інтерес як джерело стероїду діосгеніну, який є важливим для фармацевтичної промисловості [48]. У наш час гуньба сінна широко культивується як лікарська рослина. Відомо, що слиз насіння має багато лікарських властивостей і використовується як тонізуючий, пом'якшувальний, вітрогонний, сечогінний, в'яжучий, відхаркувальний, відновлюючий засіб, а також як афродизіак. Насіння використовується в різних країнах для лікування виразок у роті, потрісканих губ і при подразненні шлунка [43]. В традиційній медицині певних країн Сходу насіння використовуються як тонізуючий засіб і засіб, що знижує рівень цукру в крові [47].

Trigonella foenum-graecum належить до родини бобових і є самозапильною однорічною трав'янистою ароматичною культурою [19]. Його походження - Індія та Північна Африка; однак зараз він широко культивується

в Північній Африці, Європі, Південній Азії, Аргентині та Австралії. Гуньба сінна в основному виробляється в Індії, на частку якої припадає 80% загального світового виробництва [36]. Насіння та листя гуньби використовуються як спеції та інгредієнт у кулінарії в кількох країнах. Його використовують як функціональну та традиційну їжу, а також як нутрицевтик. Через високий вміст клітковини, білка та камеді гуньба останнім часом використовується як харчовий стабілізатор і емульгатор [30].

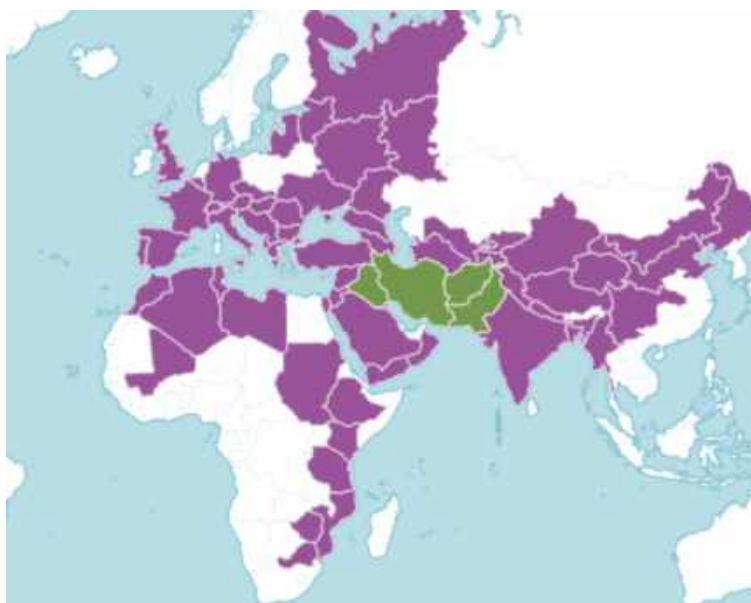


Рис. 1.2. Ареал поширення *Trigonella foenum-graecum*: зелений – природній ареал, фіолетовий – культивований ареал [33]

Насіння гуньби проростає через три дні після посіву у відповідний ґрунт. Сіянець ростуть прямо або напівпрямостоячими до 30-60 см у висоту [43]. Це самозапильна однорічна культура, яка сприяє живленню ґрунту та фіксації азоту. Гуньба має жовто-коричневі стручки, що містять від 10 до 20 насінин. Насіння гуньби коричнево-жовтого кольору, дрібне, ромбовидної форми, тверде, [43] в довжину 3-6 мм, в ширину 2-5 мм і товщину 2 мм [30]. Неочищене насіння гуньби відоме своїм приємним смаком. Насіння клейке, волокнисте та липке за структурою.

Перше використання *Trigonella foenum-graecum* як лікарської рослини в Центральній Азії задокументовано приблизно 4000 роки до нашої ери.

Переваги та лікувальні властивості були знайдені в одному з найдавніших медичних документів, папірусі Еберса. Традиційно *T. foenum-graecum* має довгу історію медичного використання в аюрведичній та китайській медицині як заспокійливий засіб, стимулятор лактації та проносний засіб [16]. У Стародавньому Римі гуньба використовувалась для полегшення пологів, менструальних судом і як метаболічний засіб [34]. У Стародавньому Єгипті гуньба використовувалась для збільшення лактації у годуючих жінок, а сучасні єгиптянки все ще споживають це насіння для полегшення менструальних болів. Його також використовували як народні ліки для лікування целюліту, фурункулів і туберкульозу. У 19 столітті гуньба залишалась основним інгредієнтом у патентованих ліках для лікування дисменореї та симптомів постменопаузи [47]. Крім того, встановлено, що драглиста текстура насіння гуньби може мати певний місцевий ефект для заспокоєння роздратування, спричиненого екземою [48]. Традиційна китайська медицина також використовує насіння гуньби при захворюваннях нирок та при камінні у нирках, оскільки гуньба зменшує кількість оксалату кальцію, який є кристалом, що сприяє утворенню каменів у нирках. Гуньба також відома тим, що допомагає очистити застійні явища та використовується як детоксикаційний засіб для видалення токсинів, мертвих клітин і білка, що затримується, через лімфатичну систему [47].

1.3. Хімічний склад *Trigonella foenum-graecum*

Насіння гуньби на 45-60% складається з вуглеводів, у тому числі слизової клітковини (галактомананів), 20-30% - білків з високим вмістом триптофану та лізину, 5-10% жирних олій (ліпідів). Було виявлено, що в насінні присутній діосгенін (рис.1.1д), алкалоїди групи піридину, головним чином холін (0,5%), тригонеллін (0,2-0,38%), генціанін і карпаїн, флавоноїди апігенін, орієнтин, лютеолін, кверцетин, вітексин і ізовітексин, вільні амінокислоти, такі як 4-гідроксіізолейцин (0,09%), аргінін, лізин і гістидин,

кальцій і залізо, сапоніни (0,6-1,7%), глікозиди, що дають при гідролізі стероїдні сапогеніни (діосгенін, ямогенін, тигогенін, неотігогенін), холестерин і ситостерин, вітаміни групи В, А, С і нікотинова кислота, а також 0,015% летких олій (н-алкани і сесквітерпени) [40, 47]. Також насіння гуньби містить клітковину, камеді, різні хімічні компоненти летких сполук. Крім того, гуньба містить 33 мг заліза на 100 г сухої ваги, що робить його хорошим джерелом заліза. Листя мають приблизно 4,4% білка, 0,9% жиру, 1,5% мінеральних речовин, 1,1% клітковини та 6% вуглеводів [47]. Кальцій, залізо, фосфор, рибофлавін, каротин, тіамін, ніацин і вітамін С також містяться в листі. Свіже листя гуньби містить приблизно 220,97 мг аскорбінової кислоти на 100 г листя, а також приблизно 19 мг/100 г β -каротину [47].

Насіння гуньби також містить понад 10 мг флавоноїдів на 1 г насіння, а також незначну кількість летких і нелетких олій. [8]. Олії багаті на лінолеву кислоту (42,71–42,80%), ліноленову кислоту (26,03–26,15%) та олеїнову кислоту (14,24–14,40%) [8]. Ефірна олія з насіння (>5%) багата нерилацетатом (17,3%), камфорою (16,3%), β -піненом (15,05%), β -каріофіленом (14,63%) і 2,5-диметилпіразином (6,14%) [8]. Фітохімічний аналіз гуньби виявив, що більшість флавоноїдів зустрічаються у вигляді глікозидів, які є складними і з'єднуються С-глікозидними та О-глікозидними зв'язками з вуглеводами. Флавонолові глікозиди, знайдені в гуньбі, включають кверцетин-3-О-рамнозид (кверцитрин), вітексин-7-оглюкозид (афрозид) і апігенін-6-С-глюкозид (ізовітексин). Присутність алкалоїдів і летких сполук викликають гіркий смак і запах насіння. Насіння також містить близько 0,1-0,9% діосгеніну, який є різновидом стероїдного сапіногену [47].

На рис. 1.3. зображені формули основних БАР, з якими пов'язують фармакологічну активність гуньби сінної.

