

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

ДОПУСТИТИ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач кафедри

_____ М.М.Барановський

«__» _____ 2020 р.

ДИПЛОМНА РОБОТА

(ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА)

ВИПУСКНИКА ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА
ЗА СПЕЦІАЛЬНІСТЮ 162 «БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА БІОІНЖЕНЕРІЯ»

Тема: «Порівняння впливу різних екстрактів рослин на ракові клітини»

Виконавець: студентка 205-м ФЕБІТ

Хріпко В. Є.

Керівник: д.с.-г.н., професор

Барановский М. М.

Консультант розділу «Охорона праці» :

Павлиш В.Д.

Консультант розділу

«Охорона навколишнього середовища» :

Рябчевський О.В.

Нормоконтролер:

Дражнікова А.В.

КИЇВ 2020

НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет екологічної безпеки, інженерії та технологій

Кафедра біотехнології

Спеціальність: 162 «Біотехнології та біоінженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

_____ М.М.Барановський

«___» _____ 2020 р.

ЗАВДАННЯ

на виконання дипломної роботи

Хріпко Вікторії Євгенівни

1. Тема дипломної роботи: «Порівняння впливу різних екстрактів рослин на ракові клітини» затверджена наказом ректора від « 15 » _____ вересня _____ 2020 р.

№ 1657 /ст.

2. Термін виконання роботи: з 5 жовтня по 31 грудня 2020 р.

3. Вихідні дані роботи: власні експериментальні дані, зроблені на базі ТОВ «ФЗ БІОФАРМА» в департаменті наукових досліджень та розробок; *Brassica oleracea var italica* взята з місцевого супермаркету, *Calendula officinalis* та *Capsella bursa pastoris* з аптеки, ракові клітини амніону людини WISH, літературні джерела щодо впливу родини *Brassicaceae* та *Asteraceae* на ракові клітини, методики екстракції.

4. Зміст пояснювальної записки: Вступ; Розділ 1. Літературний огляд; Розділ 2.

Матеріали та методи досліджень; розділ 3. Результати досліджень; Розділ 4. Охорона праці, Розділ 5. Охорона навколишнього середовища, Висновки; Список бібліографічних посилань використаних джерел.

5. Перелік обов'язкового графічного (ілюстративного) матеріалу: 14 таблиць, 24 рисунків.

6. Календарний план-графік

| № | Завдання | Термін виконання |
|----|--|-------------------|
| 1 | Вибір теми дипломної роботи, узгодження змісту з дипломним керівником. | 13.09.19-14.09.20 |
| 2 | Літературний огляд та збір інформації за темою дипломної роботи: «Порівняння впливу різних екстрактів рослин на ракові клітини». | 14.09.19-28.09.20 |
| 3 | Складання схеми виконання дипломної роботи, ознайомлення з методикою постановки експерименту. | 28.09.19-01.10.20 |
| 5 | Проведення експерименту. | 10.10.20-22.10.20 |
| 6 | Аналіз та обробка отриманих даних. | 23.10.20-27.11.20 |
| 7 | Оформлення практичної частини дипломної роботи на основі отриманих результатів. | 30.11.20 |
| 8 | Формулювання висновків та рекомендацій. | 02.12.20 |
| 9 | Перевірка дипломної роботи керівником. | 06.12.20 |
| 10 | Попередній захист дипломної роботи. | 10.12.20 |
| 11 | Захист дипломної роботи. | 23.12.20 |

7. Консультація з окремих розділів

| Назва розділу | Консультант (посада, П.І.Б.) | Дата, підпис | |
|---------------|---------------------------------|-------------------|---------------------|
| | | Завдання видав | Завдання прийняв |
| Охорона праці | | | |

| | | | |
|-------------------------------------|--|--|--|
| Охорона навколишнього середовища | | | |
|-------------------------------------|--|--|--|

8. Дата видачі завдання: « 5 » жовтня _____ 2020 р.

Керівник дипломної роботи _____/Барановський М. М./

Завдання прийняла до виконання _____/Хріпко В. Є./

РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка до дипломної роботи «Порівняння впливу різних екстрактів рослин на ракові клітини»: 82 с., 24 рис., 14 табл., 28 літературних джерел.

Об'єкт дослідження – життєздатність ракових клітин WISH під впливом екстрактів *Brassica oleracea var italica*, *Capsella bursa pastoris* та *Calendula officinalis*.

Мета дипломної роботи – дослідити вплив екстрактів *Brassica oleracea var italica*, *Calendula officinalis* та *Capsella bursa pastoris* на ракову лінію WISH під флуоресцентним спектрофотометром.

Методи дослідження – мікробіологічні, фізико–хімічні, аналітичні, статистичні.

Предмет дослідження – водні та водно-спиртові екстракти *Brassica oleracea var italica*, *Calendula officinalis* та *Capsella bursa pastoris*, ракові клітини WISH.

Матеріали дипломної роботи рекомендується використовувати під час проведення наукових досліджень і в практичній діяльності біотехнологів та лікарів як один із способів подолання та профілактики ракових захворювань.

BRASSICA OLERACEA VAR ITALICA, CALENDULA OFFICINALIS, CAPSELLA BURSA PASTORIS, WISH, ЕКСТРАКЦІЯ, БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ.

ЗМІСТ

| | |
|--|----|
| ВСТУП..... | 10 |
| РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД | 12 |
| 1.1. Загальні характеристики та властивості родини <i>Brassicaceae</i> | 12 |
| 1.2. Біоактивні компоненти родини <i>Brassicaceae</i> та їх роль..... | 16 |
| 1.2.1. Індол-3-карбінол..... | 20 |
| 1.2.2. Сульфорафан..... | 22 |
| 1.2.3. Рутін | 24 |
| 1.2.4. Гесперидин..... | 25 |
| 1.3. Загальні характеристики та властивості родини <i>Asteraceae</i> | 27 |
| 1.4. Біоактивні компоненти родини <i>Asteraceae</i> та їх роль | 31 |
| 1.4.1. Каротиноїди | 31 |
| 1.4.2. Флавоноїди..... | 34 |
| 1.4.3. Сапоніни..... | 37 |
| 1.5. Екстракція як метод виділення біологічно активних речовин | 38 |
| 1.5.1. Метод мацерації..... | 39 |
| 1.5.2. Метод перколяції..... | 40 |
| 1.5.3. Метод циркуляційної екстракції..... | 42 |
| 1.6. Висновки до розділу | 44 |
| РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄТКИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ | 46 |
| 2.1. Об'єкти дослідження..... | 46 |
| 2.1.1. Рослинні матеріали..... | 46 |
| 2.1.2. Ракові клітинні лінії..... | 46 |
| 2.2. Методи дослідження | 48 |
| 2.2.1. Технологія приготування екстрактів..... | 48 |
| 2.2.2. Технологія перевірки протиракової активності..... | 49 |
| 2.3. Висновки до розділу | 52 |
| РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ | 53 |