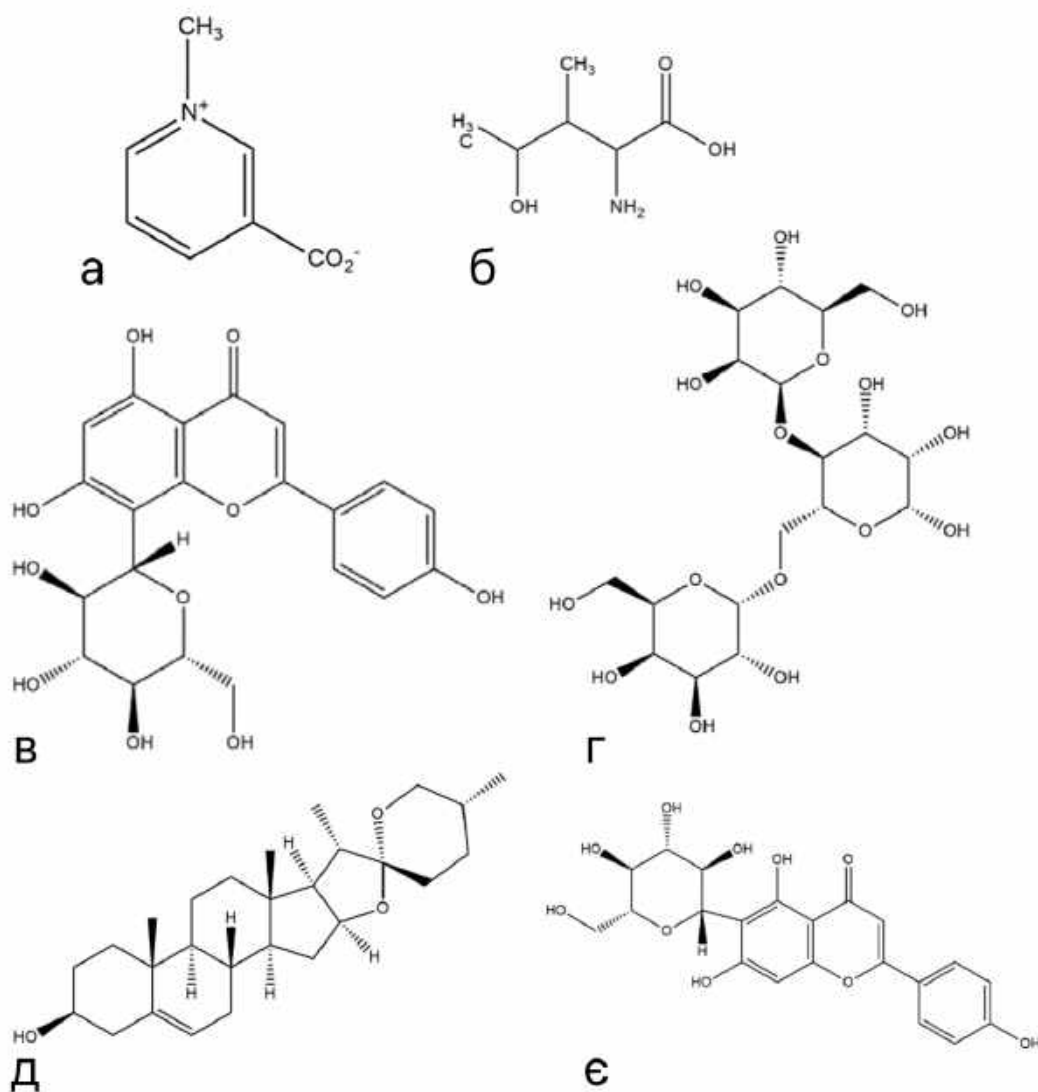


Рис.1.3. Деякі БАР, виділені з *Trigonella foenum-graecum*: а – тригонелін, б – 4-гідроксиізолейцин, в – вітексин, г – галактоманнан, д – діосгенін, є – ізовітексин.

Вважається, що антидіабетичну активність гуньби забезпечує наявність 4-гідроксиізолейцин (рис. 1.16), гіпоглікемічну – тригонелін та галактоманнан (рис. 1.1а, г), антиоксидантну – вітексин та ізовітексин [48].

Серед поліфенольних сполук з насіння виділені рапонтицин та ізовітексин. Біоактивні сполуки, знайдені в гуньбі, були визначені та виділені дослідниками за допомогою різних методів. Одним із найпоширеніших методів виділення та визначення характеристик є хроматографія в поєднанні з мас-спектро-фотометрією. Для ідентифікації та кількісного визначення біологічно активних речовин, таких як тригонеллін, ізоорієнтин, орієнтин, вітексин та ізовітексин, використовувалася система високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Підхід високоефективної рідинної хроматографії з гібридним електророзпилювачем і квадрупольною часопротітною мас-спектрометрією (HPLC-ESI-QTOF-MS/MS) використовувався для набагато швидшої ідентифікації біологічно активних хімічних речовин [40].

Поліфеноли в екстрактах гуньби були ідентифіковані за допомогою ВЕРХ у поєднанні з іонізаційною мас-спектрометрією з негативними іонами електророзпилювачем і детектуванням діодної матриці [13]. Олію насіння гуньби екстрагували, а хімічний склад і зв'язок оцінювали за допомогою газової хроматографії в поєднанні з мас-спектрометрією (GC-MS) та інфрачервоною спектроскопією. Лінолева кислота, пальмітинова кислота, пінен, 4-пентил-1-(4-пропілциклогексил)-1-циклогексен і метиловий ефір лінолевої кислоти були найбільш поширеними компонентами в екстрагованій олії [7]. Тригокаумарин, нікотинова кислота і тригонеллін – лише деякі з алкалоїдів, які містяться в стеблі рослини.

Стебло на 28% складається зі слизу, легкої та гіркої нелеткої олії, 22% білків. У таблиці 1 узагальнені дані щодо хімічного складу насіння гуньби сінної [12, 28].

Таблиця 1.1.

Хімічний склад насіння *Trigonella foenum-graceum* [42]

| Клас сполук | Хімічні сполуки |
|-------------------|---|
| Алкалоїди | триметиламін, нейрин, тригонеллін, холін, генціанін, карпаїн бетаїн |
| Амінокислоти | ізолейцин, 4-гідроксиізолейцин, гістидин, лейцин, лізин, L-триптофан, аргінін |
| Сапоніни | граекуніни, фенугрин В, фенугрекін, тригофенозиди А-Г |
| Стероїдні сполуки | ямогенін, діосгенін, смілагенін, сарсасапогенін, тигогенін, неотигогенін, гітогенін, юккагенін, сапонаретин |
| Флавоноїди | кверцетин, рутин, вітексин, ізовітексин |
| Ліпіди | триацилгліцерини, діацилгліцерини, моноацилгліцерини, фосфатидилхолін, фосфатидилетаноламін, вільні жирні кислоти |
| Інше | кумарин, ліпіди, вітаміни, мінерали. 28% слизу; 22% білків; камедь, нейтральне детергентне волокно |

1.4. Біологічна активність та фармакологічна дія*Гіпоглікемічна дія*

Останнім часом гуньба сінна перестала розглядатися виключно як народний засіб. Терапевтична користь гуньби в лікуванні багатьох захворювань була продемонстрована в численних досліджах *in vitro*, *in vivo* та клінічних випробуваннях. Було показано, що гуньба проявляє антигіперглікемічні властивості як у людей, так і у тварин з діабетом I та II типу. Однак точний механізм дії гуньби для отримання цього ефекту досі невідомий. Гуньба покращує периферичну утилізацію глюкози та

толерантність у інсулінонезалежних діабетиків [35]. Клінічні дослідження [41] показують покращення контролю глікемії у пацієнтів з легким цукровим діабетом II типу. Вчені вважають, що багата галактоманнаном розчинна фракція гуньби відповідає за гіпоглікемічну активність, оскільки клітковина уповільнює спорожнення шлунка, затримуючи поглинання глюкози в тонкому кишечнику. Діалізований екстракт насіння гуньби проявляв гіпоглікемічну дію, наряду з інсуліном, згідно з дослідженням на щурах з діабетом, індукованим алоксаном [5]. Інші дослідники [20] повідомили про результати подвійного сліпого плацебо-контрольованого дослідження серед вперше діагностованих пацієнтів із цукровим діабетом II типу. Автори прийшли до висновку, що використання насіння гуньби нормалізує рівень глюкози, а також знижує резистентність до інсуліну. В інших дослідженнях [26], у яких щури, яких годували фруктозою, отримували поліфеноли, отримані з насіння гуньби, а результати порівнювали з метформіном, комерційним протидіабетичним препаратом. Було зроблено висновок, що поліфеноли насіння гуньби покращували передачу сигналів інсуліну та чутливість порівняно з щурами, які отримували метформін. В іншому експерименті [21], щурам з діабетом 2 типу перорально вводили розчинні харчові волокна, отримані з насіння гуньби протягом 28 днів. Спостерігалось зниження рівня глюкози в сироватці крові та збільшення рівня глікогену в печінці, що свідчить про те, що протидіабетичний ефект харчових волокон полягав у пригніченні перетравлення, всмоктування вуглеводів і посиленні периферичного інсуліну. Нещодавно було проведено експеримент на щурах для порівняння фармакокінетики метформіну, протидіабетичного препарату першої лінії, із супутнім введенням екстракту гуньби та без нього. Згідно з даними, одночасний прийом гуньби та метформіну підвищував біодоступність метформіну та зменшував об'єм розподілу препарату на 70% [6]. Дослідники прийшли висновку, що ця комбінація може бути корисним способом контролю рівня цукру в крові у хворих на діабет.

Гіпохолестеринемічна дія

Гуньба також продемонструвала гіпохолестеринемічну дію, і багато досліджень показали, що вона здатна знижувати рівень холестерину в сироватці крові. У дорослих із гіперхолестеринемією, яким протягом місяця вводили пророщене насіння гуньби в порошок, спостерігалось значне зниження загального холестерину і ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ). У пацієнтів з ішемічною хворобою серця та діабетом II типу, які приймали гуньбу перорально, спостерігали зниження рівня ліпідів у крові, загального холестерину та тригліцеридів без впливу на ліпопротеїни високої щільності [42]. Вважається, що вміст клітковини в насінні гуньби знижує швидкість вироблення холестерину в печінці. Розчинна клітковина також зменшує реабсорбцію жовчних кислот у кишечнику, таким чином збільшуючи кількість холестерину та жовчних кислот, що виводяться через дефекацію [32]. Діосгенін, основний сапонін гуньби, має здатність пригнічувати всмоктування холестерину, знижувати концентрацію холестерину в печінці. В іншому дослідженні [44] визначали рівень холестерину у щурів, яких годували етаноловим екстрактом насіння гуньби. Вчені спостерігали зниження холестерину в плазмі та печінці на 18-20%. На думку авторів, сапоніноподібні активні хімічні речовини в спиртовому екстракті гуньби могли взаємодіяти з солями жовчних кислот і змінювати метаболізм ліпідів. Жовчні кислоти поєднуються з сапонінами гуньби, утворюючи міцели, які є занадто великими для перетравлення кишечником [48]. Інші дослідники [38] припустили, що зниження тригліцеридів і ЛПНЩ у дорослих, які приймали гуньбу, пов'язано з пектиновим компонентом, який поглинає жовчні солі. Цукровий діабет II типу часто корелює з дисліпідемією. Було досліджено вплив розчину порошку насіння гуньби на ліпідний профіль пацієнтів із нещодавно виявленим діабетом 2 типу. Протягом 30 днів випробуванням вводили 25 мг порошку насіння гуньби, що призводило до значного зниження загального холестерину, тригліцеридів і ЛПНЩ ($p > 0,001$) [18]. Нещодавно група дослідників провела

мета-аналіз, який показав, що добавки з гуньби мають гіполіпідемічний ефект. Вони проаналізували загалом п'ятнадцять рандомізованих клінічних досліджень і дійшли висновку, що дослідження показали значний вплив на зниження рівня загального холестерину, тригліцеридів і ліпопротеїнів низької щільності та підвищення рівня ліпопротеїнів високої щільності [23].

Імуномодулююча дія.

Імуномодулюючий ефект полягає в пригніченні або підвищенні імунологічних реакцій. Вчені [14] вивчали імунну відповідь швейцарських мишей-альбіносів, які отримували водний екстракт гуньби в дозах 50, 100 і 200 мг. Грунтуючись на своїх дослідженнях, вони спостерігали стимулюючу дію на масу тіла та органів, титр гемаглютиніну, кількісний аналіз гемолізу, реакцію гіперчутливості сповільненого типу та аналіз утворення бляшок. Спостерігали збільшення маси тимуса, нирок і печінки, посилення гіперчутливості сповільненого типу, підвищену реакція бляшкоутворюючих клітин, а також значно зростали фагоцитарний індекс і фагоцитарна здатність макрофагів. В іншому дослідженні [46] дослідженні вивчали імуномодулюючий ефект спиртового екстракту гуньби. Він продемонстрував значне підвищення фагоцитарного індексу та титру антитіл у мишей із нормальним імунним статусом, що вказує на стимуляцію гуморального імунітету. При гіперчутливості сповільненого типу він також продемонстрував зменшення середньої різниці в товщині лапи, що вказує на те, що екстракт проявляє протизапальні властивості. Дослідники провели дослідження *in vitro*, щоб визначити хімічний механізм, за допомогою якого метанольний екстракт гуньби впливає на поляризацію макрофагів [22]. Дослідження показали, що екстракт регулює експресію прозапального маркера та маркера імунорегулятора M1 та M2 відповідно в клітинах макрофагів.

Антимікробна активність.

Десятиліттями вчені вивчали антимікробні властивості різних рослин у надії на розробку нових терапевтичних засобів рослинного походження, зокрема і гуньби. У дослідженні [15] вивчали активність водних екстрактів різних частин рослини гуньби, а також вплив розчинника на цю активність. Також досліджувалась антибактеріальна дія екстракту гуньби щодо патогенних бактерій *E. coli*, *P. aeruginosa* та *B. Cereus* [16]. Подібні дослідження були також проведені шляхом тестування антимікробної активності листя, насіння та екстракту стебел з різними розчинниками [15, 38]. У ході дослідження оцінювали вплив метанольних та водних екстрактів насіння гуньби проти грампозитивних і грамнегативних бактерій. Було встановлено, що метанольний екстракт має антибактеріальну дію, але водний екстракт не виявляє жодної активності. Було встановлено також, що антимікробна активність змінюється залежно від сировинних частин, видів мікробів, а також від розчинника для екстракції.

Противухлинна активність

На сьогоднішній день дослідники все ще працюють над пошуком нових ліків і методів лікування раку. У дослідах було встановлено, що гуньба сінна має антиканцерогенну дію на моделях раку з використанням ліній ракових клітин і тварин. Було продемонстровано, що екстракт гуньби проявляє цитотоксичну активність щодо лінії клітин раку передміхурової залози, молочної залози та підшлункової залози, при цьому він не є токсичним для здорових клітин. На основі своїх досліджень вчені прийшли висновку, що сильний ефект проявляє весь екстракт, в той час як очищені сполуки не мали такого ефекту, оскільки не здатні відрізнити ракові клітини від нормальних [41]. Подібне дослідження показало, що екстракт пажитника має селективний цитотоксичний вплив *in vitro* проти ряду ліній ракових клітин, включаючи Т-клітинну лімфому [10]. Існування антиканцерогенних хімічних речовин

гінгерол, кедрен, зінгерон, ванілін і евгенол було виявлено за допомогою газової хромато-мас-спектрометрії екстракту гуньби. Спиртовий екстракт гуньби демонстрував цитотоксичність *in vitro* проти IMR-32, лінії клітин нейробластоми, і лінії клітин раку HT-29 [41]. Згідно із іншим дослідженням, клітини MCF-7 лінії клітин раку молочної залози, показали зниження життєздатності і спостерігались ранні апоптотичні зміни при обробці цих клітин спиртовим екстрактом гуньби. Подібне дослідження було проведено для вивчення ефектів метанольного екстракту гуньби *in vitro* з використанням клітин раку молочної залози [9]. Результати показали, що екстракт гуньби впливає залежно від дози, з антиметастатичним ефектом, індукованим пригніченням міграції клітин і збільшенням пізнього апоптозу в обох лініях ракових клітин. Дані виявили підвищення рівня p53, що свідчить про те, що ефект гуньби пов'язаний із сигнальним шляхом, який запобігає подальшій мутації ДНК і індукує загибель клітин. Результати дослідження гострої токсичності *in vivo* показали, що пероральний прийом екстракту гуньби не має жодного токсичного ефекту на мишей. Були також проведені дослідження протиракових властивостей екстракту пророщеного насіння гуньби. Таке дослідження було проведено за участю лінії клітин раку підшлункової залози і мишей-альбіносів [8]. Дані показали, що водний екстракт пророщеного насіння гуньби ефективний проти лінії клітин раку підшлункової залози. Дослідження показало, що група тварин, яка отримувала гуньбу, мала кращий стан тканин підшлункової залози з дуже незначними ураженнями, порівняно з групою, яка не отримувала лікування. Крім того, група мишей, яка отримувала лікування, продемонструвала підвищений рівень виживання.

Антиоксидантна дія.

Окислювальне пошкодження білків і ліпідів спричинюється надлишковим виробництвом активних форм кисню (АФК). Ці пошкодження пов'язані з хронічними дегенеративними захворюваннями. Було проведено

кілька досліджень, які припускають, що гуньба є потенційним антиоксидантом. Було встановлено, що спиртовий екстракт гуньби здатний зв'язувати вільні радикали. Крім того, в іншому дослідженні [47] продемонстрували захисну дію гуньби на перекисне окислення ліпідів і ферментативний антиоксидантну дію на мишах шляхом оцінки перекисного окислення ліпідів і антиоксидантів у сечовому міхурі мишей, яким вводили циклофосфамід. Групою вчених [28] було виділено дві флавоноїдні сполуки, вітексин та ізовітексин, із пророщеного насіння гуньби, які, як було показано, мають антиоксидантну дію. Інші вчені [25] досліджували антиоксидантні властивості шляхом дослідження поглинання перекису водню. Гуньба продемонструвала значне поглинання супероксиду та вільних радикалів. Вони дійшли висновку, що антиоксидантна активність пов'язана з високим вмістом фенолів у сировині. Нещодавнє дослідження вивчало вплив вживання гуньби на антиоксидантну систему захисту печінки старіючих мишей. Через активні форми кисню (АФК), присутні в цих клітинах, літні ссавці мають вищий рівень апоптозу та окислювального стресу, головним чином у синусоїдальних ендотеліальних клітинах і жовчних протоках. Інші дослідники [45] провели дослідження на 12-місячних мишах для оцінки активності ендогенних захисних механізмів, таких як супероксиддисмутаза, глутатіонредуктаза і глутатіонпероксидаза. У цьому дослідженні спостерігалось підвищення супероксиддисмутази, що знижує рівень глутатіонредуктази і глутатіонпероксидази, що свідчить про те, що гуньба знижує рівень активних форм кисню. Крім того, інші вчені [7] виділили олію з насіння гуньби, з якої було виділено 23 сполуки, і основними сполуками були лінолева кислота (54,13%) і пальмітинова кислота (16,21%). В досліджах DPPH і ABTS було показано, що екстрагована олія має сильну антиоксидантну активність поглинання радикалів.

Гормональні ефекти

Дослідження показали, що гуньба впливає на гормональну активність організму. Це може бути зумовлено присутністю фітоестрогенів. Фітоестрогени - це рослинні сполуки з естрогенною активністю. Було проведено кілька досліджень впливу гуньби на лікування первинної дисменореї. За відсутності будь-яких основних захворювань органів малого тазу первинна дисменорея характеризується спазматичним дискомфортом у животі під час менструації [49]. Група дослідників вивчала вплив насіння гуньби на тяжкість первинної дисменореї у пацієнтів у подвійному сліпому, рандомізованому, плацебо-контрольованому експерименті. Згідно з результатами, у групі, яка приймала гуньбу, спостерігали більш значне зменшення болю ($p < 0,001$), а тривалість болю зменшилася між двома наступними циклами. Подібне клінічне випробування було проведено для визначення ефективності та безпеки насіння гуньби на інтенсивності болю у пацієнтів із первинною дисменореєю. Зниження болю внизу живота на 66,89% спостерігалось в досліджуваній групі, яка отримувала пероральні добавки з гуньби.