| | |
|--|-----------|
| 3.1. Перевірка результатів..... | 53 |
| 3.2. Висновки до розділу | 57 |
| РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ..... | 58 |
| 4.1. Небезпечні шкідливі виробничі фактори в мікробіологічній лабораторії. 58 | |
| 4.2. Технічні та організаційні заходи для зменшення рівня впливу небезпечних та шкідливих виробничих факторів в мікробіологічній лабораторії | 61 |
| 4.3. Забезпечення пожежної і вибухової безпеки в мікробіологічній лабораторії..... | 67 |
| 4.4. Висновки до розділу..... | 68 |
| РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА..... | 70 |
| 5.1. Екологічні аспекти, що впливають на умови вирощування та відбору рослин для виділення екстрактів | 70 |
| 5.2. Висновки до розділу..... | 77 |
| ВИСНОВКИ | 78 |
| СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ | 80 |

ВСТУП

Актуальність. Рак – це смертельна хвороба, яку, на жаль, не лікують однією пігулкою. Тенденція розповсюдження раку характерна не тільки для України (2 місце за кількістю смертності в Європі), але і для світу в цілому. Онкологія охоплює 22% працездатного населення на даний період часу. За даними Інституту раку в 2009 році на обліку онкологічних установ складалося 961183 особи, з них 338635 чоловіки та 622548 жінки. Та вже до 2030 року кількість хворих на рак збільшиться на 70% за версією МОЗ. Також через 15 років, на припущення вчених, рак буде діагностуватися у кожної другої людини.

Експерти визнають, що багато видів раку сьогодні виліковні, однак успішність лікування залежить від того, скільки коштів виділяється на лікування місцевими органами охорони здоров'я і на якій стадії пацієнтові ставиться діагноз. Шанси на повне вилікування збільшуються, якщо хворобу вдається виявити на ранніх стадіях. У більшості випадків українці занадто пізно приходять до лікаря.

Широкому поширенню захворюваності на рак сприяє кілька головних факторів – шкідливі звички, нездорове харчування, втрата контролю над масою тіла, стреси, несприятлива екологічне середовище. Також в цьому ряду – проблема невчасної діагностики захворювання в силу відсутності можливостей для здійснення якісної диспансеризації.

У зв'язку з вищенаведеним пропонується вирішувати проблему запобігання та профілактики ракових хворіб доступними та побутовими методами, а саме впливом лікарських рослин. Родина Хрестоцвітів (*Cruciferae*) або Капустяні (*Brassicaceae*) та родина Айстрові (*Asteraceae*) або Складноцвіті (*Compositae*) є скарбницею біологічно активних речовин, які мають антиоксидантну та антиканцерогенну властивості.

Інтенсивне розповсюдження хвороби та збільшення смертності призвели до пошуків альтернативних методів профілактики та лікування раку. Ця проблема і на сьогоднішній день залишається як найбільш актуальною.

Мета роботи: охарактеризувати та порівняти біологічно активні компоненти представників родини Хрестоцвітів та родини Айстрових, а саме броколі (*Brassica oleracea var italica*), грицикі звичані (*Capsella bursa pastoris*) та календули (*Calendula officinalis*). А також визначити та порівняти їх антиканцерогенну дію.

Для досягнення поставленої мети були поставлені такі **завдання**:

1. Проаналізувати літературні джерела про наявність активних речовин у рослинах броколі (*Brassica oleracea var italica*), грициків звичайних (*Capsella bursa pastoris*) та календули *Calendula officinalis*. А також методики їхнього екстрагування.

2. Дати характеристику раковій культурі WISH.

3. Дослідити та порівняти антиканцерогенну дію.

4. Дослідити та проаналізувати небезпечні та шкідливі фактори при роботі в мікробіологічній лабораторії

5. Проаналізувати та визначити фактори які впливають на умови вирощування та відбір рослин

Об'єкт дослідження: вплив екстрактів *Brassica oleracea var italica*, *Calendula officinalis* та *Capsella bursa pastoris* на ракові клітини.

Предмет дослідження: водні та водно-спиртові екстракти *Brassica oleracea var italica*, *Calendula officinalis* та *Capsella bursa pastoris*, ракові клітини WISH.

Методи дослідження: мікробіологічні, фізико-хімічні, аналітичні, статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше виявлено вплив екстрактів *Brassica oleracea var italica*, *Calendula officinalis* та *Capsella bursa pastoris* на епітеліальні клітини амніону людини (WISH).

Практичне значення отриманих результатів. Робота дає змогу оцінити вплив екстрактів *Brassica oleracea var italica*, *Calendula officinalis* та *Capsella bursa pastoris* на інгібування росту епітеліальної клітини амніону людини (WISH).

Матеріали дипломної роботи рекомендується використовувати під час проведення наукових досліджень і в практичній діяльності біотехнологів та лікарів як один із способів подолання та профілактики ракових захворювань.

Особистий внесок випускника. Весь обсяг експериментальних досліджень за темою дипломної роботи, аналіз літературних даних, статистична обробка результатів, їх опис. Експериментальна частина виконана випускником на базі ТОВ «ФЗ БІОФАРМА» в департаменті наукових досліджень та розробок.

РОЗДІЛ 1

ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

1.1. Загальні характеристики та властивості родини *Brassicaceae*

Представники роду *Brassicaceae* неофіційно відомі як хрестоцвіті овочі, капуста або гірчичні рослини. Культури з цього роду іноді називають сільськогосподарськими культурами – похідними від латинського *caulis*, що позначають стебло або стебло рослини. Рід *Brassica* відомий своїми важливими сільськогосподарськими та садівничими культурами і включає низку бур'янів, як диких таксонів, так і одиничні випадки вирощування. Види та сорти капустини, які зазвичай використовуються в їжу, включають в себе брокколі, цвітну капусту, капусту, сиріжку, ріпу та деякі насіння, що використовуються для виробництва олії ріпаку та гірчиці. Вирощують понад 30 диких видів та гібридів, а також численні сорти та гібриди культурного походження. Більшість – це сезонні рослини (однорічні або дворічні), але деякі – це невеликі чагарники [4, 18].