Менопаузальний остеопороз також є іншим гормонально-пов'язаним розладом, при якому дефіцит естрогену безпосередньо пов'язаний з резорбцією кісткової тканини. Сучасним лікуванням цього стану є замісна гормональна терапія. Недавнє дослідження було проведено для оцінки ролі перорального екстракту насіння гуньби на структуру кісток щурів лінії Вістар після видалення яєчників [11]. Результати цього дослідження показують, що додавання екстракту насіння гуньби посилює максимальну силу згинання, необхідну для зламу стегнової кістки. Крім того, у щурів з видаленою яєчником група пацієнтів продемонструвала покращення сухої ваги великогомілкової кістки, мікроструктури кістки та уникнення втрати трабекулярної кістки. Загалом дослідники вважають, що стероїдні фітоестрогени, що містяться в гуньбі, можуть відповідати за його сприятливий

вплив на механіку та міцність кісток. Також було проведено кілька досліджень, які підкреслюють ефективність гуньби у збільшенні виробництва молока. Були проведені дослідження *in vivo* з використанням вагітних щурів лінії Sprague–Dawley, щоб перевірити, чи може гуньба збільшувати кількість молока на моделі гризунів. Результати експерименту показали, що гуньба спровокував збільшення надоїв у досліджуваній групі. Отримані дані свідчать про те, що гуньба подовжує пік виробництва молока в середині лактації за рахунок стимуляції секреції інсуліну, а також шляхом активації секреції окситоцину [37].

Вплив на регуляцію жирового обміну.

Ожиріння – це тривалий стан вуглеводного та ліпідного обміну, що характеризується надмірним накопиченням жиру в жировій тканині та інших внутрішніх органах. Інсулінорезистентність, діабет 2 типу, ішемічна хвороба серця, рак і респіраторні розлади пов'язані з ожирінням. Багато ліків використовувалися для лікування ожиріння протягом багатьох років, але більшість із них зараз вилучено через шкідливі побічні ефекти. У кількох дослідженнях було продемонстровано, що гуньба може впливати на ожиріння, що робить його перспективною рослиною для лікування ожиріння. Гуньба містить велику кількість розчинної клітковини, яка допомагає прискорити зниження ваги за рахунок покращення травлення та обміну речовин. Галактоманнан, водорозчинна клітковина, що міститься в насінні гуньби, пригнічує голод, посилюючи відчуття ситості, що сприяє втраті ваги. Загалом, він покращує метаболізм глюкози та ліпідів, чутливість до інсуліну, антиоксидантний захист та знижує регуляцію ліпогенних ферментів [29]. Діосгенін також може зменшувати вироблення холестерину *in vivo*. Механізми дії сапонінів на полегшення дисліпідемії спочатку пояснювали прискоренням метаболізму холестерину та зворотним транспортуванням холестерину, а

також блокуванням 3-гідрокси-3-метилглутарил коензим А редуктази в сироватці крові та печінці [49]

Нейропротекторна дія.

Неврологічні захворювання, такі як нейропатичний біль, є одними з найпоширеніших, і емпіричні дані показують, що запальні цитокіни та мікрогліальні клітини відіграють певну роль в етіології нейропатичного болю [43]. Використовуючи моделі тварин, дослідники виявили потенційну користь лікарських трав для лікування неврологічних захворювань.

Гуньбу також досліджували як потенційну лікарську рослину для лікування неврологічних захворювань. Вчені [27] годували щурів сапонінами гуньби (0,05–2,0%) протягом 45 днів і виявили, що дієтичне лікування призводить до нейропротекторної дії. Було також показано, що екстракт гуньби в дозі 100 мг/кг відіграє роль у зниженні ризику хвороби Паркінсона, уникаючи обертальної поведінки та відновлюючи рівень нейронів SNC (substantia nigra compact) і MDA (малоновий діальдегід) [17].

Встановлено, що гуньба є не тільки дієтичною добавкою та використовується в народній медицині, але також містить потенційні лікарські сполуки для лікування різних захворювань. Проте дослідження, що стосуються механізму дії гуньби та пов'язаних із нею сигнальних шляхів, які є специфічними для конкретного захворювання, мають вирішальне значення для розширення повного потенціалу гуньби. Знання цієї інформації дозволить дослідникам точно визначити сполуки та їх мішені, які, зрештою, можуть бути використані для розробки ліків. Оскільки гуньба росте в різних кліматичних умовах по всьому світу, вона може бути сировиною для отримання лікувально профілактичних засобів різнонаправленої дії. Глибокі дослідження є необхідними, щоб повністю продемонструвати клінічну активність гуньби.

РОЗДІЛ II.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Об'єкти дослідження

Об'єктами дослідження були сировинні частини дикорослої гуньби сінної (*Trigonella foenum-graceum*): листя, стебла та корені. Сировина була зібрана на території України, в лісах і лісосмугах Золочівського району Львівської області. Збір сировини проводили перед початком цвітіння рослини за сухої погоди.

2.2. Макроскопічне дослідження

Макроморфологічні дослідження проводили із використанням цифрового світлового мікроскопу SIGETA Superior 10-220x LCD 1080P HDMI/USB/TV, а також пакету програмного забезпечення LevenhukLite для ПК.

2.3. Мікроскопічне дослідження

Мікропрепарати виготовляли згідно загальновідомих методик – препарати витримували у мацеруючому розчині протягом 7–14 діб, обробляли гематоксиліном, сафраніном та Суданом III, після чого готували до світлової мікроскопії. Мікроскопічне дослідження також проводили на порошкових препаратах листя, стебла та коренів гуньби відповідно до вимог ДФУ. Мікроскопічний аналіз проводили із використанням світлового бінокулярного мікроскопу ULAB для дзеркальної камери Canon EOS D550, використовуючи збільшення x100.

2.4. Визначення показника набухання.

Показник набухання сировинних частин гуньби сінної визначали за наступною методикою: 1 г здрібноної на порошок ЛРС поміщали у

градуирований скляний мірний циліндр місткістю 100 мл та ціною поділки 1 мл. До випробуваного зразка сировини додавали 1 мл етанолу (96%), 25 мл води та закривали. Циліндр енергійно струшували кожні 10 хв протягом 1 год, після чого залишали на 3 год. Через 90 хв від початку вивільняли основний об'єм рідини, утримуваний шаром випробовуваного зразка, та його частинки, що знаходяться на поверхні рідини, обертаючи циліндр навколо вертикальної осі.

Через 4 год вимірювали об'єм, що займав випробовуваний зразок ЛРС, враховуючи клейкий слиз. Розраховували середній показник набухання як середнє значення результатів 3 випробувань.

2.5. Ідентифікація основних груп БАР в сировині

Ідентифікацію різних груп БАР проводили у водних, водно-спиртових та спиртових витягах використовуючи загальноприйняті хімічні реакції [2-4].

2.6. 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 ІІІ.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Макроскопічне дослідження *Trigonella foenum-graecum*

Оскільки ДФУ регламентує проведення ідентифікації ЛРС, що включає в себе макроскопічне і мікроскопічне дослідження, ми провели морфологічне дослідження сировини.

Trigonella foenum-graecum є однорічною травою і може досягати 50-60 см у висоту і 5-7 см в ширину.



Рис. 3.1. Висушена сировина *Trigonella foenum-graecum*

Морфологія листка. Адаксіальна поверхня темно-зеленого кольору, абаксіальна – світло-зеленого кольору. Листки почергові, трійчасті, гладкі, опушені. Листкова пластинка від оберненояйцеподібної до довгастої форми. Розмір листка 3-3,5 см завдовжки, 1,8 см завширшки.



Рис. 3.2. Трійчастий листок *Trigonella foenum-graecum*

Стебло світло-зеленого кольору, гладке, прямостояче, опушене. Довжина 10-11 см, ширина 0,15-0,2 см.

Корінь від коричневого до жовтого кольору, твердий, жорсткий, тонкий. Довжина 6-8 см; ширина – 0,35-0,4 см.

3.2 Мікроскопічне дослідження сировинних частин *Trigonella foenum-graecum*

Мікроскопічне дослідження порошку сировинних частин (листя, стебла та кореня) виявило наявність наступних структур: продихи, анізоцитні та аномоцитні продихи епідерми листків, прості трихоми, клітини паренхіми кореня, трахеїди із вторинними потовщеннями стінки, а також судини в різних частинах рослини (рис.3.5.).



Рис. 3.3. Стебло *Trigonella foeniculum-graesium*



Рис. 3.4. Корінь *Trigonella foeniculum-graesium*

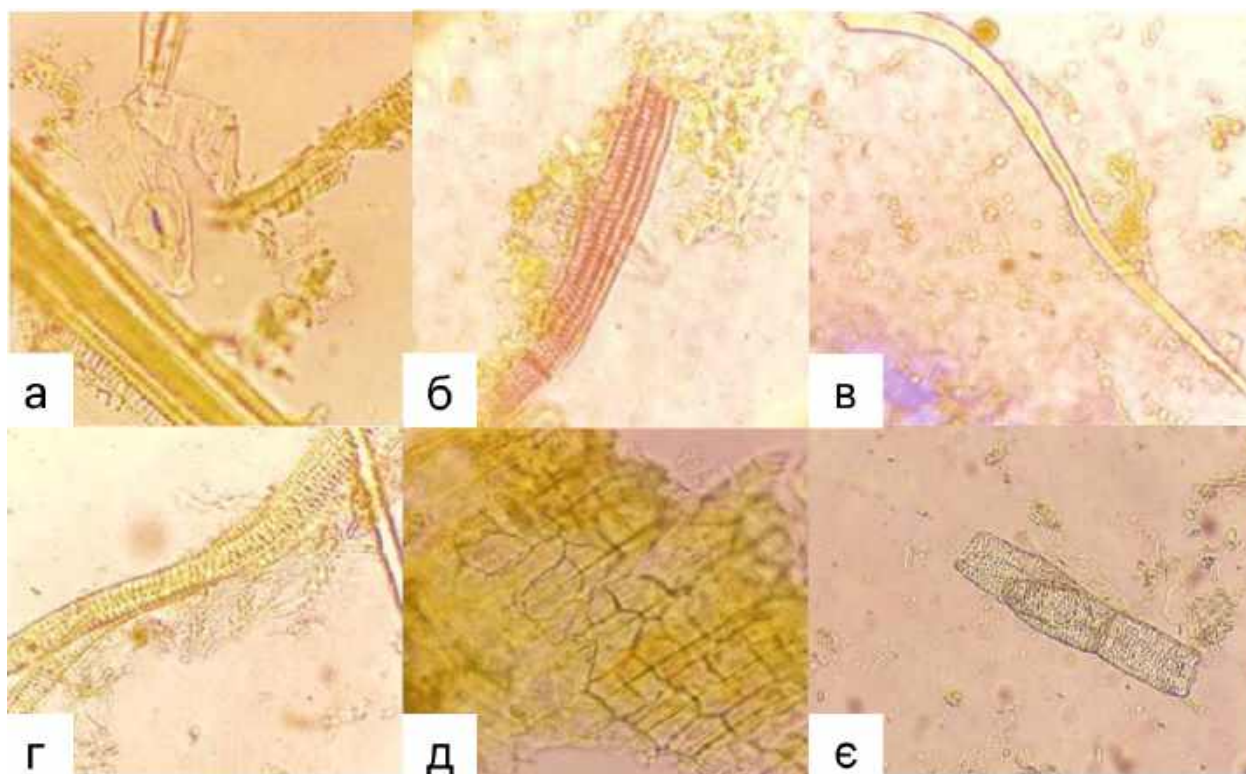


Рис. 3.5. Фрагменти мікропрепарату порошку листя, стебел та коренів *Trigonella foenum-graecum*: а – анізоцитний продих листя, б – судини листка, в – трихома листка, г – судини стебла, д – клітини паренхіми кореня, є – судини кореня.

Досліджуючи мікроскопічну будову листка, було встановлено, що листок дорзо-вентральний. Клітини нижнього і верхнього шару епідермісу вкриті тонкою кутикулою. Нижня і верхня епідерми вкриті продихами (рис. 3.6).

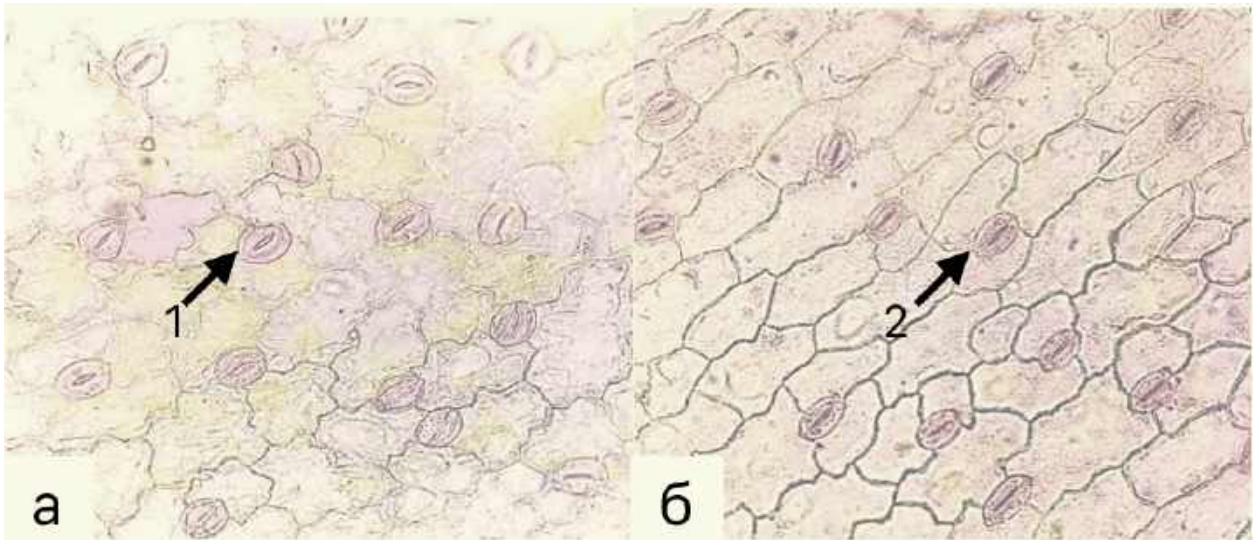


Рис. 3.6. Епідерма листка *Trigonella foenum-graecum*: а – верхня епідерма, б – нижня епідерма: 1 – аномоцитний продих, 2 – анізоцитний продих.

Дослідження поперечного зрізу стебла показало, що він має нерівний контур і має круглу форму. Стебло складається з зовнішнього шару епідерми, який має один шар тангенціально витягнутих паренхіматозних клітин, покритих товстою кутикулою. Під епідермісом розміщені 4-5 шарів клітин корової паренхіми. Ендодерма розташована під корою, над тканинами судин.

Продихові індекси верхньої та нижньої епідерми наведені у табл. 3.1.

Таблиця 3.1.

Кількість продихів та продихові індекси епідерми *Trigonella foenum-graecum*

| Показник | Середнє значення |
|--------------------------------------|------------------|
| Кількість продихів (нижня епідерма) | 79 |
| Кількість продихів (верхня епідерма) | 118 |
| Продиховий індекс (нижня епідерма) | 25,87% |
| Продиховий індекс (верхня епідерма) | 39,15% |

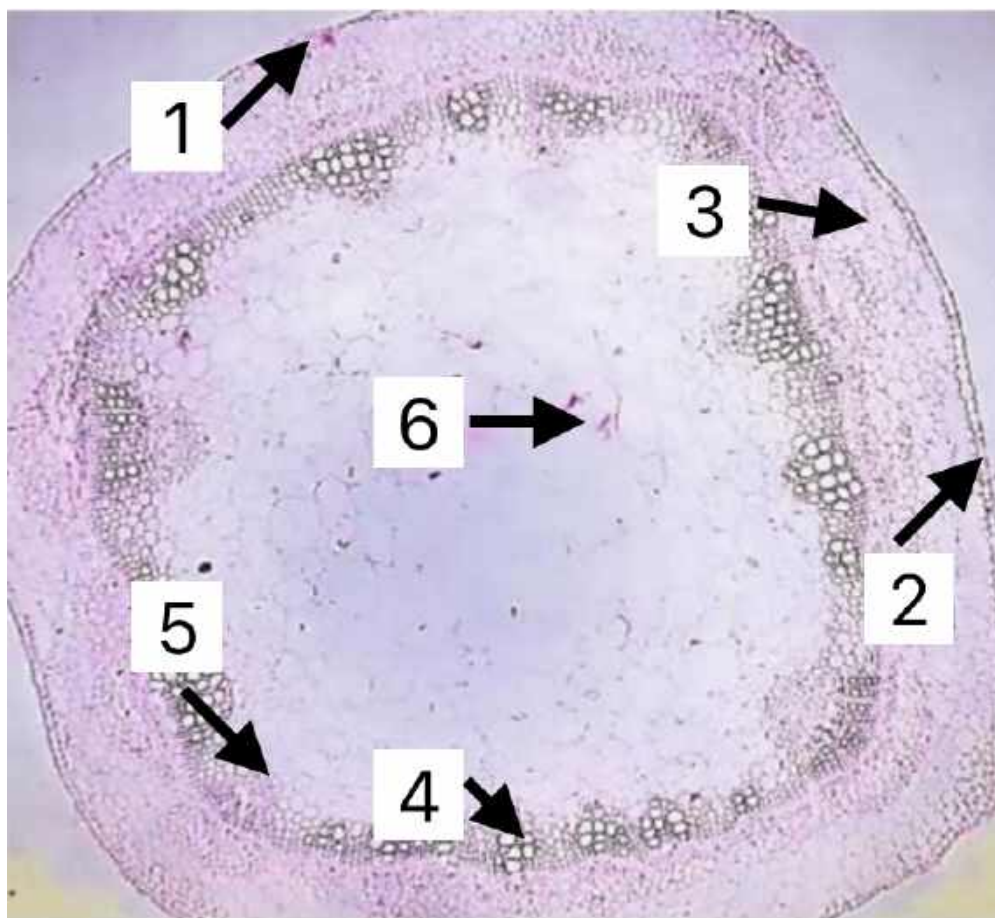


Рис. 3.7. Поперечний зріз стебла *Trigonella foenum-graecum*: 1 – епідерма, 2 – кутикула, 3 – кора паренхіма, 4 – ксилема, 5 – флоема, 6 – серцевина

На поперечному розрізі кореня спостерігали наявність одношарового епідермісу та радіальне розміщення ксилеми і флоєми (рис.3.8).