Таблиця 1.1

Таксономія *Brassica oleracea var italica*

| Відділ | Найменування |
|-----------|--------------------------------------|
| Царство | <i>Plantae</i> |
| Відділ | <i>Magnoliophyta</i> |
| Клас | <i>Magnoliopsida</i> |
| Підклас | <i>Dilleniidae</i> |
| Порядок | <i>Capparales</i> |
| Сімейство | <i>Brassicaceae (Cruciferae)</i> |
| Рід | <i>Brassica L.</i> |
| Вид | <i>Brassica oleracea var italica</i> |

Однорічна овочева рослина брокколі (*Brassica oleracea var italica*) (Рис. 1.1). Стебло в перший рік досягає у висоту 60-90 см і утворює зверху безліч сукулентних гілок (квітконосів), що закінчуються щільними групами невеликих зелених бруньок.



Рис. 1.1. *Brassica oleracea var italica*

Існує три загальновирощуваних типи брокколі. Найбільш відомою є брокколі Калабрезе, яку часто називають просто "брокколі", названу на честь Калабрії в Італії. Має великі (від 10 до 20 см) зелені головки і товсті стебла. Однорічна культура, невибаглива до температур. Паросткова брокколі має більшу кількість головок з безліччю тонких черешків. Фіолетова цвітна капуста – це вид брокколі, що вирощується в Європі та Північній Америці (Рис. 1.2). Він має головку у формі цвітної капусти, але складається з крихітних квіткових бруньок. Він іноді, але не завжди, має фіолетовий відтінок на кінчиках квіткових бруньок.



Рис. 1.2. Фіолетова цвітна капуста

Інші групи сортів *Brassica oleracea* включають капусту (група *Capitata*), цвітну капусту та брокколі Romanesco (група *Botrytis*), зелень капусти та груші (*Acerphala Group*), кольрабі (*Gongylodes Group*), брюссельська капуста (*Gemmifera Group*) та кайлан (*Alboglabra*) (Рис. 1.3). Рапіні, який іноді називають "брокколі-рааб" серед інших назв, утворює подібні, але менші голови, і насправді є видом ріпи (*Brassica rapa*). Брокколі або «бренді Тендерсттем» – це щось середнє між брокколі та китайською брокколі. *Beneforte* – різновид брокколі, що містить у 2-3 рази більше глюкорафаніну, одержувана шляхом схрещування брокколі з диким сортом *Brassica*, *Brassica oleracea var villosa* [18].

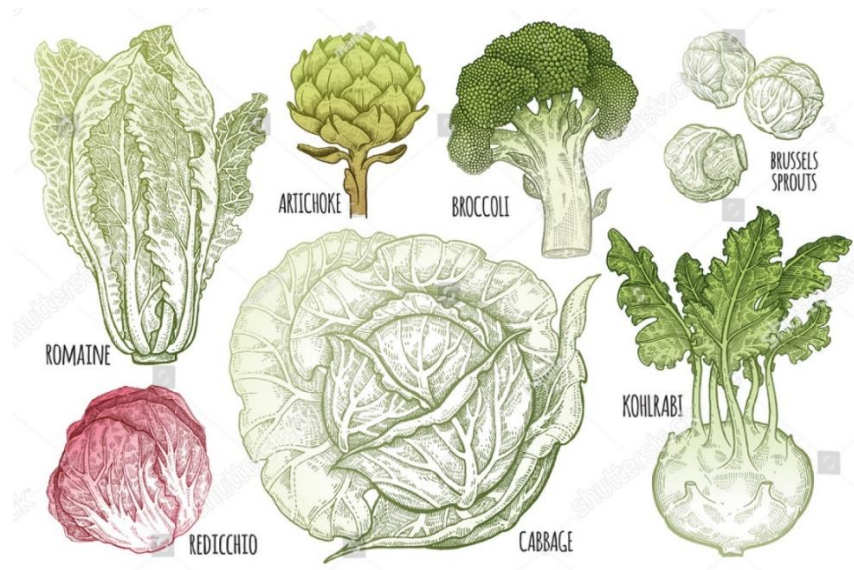


Рис. 1.3. Різноманіття родини Brassicaceae

Крім того, ми досліджували траву *Bursae pastoris* (*Capsella bursa pastoris*). Однорічна трав'яниста рослина висотою 20-30 (60) см. Стебло прямолінійне, просте або розгалужене, з ребристою поверхнею, голе або в нижній частині злегка м'якотне. Листя первоцвіту – у вихідному отворі, видовжені, поздовжні, черешкові, з гострою трикутною розеткою, цілими або зубчастими частками, стебло – сидячими, правильними, поздовжніми, цілими або зубчастими, біля основи стрілок (Рис. 1.4).

Квітки дрібні, правильні, зібрані у верхівкову китицю. Чашолистків і пелюсток по чотири, чашолистки яйцеподібні, пелюстки (2-3 мм завдовжки) білі,

майже вдвоє більша від чашolistків. Тичинок шість, з них дві коротші за інші. Маточка одна, з верхньою зав'яззю, одним стовпчиком і головчастою приймочкою.



Рис.1.4. *Capsella bursa pastoris*

Плід – стиснутий з боків трикутно-оберненосерцеподібний стручечок (5-8 мм завширшки).

Збирають в Україні, Білорусі, Поволжі. Середовище проживання у сирих місцях, частіше серед оброблюваних культур, у парках, уздовж доріг, у дворах, садах.

Пасаж відбувається влітку, у фазі цвітіння, траву косять або обрізають. Відділяють домішки коренів, поживклі листя, забруднені ґрунтом. Збір подібної рослини – *Thlaspi arvense*, що відрізняється круглоеліптичними формами, не дозволяється [4, 19].

Для виготовлення ліків використовується трава (Herba Bursae pastoris), зібрана під час цвітіння рослини, коли на ній починають формуватися нижні плоди. Бажано виривати рослини з коренем, який потім обрізають, залишаючи корінь пустим листя (при скошуванні розетки листя залишаються невикористаними, а сировина буде низької якості). Висушують траву під наметом, тоді стебла не будуть ламкими. Суха сировина становить 20%. Термін придатності – 3 роки. Сировина продається в аптеках [4, 19].