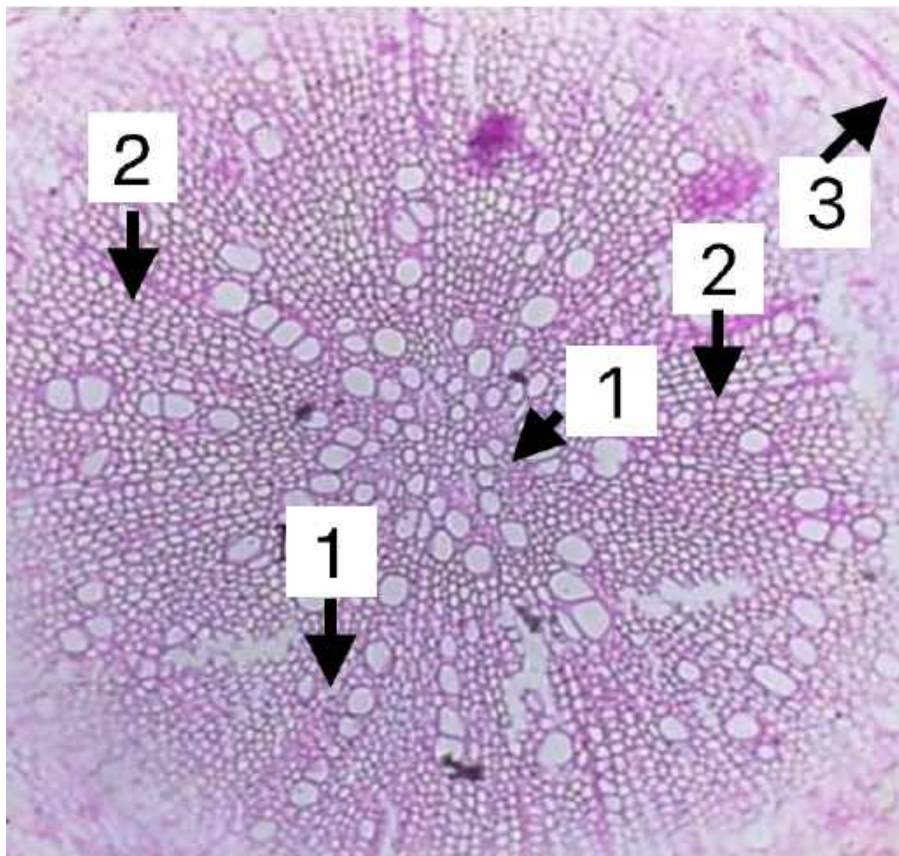


Рис. 3.8. Поперечний зріз кореня *Trigonella foenum-graecum*: 1 – ксилема, 2 – флоема, 3 – кора

3.3. Ідентифікація БАР в сировинних частинах гуньби сінної

Ідентифікацію різних груп БАР проводили в здібнених на порошок сировинних частинах *Trigonella foenum-graecum*: листків, стебел та коренів. Результати проведених реакцій наведені у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2.

Ідентифікація БАР в сировинних частинах *Trigonella foenum-graecum*

| Група БАР | Реакція | Листя | Стебла | Корені |
|--------------|--|-------|--------|--------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Полісахариди | Осадження етанолом | + | + | + |
| Слиз | Реакція з розчином луку | + | + | + |
| | Реакція з кислотою хлористоводневою концентрованою | + | + | - |
| | Реакція з розчином плюмбуму ацетату | + | + | + |
| Сапоніни | Реакція піноутворення | + | + | + |
| | Реакція Лафона | + | + | - |
| | Реакція з розчином холестерину | - | + | - |
| | Реакція з розчином плюмбуму ацетату | + | + | + |
| Флавоноїди | Ціанідінова реакція (проба Шинода) | + | + | + |
| | Реакція з лугом | + | + | - |
| | Реакція з розчином заліза (III) хлоридом | - | + | - |
| | Реакція з розчином плюмбуму ацетату | + | + | + |

Примітка: + позитивна реакція, - негативна реакція

3.3.1. Полісахариди та слиз.

Для ідентифікації полісахаридів у сировинних частинах *Trigonella foenum-graecum* готували водні розчини: 5,1 г здрібненої на порошок ЛРС поміщали в колбу, додавали 100 мл води дистильованої та залишали на

киплячій водянній бані на 30 хвилин. Отримані витяги відфільтровували через 3 шари марлі [3].

Після додавання етанолу (96%) спостерігали утворення аморфного осаду у всіх зразках сировини, що свідчить про наявність полісахаридів у листках, стеблах та коренях гуньби.

Оскільки монографія ДФУ на сировину насіння «Гуньба сінна» («*Trigonellae foenugraeci semen*») регламентує проведення випробування на визначення показника набухання [1], на наступному етапі дослідження ми провели ідентифікацію слизу у сировині та визначили індекси набухання кожної частини.

1. *Реакція з розчином лугу:* до отриманих витягів додавали по 2 краплі розчину лугу (NaOH 10%). В результаті з'являлось лимонно-жовте забарвлення у всіх зразках сировини гуньби сінної, що може свідчити про наявність слизу та/або флавоноїдів.

2. *Реакція з кислотою хлористоводневою концентрованою:* до 1 мл витягів додавали по 2 краплі кислоти хлористоводневої концентрованої. У зразках листя та стебла спостерігали утворення жовто-зеленого забарвлення. Після додавання 2 мл етанолу (96%) відбулось коагулювання осаду, що може свідчити про наявність в сировині слизу.

3. *Реакція з розчином плюмбуму ацетату:* до 1 мл витягів додавали по 4 краплі розчину плюмбуму ацетату (10%). В результаті випадав світло-жовтий осад в усіх зразках ЛРС, що може свідчити про наявність в сировині слизу та/або сапонінів.

Встановлені показники набухання ЛРС гуньби сінної наведені у табл.3.3.

Таблиця 3.3.

Показники набухання сировинних частин *Trigonella foenum-graecum*

| Сировина | Показник набухання |
|-----------------|---------------------------|
| Гуньби листя | 1,9 |
| Гуньби стебла | 3,5 |
| Гуньби корені | 0,5 |

Як видно з табл. 3.3. Найбільший показник набухання спостерігали в сировині гуньби стебла, що може вказувати на більшу кількість слизу в цій сировині.

3.3.2. Сапоніни.

Для ідентифікації сапонінів в сировинних частинах гуньби сіної отримували спиртові витяги: до 5,1 г здрібненої на порошок ЛРС додавали 100 мл етанолу (50%), вміст колби нагрівали на киплячій водяній бані зі зворотним холодильником протягом 15 хвилин. Витяг охолоджували та фільтрували через 3 шари марлі, після чого для виділення спирту 20 мл отриманого фільтрату упарювали на водяній бані до об'єму 10 мл. Одержані розчини використовували для проведення якісних реакцій на сапоніни:

- Реакція піноутворення:* при інтенсивному струшуванні пробірок з водними витягами з сировинних частин гуньби протягом 1 хв спостерігали утворення стійкої піни у всіх досліджуваних зразках, що свідчить про наявність сапонінів у ЛРС.
- Ракція Лафона:* до 2 мл витягів в пробірці додавали по 1 краплі розчину купруму сульфату (10%), 1 мл кислоти сірчаної концентрованої і нагрівали. Спостерігали зміну забарвлення на синьо-зелене у сировині листя та стебел гуньби.

3. *Реакція з розчином холестерину*: до 1 мл екстрактів додавали по 1 мл спиртового розчину холестерину (1%). Реакція була позитивною у витязі зі стебел гуньби.
4. *Реакція з ацетатом свинцю*: до 1 мл водного екстракту в пробірку додавали 3-4 краплі розчину плюмбуму ацетату (10%). В результаті випадав світло жовтий осад в усіх досліджуваних зразках ЛРС, що свідчить про наявність сапонінів та/або флавоноїдів у сировині.

3.3.3. Флавоноїди і фенольні сполуки.

Для ідентифікації в сировинних частинах *Trigonella foenum-graecum* флавоноїдів і фенольних сполук отримували спиртовий витяг за наступною методикою: до 5 г подрібненого порошку сировинних частин в колбу зі зворотним холодильником додавали 50 мл етанолу (70%). Екстрагували на водяній бані протягом 30 хв. Після цього витяг охолоджували та фільтрували через 3 шари марлі і використовували в реакціях ідентифікації:

1. *Ціанідина реакція (проба Шинода)*: до 1 мл витягів додавали по 3 краплі концентрованої хлоридної кислоти та по 1-2 стружки магнію металевого. В результаті спостерігали утворення червоного-бурого забарвлення у всіх досліджуваних зразках сировини.
2. *Реакція з розчином лугу*: до 1 мл витягів додавали по 2 краплі розчину NaOH (10%). В результаті спостерігали лимонно-жовте забарвлення у всіх досліджуваних зразках, що може свідчити про наявність флавоноїдів та/або слизу.
3. *Реакція з розчином заліза (III) хлоридом*: до 1 мл витягів додавали по 2 краплі розчину FeCl₃ (1%). Спостерігали появу червоно-буро-коричневого забарвлення у всіх витягах, що свідчить про наявність флавоноїдів та/або фенольних сполук.
4. *Реакція з розчином плюмбуму ацетату*: реакція описана вище. Позитивна реакція свідчить про наявність флавоноїдів та/або сапонінів.