Таксономія *Capsella bursa pastoris*

| Відділ | Найменування |
|---------|--------------------------|
| Царство | <i>Plantae</i> |
| Відділ | <i>Angiosperms</i> |
| Клас | <i>Eudicots</i> |
| Підклас | <i>Rosids</i> |
| Порядок | <i>Brassicales</i> |
| Родина | <i>Brassicaceae</i> |
| Рід | <i>Capsella</i> |
| Вид | <i>C. bursa-pastoris</i> |

1.2. Біоактивні компоненти родини *Brassicaceae* та їх роль

Сувіття брокколі є хорошим джерелом оздоровчих сполук, оскільки воно містить глюкозинолати, флавоноїди, гідроксикоричні кислоти та інші незначні сполуки [21]. Глюкозинолати виробляються майже виключно в рослинах Brassica, де, як вважають, вони відіграють роль у захисті мікробів та комах. Коли рослинні клітини порушуються (наприклад, під час різання, жування, варіння та заморожування), глюкозинолати гідролізуються ферментом β -тіоглюкозидази (мірозиназою) до різних біоактивних продуктів розпаду (ізотіоціанатів, нітрилів, тіоціанатів, епітіціанатів, епітіонітрилів та оксазолідинів). Різні глюкозинолати були виявлені в паростках брокколі за допомогою рідинної хроматографії – мас-спектрометрії та рідинної хроматографії / тандемної мас-спектрометрії, такі як глюкоїберин, глюкохеїролін, глюкорафанін, прогітрин, синігрін, глюкоалізін, глюконапін, глюкоїберверин, 4-гідроксиглюкобрасицин, глюкобрасицин, глюкобрасицин, глюкобрасицин метоксиглюкобрасицин, глюконаполейферин та неоглюкобрасицин.

Індол-3-карбінол – частина хрестоцвітних овочів, зокрема, таких як брокколі, цвітна капуста, капуста, брюссельська та садова капуста. Індоли – це продукти глюкозинолатів.

Брокколі містить вітаміни А, С, Е, В1, В2, РР та мінеральні речовини (калій, кальцій, залізо, натрій, фосфор, магній, мідь, марганець, йод, хром, бор). Брокколі містить метіонін, тіамін, фолієву кислоту, холін та рибофлавін. Брокколі є серед овочів одним з найвищих рівнів вітаміну U (протівирозковий фактор). Вітаміну С у цій капусті в 2,5 рази більше, ніж у тих же цитрусових. Бета-каротин присутній у брокколі в тих самих кількостях, що і в моркві та гарбузі, і трохи менше, ніж у спаржі.

Біологічна активність харчових індолів пов'язана з їх здатністю індукувати активність системи монооксигенази та деяких ферментів метаболізму фази II ксенобіотиків (глутатіон трансферази). Існують дані епідеміологічних спостережень про існування певного зв'язку між високим рівнем споживання індол-3-карбінолу та зниженим ризиком розвитку деяких типів гормонозалежних пухлин.

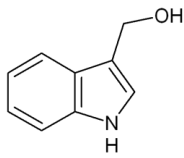
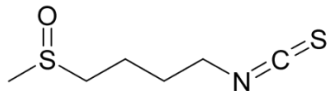
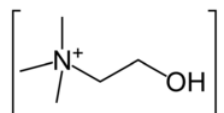
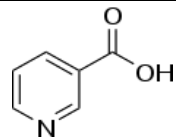
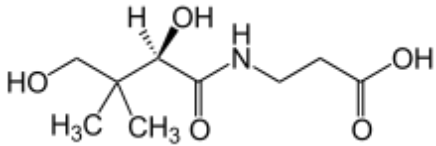
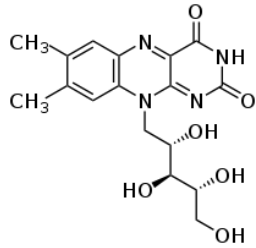
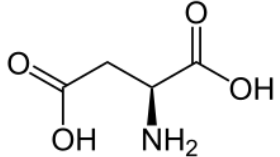
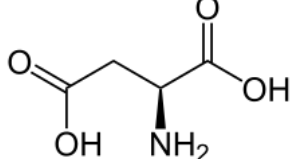
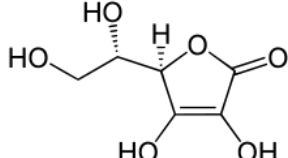
Брокколі містить особливу речовину – сульфорафан. Він запобігає утворенню ракових клітин, а також вбиває бактерії, які викликають виразку шлунка.

Сульфорафан (SFN) – найбільш характерний ізотіоціанат. SFN привертає велику увагу завдяки своїй здатності одночасно модулювати безліч клітинних мішеней, що беруть участь у розвитку раку, в тому числі: захист ДНК шляхом модуляції ферментів, що метаболізують канцероген, та блокування дії мутагенів; інгібування клітинної проліферації та індукція апоптозу, тим самим уповільнюючи або усуваючи клональне розширення ініційованих, трансформованих та / або новоутворених клітин; пригнічення неоангіогенезу, прогресування доброякісних пухлин у злоякісні пухлини та формування метастазів.

Отже, SFN здатний запобігати, затримувати або інгібувати передпухлинні ураження, а також діяти на ракові клітини як терапевтичний засіб [16, 18, 19]. Структура та вміст основних біологічно активних сполук наведено в таблиці 1.3.

Крім того, суцвіття містить макроелементи (мг / г): Ca – 47,00; Cu – 0,049; Fe – 0,73; Mg – 21,00; Mn – 0,210; P – 66,00; K – 316,00; Na – 33,00; Zn – 0,41.

Біологічно-активні речовини *Brassica oleracea var italia*

| № | Речовина | Структурна формула | Вміст (мг\ 100г) |
|----|-------------------------|--|------------------|
| 1 | Індол-3-карбінол |  | 162-248 |
| 2 | Сульфорафан |  | 22.26 |
| 3 | Незамінні жирні кислоти | | 0.038 |
| 4 | Холін |  | 18.7 |
| 5 | Ніацин |  | 0.639 |
| 6 | Пантотенова кислота |  | 0.573 |
| 7 | Рібофлавін |  | 0.117 |
| 8 | Аспаргінова кислота |  | 0.325 |
| 9 | Глютамінова кислота |  | 0.542 |
| 10 | Вітамін С |  | 89.2 |

Capsella bursa pastoris здебільшого включає флавоноїди. Були вказані 3 флавоноїди з трав. Звичайні – рутин, гесперидин та невстановлена сполука. За кількістю гесперидину найбільше, за вмістом – рутин та незначна кількість неідентифікованих флавоноїдів. Якісний склад флавоноїдів у різних органах однаковий. Максимальний вміст флавоноїдних речовин спостерігається в листі, квітках трави на початку цвітіння. У коренях флавоноїди відсутні [23]. Також ідентифіковані дигідрофізітин, камперферол-4-метиловий ефір, кверцетин-3-метиловий ефір, складний ефір госипетину, діосмін, робінетин і гарбанзол.