Лікарські рослини широко використовуються в медицині різних країн завдяки тому, що природні засоби мають менше побічних ефектів і є легкодоступними. Встановлено, що гуньба сінна є джерелом різноманітних БАР, які є потенційними лікарськими сполуки для лікування різних захворювань.

На сьогоднішній день офіційною сировиною в Україні є гуньби насіння. В наших дослідженнях ми встановили, що сировинні частини, зокрема листя, стебла та корені також мають різні групи БАР, зокрема полісахариди, слиз, сапоніни та фенольні сполуки, зокрема флавоноїди.

Оскільки гуньба росте в різних кліматичних умовах по всьому світу, вона може мати широку сировинну базу і використовуватись як джерело БАР для потреб медицини та фармації.

Отримані результати макро- і мікроскопічного аналізу сировинних частин гуньби сінної, а також результати визначення якісного складу *Trigonella foenum-graecum* можуть бути використані в подальших дослідженнях складу, фармакологічної активності та при розробці нормативної документації при стандартизації сировини.

Висновки

1. Проведений макроскопічний аналіз *Trigonella foenum-graecum* та встановлені основні видоспецифічні ознаки виду.
2. Визначені основні мікроскопічні діагностичні ознаки сировинних частин гуньби сінної: листя, стебел і коренів.
3. Якісними реакціями ідентифіковані полісахариди, слизи, сапоніни та флавоноїди у досліджуваній сировині.
4. Визначені показники набухання кожного виду досліджуваної ЛРС, та встановлено, що стебла *Trigonella foenum-graecum* мають найбільше значення.
5. Листя, стебла та корені гуньби сінної є перспективним джерелом біологічно активних речовин та потребують більш детального вивчення складу та дії з метою застосування на ряду з офіциальною сировиною гуньби насіння.
6. Отримані результати макро- і мікроскопічної будови та якісного складу листя, стебел та коренів *Trigonella foenum-graecum* можуть бути використані при розробці нормативної документації на сировину з метою використання вищезазначених частин рослини у медицині та фармації.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 2-е вид. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. — Т. 3. — 732 с.
2. Практикум з ідентифікації лікарської рослинної сировини : навч. посіб. / [В. М. Ковальов, С. М. Марчишин, О. П. Хворост та ін.] ; за ред. В. М. Ковальова, С. М. Марчишин, О. П. Хворост, Т. І. Ісакової. — Тернопіль : ТДМУ, 2014. — 264 с.
3. Робочий зошит для самостійної роботи студентів з фармакогнозії (аудиторної та позааудиторної). Лабораторний практикум з фармакогнозії. Навчальний посібник. Частина I. / В. М. Мінарченко, У. В. Карпюк, І. С. Чолак, О. І. Ємельянова, Н. П. Ковальська, Л. М. Махиня, В. Т. Підченко, О. М. Струменська, — К., 2023. — 170 с .
4. Робочий зошит для самостійної роботи студентів з фармацевтичної ботаніки (аудиторної та позааудиторної). Навчальний посібник. Частина II. Основи систематики, фітоєкології та геоботаніки / В. М. Мінарченко, Л. М. Махиня, Т. С. Двірна, І. А. Тимченко, О. М. Струменська, Н. П. Ковальська, У. В. Карпюк, О. І. Ємельянова, І. С. Чолак, В. Т. Підченко — К., 2023. — 88 с .
5. Abdel-Barry, J.A.; Abdel-Hassan, I.A.; Al-Hakim, M.H. Hypoglycaemic and antihyperglycaemic effects of *Trigonella foenum-graceum* leaf in normal and alloxan induced diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 1997, 58, 149–155.
6. Abdelwahab, N.S.; Morsi, A.; Ahmed, Y.M.; Hassan, H.M.; AboulMagd, A.M. Ecological HPLC method for analyzing an antidiabetic drug in real rat plasma samples and studying the effects of concurrently administered fenugreek extract on its pharmacokinetics. *RSC Adv.* 2021, 11, 4740-4750.

7. Akbari, S.; Abdurahman, N.H.; Yunus, R.M.; Alara, O.R.; Abayomi, O.O. Extraction, characterization and antioxidant activity of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seed oil. *Mater. Sci. Energy Technol.* 2019, 2, 349–355.
8. Almalki, D.A.; Naguib, D.M. Anticancer Activity of Aqueous Fenugreek Seed Extract Against Pancreatic Cancer, Histological Evidence. *J. Gastrointest. Cancer* 2021, 1–4.
9. Alrumaihi, F.A.; Khan, M.A.; Allemailem, K.S.; Alsahli, M.A.; Almatroudi, A.; Younus, H.; Alsuhaibani, S.A.; Algahtani, M.; Khan, A. Methanolic Fenugreek Seed Extract Induces p53-Dependent Mitotic Catastrophe in Breast Cancer Cells, Leading to Apoptosis. *J. Inflamm. Res.* 2021, 14, 1511–1535.
10. AlSemari, A.; Alkhodairy, F.; Aldakan, A.; Al-Mohanna, M.; Bahoush, E.; Shinwari, Z.; Alaiya, A. The selective cytotoxic anti-cancer properties and proteomic analysis of *Trigonella foenum-graceum*. *BMC Complement. Altern. Med.* 2014, 14, 114–123.
11. Anjaneyulu, K.; Bhat, K.M.; Srinivasa, S.R.; Devkar, R.A.; Henry, T. Beneficial Role of Hydro-alcoholic Seed Extract of *Trigonella foenum graecum* on Bone Structure and Strength in Menopause Induced Osteopenia. *Ethiop. J. Health Sci.* 2018, 28, 787–794.
12. Bano, D.; Tabassum, H.; Ahmad, A.; Mabood, A.; Ahmad, I.Z. The medicinal significance of the bioactive compounds of *Trigonella foenum-graceum*: A review. *Inter. J. Res. Ayurveda Pharma.* 2016, 7, 84–91.
13. Benayad, Z.; Gómez-Cordovés, C.; Es-Safi, N.E. Characterization of Flavonoid Glycosides from Fenugreek (*Trigonella foenum-graceum*) Crude Seeds by HPLC–DAD–ESI/MS Analysis. *Int. J. Mol. Sci.* 2014, 15, 20668–20685.
14. Bin-Hafeez, B.; Haque, R.; Parvez, S.; Pandey, S.; Sayeed, I.; Raisuddin, S. Immunomodulatory effects of fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) extract in mice. *Int. Immunopharmacol.* 2003, 3, 257–265.

15. Chalghoumi, R.; Mabrouki, S.; Abdouli, H.; Line, J. Antibacterial Activity of Fenugreek Seeds (*Trigonella foenum-graceum*) Crude Extracts Against a Rabbit *Escherichia coli* Isolate. *Acad. J. Microbiol.* 2016, 3, 139–144.
16. Dharajiya, D.; Jasani, H.; Khatrani, T.; Kapuria, M.; Pachchigar, K.; Patel, P. Evaluation of Antibacteria and Antifungal Activity of Fenugreek (*Trigonella foenum-graceum*) Extracts. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 2016, 8, 212–217.
17. Foltynie, T.; Kahan, J. Parkinson's disease: An update on pathogenesis and treatment. *J. Neurol.* 2013, 260, 1433–1440.
18. Geberemeskel, G.A.; Debebe, Y.G.; Nguse, N.A. Antidiabetic Effect of Fenugreek Seed Powder Solution (*Trigonella foenum-graceum* L.) on Hyperlipidemia in Diabetic Patients. *J. Diabetes Res.* 2019, 2019, 8507453.
19. Gu, L.-B.; Liu, X.-N.; Liu, H.-M.; Pang, H.-L.; Qin, G.-Y. Extraction of Fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.) Seed Oil Using Subcritical Butane: Characterization and Process Optimization. *Molecules* 2017, 22, 228.
20. Gupta, A.; Gupta, R.; Lal, B. Effect of *Trigonella foenum-graceum* (fenugreek) seeds on glycaemic control and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus: A double blind placebo controlled study. *J. Assoc. Physicians India* 2001, 49, 1057–1061.
21. Hannan, J.M.A.; Ali, L.; Rokeya, B.; Khaleque, J.; Akhter, M.; Flatt, P.; Abdel-Wahab, Y.H.A. Soluble dietary fibre fraction of *Trigonella foenum-graceum* (fenugreek) seed improves glucose homeostasis in animal models of type 1 and type 2 diabetes by delaying carbohydrate digestion and absorption, and enhancing insulin action. *Br. J. Nutr.* 2007, 97, 514–521.
22. Hassan, N.; Withycombe, C.; Ahluwalia, M.; Thomas, A.; Morris, K. A methanolic extract of *Trigonella foenum-graceum* (fenugreek) seeds regulates markers of macrophage polarization. *Funct. Foods Health Dis.* 2015, 5, 417–426.
23. Heshmat-Ghahdarijani, K.; Mashayekhlasl, N.; Amerizadeh, A.; Jervevani, Z.T.; Sadeghi, M. Effect of fenugreek consumption on serum lipid

profile: A systematic review and meta-analysis. *Phytotherapy Res.* 2020, 34, 2230–2245.