Трава грициків звичайних містить флавоноїди (рутин, лютеолін-7-глюкозид), холін, ацетилхолін, тирамін, інозит, рамноглікозид гісопін, дубильні речовини, бурсову, винну, лимонну, фумарову, яблучну кислоти, багато калію, вітаміни А, В2, С, К, флавоновий глікозид діосмін, смоли, сапоніни, фітонциди, каротин, ефірна олія. У насінні грициків звичайних є жирна і аллілгорчична олія.

Співробітники Фармацевтичного університету Шеньяна провели дослідження зернових культур, вирощених у провінціях Цзянсу та Аньхой (Китай).

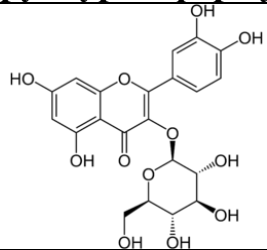
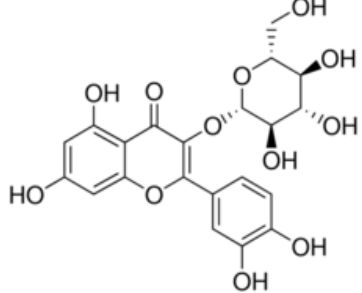
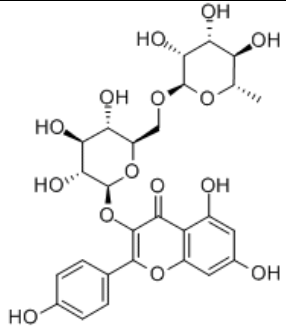
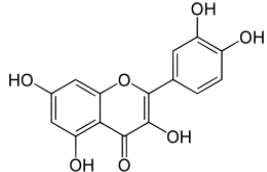
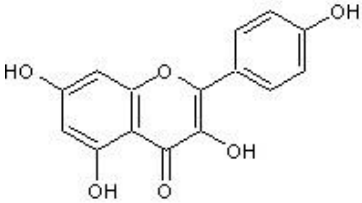
Після триразової екстракції сировини 75% етанолом (3 години, $t = 900\text{ }^{\circ}\text{C}$) були виділені та вперше для цього роду ідентифіковано дев'ять флавоноїдів: трицин, камферол, кверцетин, камперферол-7-О- α -ламанопіранозид, кверцетин-3-О- β -D-глюкопіранозид, кверцетин-6-С- β -глюкопіранозид, камферил-3-О- β -D-глюкопіраноза-7-О- α -L-рамнопіранозид, кверцетин-3-О- β -D-глюкопіраноза-7-О- α -L-рамнопіранозид та камперферол-3-О-рутинозид [24].

Також *Capsella bursa pastoris* містить органічні кислоти. Яблучна та лимонна кислота, вміст яких становить 97% від загальної вартості. Крім того, у сировині цієї трави переважають ліноленова, лінолева та олеїнова кислоти: 48,53%, 17,18%, 12,44% відповідно. У насінні тих самих грацій у найбільших кількостях міститься олеїнової кислоти – 22,86%, трохи менше, ніж лінолевої та пальмітинової – 20,59% та 18,17%, відповідно. Жирна олія, отримана з коренів рослини, у найбільшій кількості містить пальмітинову (44,08%) та олеїнову (16,10%) кислоти.

Крім того, суцвіття містить макроелементи (мг / 100г): Ca – 159,00; Na – 34,00; Fe – 4,80; Mg – 84,00; Mn – 0,210; P – 65,00; K – 475,00; Zn – 0,55 [23, 24, 25].

Таблиця 1.4

Біологічно-активні речовини *Capsella bursa pastoris*

| № | Речовина | Структурна формула | Вміст (мг/кг) |
|--------------------|--------------------------------|--|---------------|
| 1 | кверцетин-6-С-β-глюкопіранозид |  | 793,90±8,80 |
| 2 | кверцетин-3-О-глюкопіранозид |  | 426,26±1,01 |
| 3 | капмерферол-3-О-рутинозид |  | 2314,61±11,59 |
| 4 | кверцетин |  | 16,36±0,59 |
| 5 | камперферол |  | 16,01±0,12 |
| Загальна кількість | | | 3567,15±1,31 |

1.2.1. Індол-3-карбінол

Основні функції:

- сприяє детоксикації та нейтралізації отрут, у тому числі з прокарциногенними та канцерогенними властивостями, шляхом активації ферментів печінки;

- знижує ризик розвитку ряду гормонозалежних пухлин;
- зупиняє ріст пухлинних клітин вірусу папіломатозу людини (ВПЛ)
- це природний антиоксидант, який уповільнює процеси старіння;
- підтримує гормональний баланс у жінок та чоловіків;
- Забезпечує здоров'я репродуктивних органів та захищає їх від розвитку раку.

Ліки, що містять Індол-3-карбінол, застосовуються на заході більше 15 років. Їх використання дало хороші результати для профілактики та лікування раку шийки матки, поширення яких серед жінок, що мешкають у великих містах, стає епідемією (щорічно у світі трапляється близько півмільйона нових випадків захворювань, майже всі вони пов'язані з ВПЛ-інфекцією).

Індол-3-карбінол індукує зупинку росту G1 репродуктивних ракових клітин людини. Це потенційно має значення для профілактики та лікування раку, оскільки фаза G1 росту клітин відбувається на початку життєвого циклу клітини, і для більшості клітин є основним періодом клітинного циклу протягом його життя. Фаза G1 відзначається синтезом різних ферментів, необхідних у наступній ("S") фазі, включаючи ті, що необхідні для реплікації ДНК.

Ще в 1992 році було достовірно встановлено, що існував зворотний зв'язок між високим рівнем вживання хрестоцвітних овочів (різні види капусти, редьки, ріпи, сирійки) та частотою пухлин тонкої та товстої кишок, а також пухлин молочної залози, матки у жінок та рак передміхурової залози у чоловіків. Вважається, що для отримання сприятливого ефекту необхідно щодня споживати більше 900 грам листової зелені, як альтернативу використанню індол-3-карбінолу для профілактики та лікування раку, пухлин ВПЛ.

Індол-3-карбінол - продукт розпаду глюкозинолату глюкобрасицину (індол-3-глюкозинолат), який у великій кількості міститься в хрестоцвітних овочах:

Навіть державний діяч Стародавнього Риму Марк Порцій Катон Старший (234-149 рр. до н. е.) у своєму медичному трактаті згадував про протипухлинну дію

капусти: "Якщо на грудях розвинеться злаякісна виразка, прикріпіть подрібнений капустяний лист, і він заживе. "

У наш час вчені довели, що ІЗС захищає від раку. Самі глюкозинолати мають мінімальну протипухлинну активність. Більш активний ІЗС синтезується з індол-3-глюкозинолату під дією ферменту мірозинази, який активується лише під час помелу або кулінарної обробки капусти [12].

Індол-3-карбінол є потужним онкопротектором, оскільки:

- модулює метаболізм естрогену в печінці, зменшуючи частку канцерогенних метаболітів, і, навпаки, збільшуючи концентрацію онкопротекторних фракцій;
- блокує біохімічну активність альфа-рецепторів до естрогену в епітеліальних та пухлинних клітинах;
- безпосередньо блокує клітинний цикл пухлинних клітин;
- підвищує активність детоксикаційних ферментів печінки, які метаболізують різні токсини та канцерогени;
- забезпечує потужний антиоксидантний захист, рятуючи клітини від пошкодження вільними кисневими радикалами;
- сприяє апоптозу (загибелі) ракових клітин.

Особливо ефективний захист спостерігається щодо раку молочної залози та шийки матки, оскільки індол-3-карбінол впливає на метаболізм естрогену.

Індол-3-карбінол також запобігає утворенню небезпечних метаболітів у процесі трансформації жіночих статевих гормонів естрогену. Він блокує утворення 16-С-гідроксиестрону, який, міцно зв'язуючись з естрогензалежними рецепторами, викликає неконтрольовані проліферативні процеси, будучи канцерогеном проти ряду органів: репродуктивних органів не тільки жінок (перш за все матки та молочні залози), а також репродуктивні органи чоловіків, шлунково-кишковий тракт, підшлункова залоза та щитовидна залоза. Відбувається зсув у співвідношенні метаболітів жіночих статевих гормонів – естрогену на користь утворення 2-С-гідроестрону, що є безпечним [12].

1.2.2. Сульфорафан

Капуста містить попередник сульфорафану глюкорафаніну (Рис. 1.5). При пошкодженні рослини (що відбувається, наприклад, при жуванні), рослинний фермент мірозіназа перетворює глюкорафанін в сульфорафан, який є антибактеріальним засобом і бере участь у системі захисту рослин від інфекції.

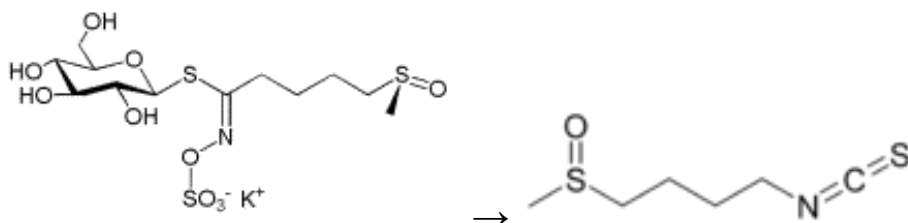


Рис. 1.5. Перетворення глюкорафаніну в сульфорафан

Сульфорафан – це органічна сполука сірки, що міститься в природі. Сульфорафан знижує активність генів, відповідальних за виникнення раку, має потужну онкопротекторну властивість. Дослідження показують, що сульфорафан викликає апоптоз (програмовану загибель клітин) у клітинах товстого кишечника, передміхурової залози та молочної залози. Апоптоз (рис. 1.6) – це форма запрограмованої загибелі клітин, яка відбувається в багатоклітинних організмах. Біохімічні події призводять до характерних клітинних змін (морфологія) та смерті. Ці зміни включають усадку клітин, фрагментацію ядер, конденсацію хроматину, фрагментацію хромосомної ДНК та глобальний розпад мРНК [13].

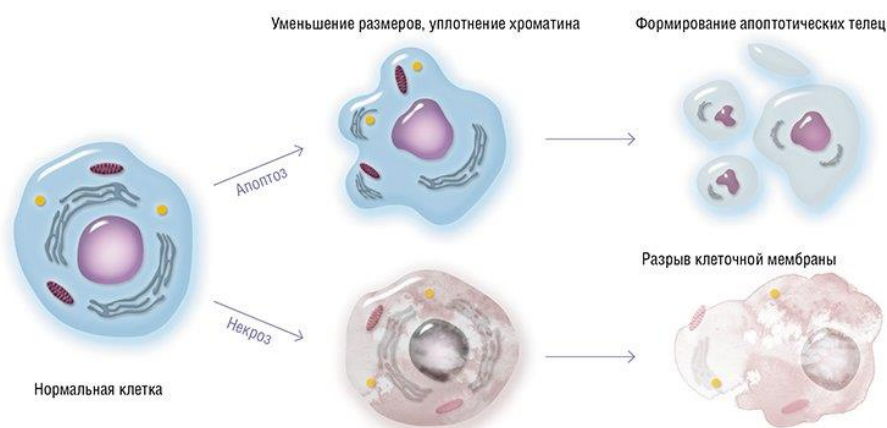


Рис. 1.6. Апоптоз та некроз клітини

Сульфорафан стимулює вироблення ферментів, що захищають судини. Зменшує кількість реактивного кисню, який пошкоджує клітини, на 73%. Уповільнює старіння та пошкодження шкіри, пригнічуючи глікірування білка (глікований колаген).

Сульфорафан – потужний індуктор детоксикаційних ферментів фази 2 (S-трансфераза глутатіону та хінонредуктази), виявляє клітинні антиоксидантні та протизапальні властивості; активізує детоксикацію та сприяє виведенню канцерогенів.

Це запобігає збереженню жирових відкладень, спричинених накопиченням токсинів. Є дані, що сульфорафан вбиває бактерію *Helicobacter pylori*, яка живе в шлунку і викликає виразку.

Сульфорафан, що видобувається з паростків брокколі, активує ферменти детоксикації в 10-100 разів ефективніше, ніж із зрілої брокколі [26].