24. Inanmdar, W.; Sultana, A.; Mubeen, U.; Rahman, K. Clinical efficacy of *Trigonella foenum graecum* (Fenugreek) and dry cupping therapy on intensity of pain in patients with primary dysmenorrhea. *Chin. J. Integr. Med.* 2016, 1–8.

25. Joglekar, M.; Mandal, M.; Murthy, S. Comparative analysis of antioxidant and antibacterial properties of *Aegle marmelos*, *Coriandrum sativum* and *Trigonella foenum graecum*. *Acta Biol. Indica* 2012, 1, 105–108.

26. Kannappan, S.; Anuradha, C.V. Insulin sensitizing actions of fenugreek seed polyphenols, quercetin metformin in a rat model. *Indian J. Med. Res.* 2009, 129, 401–408.

27. Khalil, W.; Roshdy, H.; Kassem, S. The potential therapeutic role of Fenugreek saponin against Alzheimers disease: Evaluation of apoptotic and acetylcholinesterase inhibitory activities. *J. Appl. Pharm. Sci.* 2016, 6, 166–173.

28. Khole, S.; Chatterjee, S.; Variyar, P.; Sharma, A.; Devasagayam, T.; Ghaskadbi, S. Bioactive constituents of germinated fenugreek seeds with strong antioxidant potential. *J. Funct. Foods* 2014, 6, 270–279.

29. Kumar, P.; Bhandari, U.; Jamadagni, S. Fenugreek Seed Extract Inhibit Fat Accumulation and Ameliorates Dyslipidemia in High Fat Diet-Induced Obese Rats. *BioMed Res. Int.* 2014, 2014, 606021.

30. Meghwal, M.; Goswami, T.K. A Review on the Functional Properties, Nutritional Content, Medicinal Utilization and Potential Application of Fenugreek. *J. Food Process. Technol.* 2012, 3, 1–10.

31. Mawahib, E.; Ammar, M.; Badr Eldin, A. Antimicrobial Activities of Phytochemical Screening of Callus and Seeds Extracts of Fenugreek (*Trigonella foenum-graceum*). *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 2015, 4, 147–157.

32. Muraki, E.; Hayashi, Y.; Chiba, H.; Tsunoda, N.; Kasono, K. Dose-dependent effects, safety and tolerability of fenugreek in diet-induced metabolic disorders in rats. *Lipids Health Dis.* 2011, 10, 240–246.

33. <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:523957-1>
(дата звернення 21.11.2023)
34. Premanath, R.; Sudisha, J.; Devi, N.L.; Aradhya, S. Antibacterial and Anti-oxidant Activities of Fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) Leaves. *Res. J. Med. Plant* 2011, 5, 695–705.
35. Raghuram, T.C.; Sharma, R.D.; Sivakumar, B.; Sahay, B.K. Effect of fenugreek seeds on intravenous glucose disposition in non-insulin dependent diabetic patients. *Phytotherapy Res.* 1994, 8, 83–86.
36. Rasheed, M.S.A.A.; Wankhade, M.V.; Saifuddin, M.S.S.K.; Sudarshan, M.A.R. Physico-Chemical Properties of Fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.) Seeds. *Int. J. Eng. Res.* 2015, V4, 68–70.
37. Sevrin, T.; Boquien, C.-Y.; Gandon, A.; Grit, I.; De Coppet, P.; Darmaun, D.; Alexandre-Gouabau, M.-C. Fenugreek Stimulates the Expression of Genes Involved in Milk Synthesis and Milk Flow through Modulation of Insulin/GH/IGF-1 Axis and Oxytocin Secretion. *Genes* 2020, 11, 1208.
38. Sharma, V.; Singh, P.; Rani, A. Antimicrobial Activity of *Trigonella foenum-graceum* L. (Fenugreek). *Eur. J. Exp. Biol.* 2017, 7.
39. Shesharao, M.K.P.; Rao, M.L.S.; Sathyanarayana, N.; Shridhar, S.; Byregowda, S.; Ramachandra, G. Evaluation of immunomodulatory cells CD4+and CD8+and their ratio using alcoholic seed extract of *Trigonella foenum graecum* and alcoholic leaves extract of *Coccinia indica* by flow cytometry in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Pharmacogn. Phytochem.* 2020, 9, 2943–2947.
40. Singh, P.; Bajpai, V.; Gond, V.; Kumar, A.; Tadigoppula, N.; Kumar, B. Determination of Bioactive Compounds of Fenugreek (*Trigonella foenum-graceum*) Seeds Using LC-MS Techniques. In *Legume Genomics*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2020; Volume 2107, pp. 377–393.
41. Snehlata, H.; Payal, D. Fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.): An overview. *Int. J. Curr. Pharm.* 2012, 2, 169–187.

42. Sowmya, P.; Rajyalakshmi, P. Hypocholesterolemic effect of germinated fenugreek seeds in human subjects. *Mater. Veg.* 1999, *53*, 359–365.
43. Srinivasan, K. Fenugreek (*Trigonella foenum-graceum*): A Review of Health Beneficial Physiological Effects. *Food Rev. Int.* 2006, *22*, 203–224.
44. Stark, A.; Madar, Z. The effect of an ethanol extract derived from fenugreek (*Trigonella foenum-graceum*) on bile acid absorption and cholesterol levels in rats. *Br. J. Nutr.* 1993, *69*, 277–287.
45. Tewari, D.; Józ'wik, A.; Łysek-Gładysin'ska, M.; Grzybek, W.; Adamus-Białek, W.; Bicki, J.; Strzałkowska, N.; Kamin'ska, A.; Horban'czuk, O.; Atanasov, A. Fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.) Seeds Dietary Supplementation Regulates Liver Antioxidant Defense Systems in Aging Mice. *Nutrition* 2020, *12*, 2552.
46. Tripathi, S.; Maurya, A.; Kaul, A.; Kahrana, M.; Sahu, R. Immunomodulatory property of ethanolic extract of *Trigonella foenum-graeceum* leaves on mice. *Der Pharmacia Lettre* 2012, *4*, 708–713.
47. Wani, S.A.; Kumar, P. Fenugreek: A review on its nutraceutical properties and utilization in various food products. *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* 2018, *17*, 97–106.
48. Yadav, R.; Kaushik, R. A Study of Phytochemical Constituents and Pharmacological Actions of *T. foenum-graecum*: A Review. *Int. J. Pharm. Technol.* 2011, *3*, 1022–1028.
49. Younesy, S.; Amiraliakbari, S.; Esmaeili, S.; Alavimajd, H.; Nouraei, S. Effects of Fenugreek Seed on the Severity and Systemic Symptoms of Dysmenorrhea. *J. Reprod. Infertil.* 2014, *15*, 41–48.

SUMMARY

Paliienko Yelyzaveta

PHARMACOGNOSTIC RESEARCH OF *TRIGONELLA FOENUM-GRACEUM* L.

Department of Pharmacognosy and Botany

Scientific supervisor: PhD, as. professor Pidchenko Vitalii

Keywords: *Trigonella foenum-graceum*, leaves, stems, roots, polysaccharides, polyphenols

Introduction. It is known that *Trigonella foenum-graceum* is one of the oldest medicinal herbs in the world, the seeds and leaves of which are used to treat various diseases. The leaves and seeds of *Trigonella foenum-graceum* are widely used to make extracts and powders for therapeutic use in Eastern medicine. It has been established that *Trigonella foenum-graceum* provides antifertility, anticancer, antiparasitic, hypoglycemic, hypolipidemic, hypocholesterolemic, and antimicrobial activity. In Ukraine, the official raw material of *Trigonella foenum-graceum* is the seed. Despite the fact that this plant is known for its seeds, the analysis of literary sources indicates that other parts of the plant, in particular the leaves and stems, are also used in the medicine of different countries. It was established that these parts of plant also contain various biologically active substances, in particular alkaloids, saponins, tannins, phenols, etc.. The results of modern studies have shown that biologically active substances isolated from different parts of *Trigonella foenum-graecum* exhibit different pharmacological effects. It should be noted that pharmacognostic studies of different parts of *Trigonella foenum-graecum* collected in Ukraine are not enough, considering the fact that their use can expand the use of this plant as a medicinal plant and as a source of various compounds.

Materials and methods. The research objects are *Elsholtzia ciliata* leaves. Research subject: phytochemical study of *Elsholtzia ciliata* leaves. Methods: literature monitoring, macro- and microscopic, phytochemical (qualitative reactions, gravimetry, spectrophotometry).

Results. A macroscopic analysis of *Trigonella foenum-graecum* was carried out and the main species-specific features of the species were established. The main microscopic diagnostic features of the raw parts of *Trigonella foenum-graecum*: leaves, stems, and roots are determined. Polysaccharides, mucus, saponins and flavonoids in the studied raw materials were identified by qualitative reactions. The swelling index of each species of the studied raw materials were determined, and it was established that the stems of *Trigonella foenum-graecum* have the greatest value. The leaves, stems and roots of *Trigonella foenum-graecum* are a promising source of biologically active substances and require more detailed study of the composition and action in order to use it along with the official raw material.

Conclusions. The obtained results of the macro- and microscopic structure and qualitative composition of leaves, stems and roots of *Trigonella foenum-graecum* can be used in the development of regulatory documentation for raw materials for the purpose of using the above-mentioned parts of the plant in medicine and pharmacy.