1.2.3. Рутин

Рутин або 3,5,7,3',4'-пентагідроксифлавоон-3-рутозид, або 3-глюкорамінозид кверцетин, або вітамін Р – рослинна сполука, яка вперше була виділена з трави Рут К. Вайссом в 1842 році. Завдяки поняттю вітамін Р включають комплекс флавоноїдів з капілярно-зміцнюючою активністю. Цей термін поєднує, по-перше, з рутиною його агломерат кверцетин, рутозид камфеферол, камферол, дигідрокверцетин, катехін, цитрусові, катехіни чаю та інші. Структура встановлена М.О. Валяшко (1903) під час роботи над дисертацією «Рутина рути (*Ruta graveoleus* L.)». У промислових масштабах виділяється з бруньок японської софори (див. Японський шафран), листя евкалипта, трав гречки, листя тютюну, форзиції, гортензії [27].

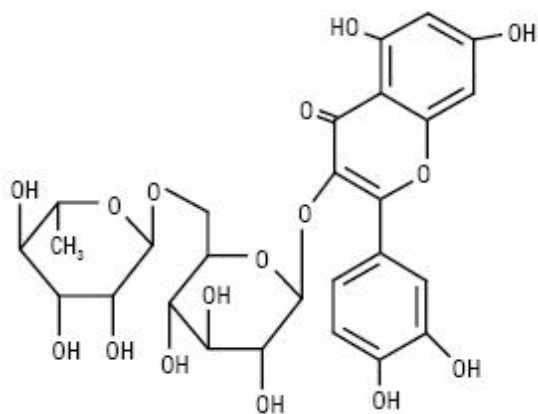


Рис. 1.7. Хімічна структура рутину

Вітамін Р – зеленувато-жовтий кристалічний порошок без запаху і смаку; практично нерозчинний у воді, слабо розчинний у етанолі, практично не розчинний у розчинах кислот, ефіру, хлороформу, ацетону та бензолу, розчинний у розчинах їдких лугів: 1 г Р розчиняють у 8 літрах води або 200 мл окропу, 7 мл метанолу, етилацетату; гідролізується за допомогою рамнодистаста і не гідролізується за допомогою емульсину, температура плавлення 210 ° С, максимальне поглинання УФ при 259 та 362 нм [27].

Рутин пригнічує гіалуронідазу, захищає гіалуронову кислоту та колаген від деполімеризації, захищає аскорбінову кислоту від окислення, створюючи умови для її більш тривалої дії. Рутин здатний (особливо в поєднанні з аскорбіною кислотою) ущільнювати стінки судин і зменшувати їх крихкість. Тому його використовують для профілактики та лікування авітамінозу Р при захворюваннях, що супроводжуються підвищеною проникністю судин (геморагічний діатез, кровотворення в сітківці очей, капілярний токсикоз, променева хвороба, септичний ендокардит, для профілактики та лікування ураження капілярів). Крім того, рутин виявляє радіопротекторну, антиоксидантну, спазмолітичну, ранозагоювальну, антидотну, протиалергічну, протизапальну, противірусну дію, полегшує стан онкологічних хворих, які отримують променеву терапію, є засобом профілактики мозкових крововиливів [27].

1.2.4. Гесперидин

Гесперидин (гесперидин-7-рамоглюкозид, гесперидин-7-рутинозид) - речовина з флавоїдною структурою, подібною за властивостями до рутину та кверцетину. Розчинний у кислотах та лугах.

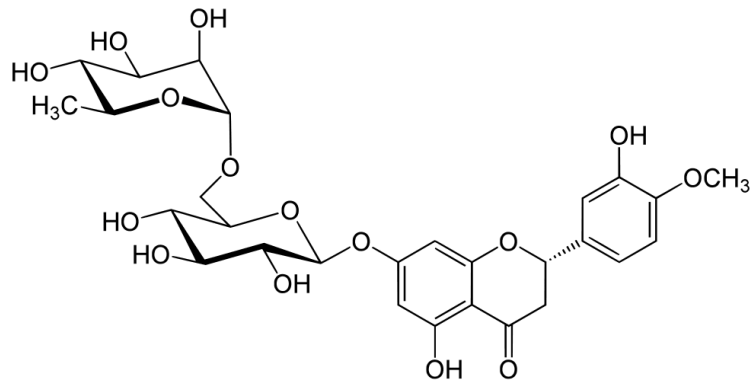


Рис. 1.8. Хімічна структура гесперидину

Він працює спільно з вітаміном С, разом з яким він знаходиться в природі. Натуральний С-комплекс має виражену антиоксидантну дію, зменшує запалення, зміцнює колаген та сполучну тканину в цілому. Клінічні випробування показали, що вітамін С та гесперидин окремо не мають такого терапевтичного ефекту, який вони виявляють у комплексі. Вітамін С, як антиоксидант, захищає біофлавоноїди від руйнування, надаючи їм можливість здійснювати свої цілющі властивості.

Основні функції:

- антиоксидант, протизапальний, протиалергічний, імуностимулятор;
- спазмолітичну, гіполіпідемічну, судинозахисну, жовчогінну, сечогінну, протипухлинну, антибактеріальну, знеболюючу, ранозагоювальну, седативну дію;
- вироблення колагену, зміцнення сполучної тканини;
- тонізуюча дія на вени;
- поліпшення периферичного кровообігу та лімфотоку;
- поліпшення реології крові;
- зниження рівня холестерину;
- пригнічення синтезу гістаміну;

- блокування дії ферментів: фосфоліпази A₂, ліпоксигенази, HMG-CoA редуктази та циклооксигенази;
- поліпшення функції печінки;
- регуляція функції залоз внутрішньої секреції;
- нормалізація рівня естрогену;
- пригнічення втрати кісткової маси за рахунок зменшення кількості остеокластів;
- захист від сепсису.

Антагоністи (знищують або виводять з організму): вода; світло; температура; кисень; куріння; приготування їжі.

1.3. Загальні характеристики та властивості родини *Asteraceae*

Айстрові (*Asteraceae*) або Складноцвіті (*Compositae*) - родина рослин, найбагатша за кількістю видів серед еудікотів: включає понад 30 000 видів, які входять у майже 2 000 родів. Її представники поширені на всіх континентах (крім Антарктиди) і зустрічаються у різних рослинних угрупованнях. У флорі України зустрічається 695 видів. Серед Айстрових трапляються такі життєві форми як трави, напівкущі, кущі, рідше дерева (наприклад, скалезія, брахілена), представники цієї родини можуть бути епіфітами або сукулентами.

Серед айстрових багато овочевих культур: латук посівний, скорзонера, земляна груша – топінамбур. Соняшник – важлива олійна рослина. Із деяких айстрових виготовляють напої, що нагадують за смаком каву (цикорій, кульбаба). Кок-сагиз та тау-сагиз використовують як технічні культури для отримання каучуку. Піретрум є джерелом інсектицидів. Чорнобривці використовуються у деяких органічних господарствах, оскільки вважається, що їхнє коріння виділяє речовини, які відлякують нематод[4,11].

Багато айстрових вирощують як декоративні рослини (хризантеми, айстри, ромашки, жоржини, гербери, стокротки, чорнобривці), частина із них є лікарськими (ромашка лікарська, пижмо, деревій, кульбаба, полин, череда, нагідки, ехінацея). З

одного із видів полину був вперше виділений сантонін – речовина, що використовуються для боротьби з глистами. Інший вид полину додають як приправу до м'яса.

Волошка, соняшник однорічний та деякі види золотушника входять до числа основних медодайних рослин.

Серед Айстрових багато бур'янів (осот, кульбаба, будяк, лопух, пушнік тощо). Окремі представники можуть бути небезпечними чи то отруйними (геленіум, жовтозілля, *Ageratina altissima*) для людини. Найбільш відома амброзія, точніше її пилок, який, потрапляючи у дихальні шляхи людини, спричиняє алергію.

Нагідки лікарські або календула лікарська (*Calendula officinalis*) – вид однорічних трав'янистих рослин роду нагідки(Рис. 1.9).



Рис.1.9. *Calendula officinalis*

Calendula officinalis мають сильно виражені бактерицидні властивості відносно багатьох збудників хвороб, особливо стафілококів та стрептококів. Препарати з них застосовують для лікування опіків, ран, для полоскання горла при

хронічному тонзиліті та порожнини рота при стоматиті. Квітки *Calendula officinalis* містять каротиноїди, флавоноїди.

Нагідки лікарські – трав'янистий однорічник з прямостійним, розгалуженим вгорі стеблом, заввишки 40-70 см. Листки рослини чергові, нижні – довгасто-оберненояйцеподібні, верхні – ланцетні. Квітки – від солом'яно-жовтих до червоно-помаранчевих, зібрані у верхівкові суцвіття – кошики. Крайні квітки – язичкові, утворюють плоди, серединні – трубчасті, безплідні, має тривалий період цвітіння (з кінця червня до осінніх заморозків). Вегетаційний період – 65-75 днів.

Плід – сім'янка (насіння дрібне, маса 1000 насінин – приблизно 12 г), дозріває у серпні. Порівняно маловибаглива рослина до умов вирощування. Добре росте і розвивається на освітлених ділянках, забезпечених вологою[4].

Таблиця 1.5

Таксономія *Calendula officinalis*

| Відділ | Найменування |
|---------------|------------------------------|
| Царство | <i>Plantae</i> |
| Відділ | <i>Magnoliophyta</i> |
| Клас | <i>Dicotyledoneae</i> |
| Підклас | <i>Asterids</i> |
| Порядок | <i>Asterales</i> |
| Сімейство | <i>Asteraceae</i> |
| Рід | <i>Calendula</i> |
| Вид | <i>Calendula officinalis</i> |

У квіткових кошиках містяться каротиноїди: каротин, лікопен, віолоксантин, цитраксантин, рубіксантин, флавохром. Надземні частини містять до 10% календину (гіркоти).

Запахом квіти календули завдячують ефірним оліям. У суцвіттях календули містяться смоли (близько 3,4%), слиз (2,5%), азотовмісні слизи (1,5%), кислоти –

яблучна (6-8%) та сліди саліцилової кислоти. Квіткові кошики містять невивчені алкалоїди, в коренях виявлений інουλін.

Батьківщина нагідок – Центральна та Південна Європа, Передня Азія та Близький Схід. У дикому вигляді нагідки лікарські ростуть у країнах Середземномор'я.

Рослину широко культивують як декоративну у Європі та США.

В Україні дикорослі нагідки не зустрічаються, проте рослина широко розповсюджена, її вирощують для медичних потреб на спеціальних плантаціях, саджають на городах та присадибних ділянках.

Судиття нагідок допомагають загоєнню та прискорюють епітелізацію при виразках та атопічних шкірних ранах, мають протизапальну та протимікробну дію. Водні витяжки з нагідок мають бактерицидну дію щодо багатьох патогенних мікроорганізмів, особливо стафілококів. Детальні дослідження впливу водних витяжок з нагідок на експериментальні виразки шлунка у пацієнтів показали, що нагідки мають добре виражений ульцепротективний ефект, який запобігає появі деструктивних змін у слизовій оболонці шлунка у 40-70 % хворих. Тому нагідки приписують при запальних процесах слизової оболонки ротової порожнини, шлунка та дванадцятипалої кишки, гастриті, дитячій диспепсії, стрептококової та стафілококової інфекції, гнійних ранах, піореї, карбункулах та фурункулах, ранах від опіків, виразках від розширення вен та склерозу судин[10].

Квітки нагідок діють заспокійливо на центральну нервову систему, знижують рефлекторну збудливість, посилюють діяльність серця, тобто збільшують амплітуду серцевих скорочень та уповільнюють ритм. Приписують при серцевих захворюваннях з порушенням ритму та гіпертонічній хворобі, у клімактеричний період. 20 % спиртова витяжка з нагідок дає добрий антигіпертонічний ефект та знаходить застосування у стоматології для лікуванні стоматитів, афтозу, парадонтозу. Водні витяжки нагідок мають холеретичну (жовчотворну) дію при жовчній дискінезії та хронічно.

Величезну роль у лікуванні онкологічних недуг на будь-якій стадії грає *Calendula officinalis*. Вона здатна відновлювати клітини організму, володіє

протизапальними, ранозагоювальними, бактерицидними, спазмолітичними та жовчогінними властивостями до холециститі.

Для приготування ліків збирають квіткові кошики без квітконосів, у період майже повного розкриття квіток. Сушать у теплому провітрюваному приміщенні або під укриттям на відкритому повітрі у затінку. Досушують у сушарках при температурі 40-45 °С. Термін придатності сировини - 1 рік.

В сучасній фармакотерапії квіти нагідок представлені у вигляді таблеток, мазі, настоянок та брикетів.

1.4. Біоактивні компоненти родини *Asteraceae* та їх роль

Квітки календули містять каротиноїди, смоли, слизу, гіркоти (календен), флавоноїди, саліцилову і яблучну кислоти, тритерпенові глікозиди, сапонін, фітонциди. Концентрує цинк, мідь, молібден і селен.

Календула має виражену протизапальну, бактерицидну, протівірусну, антимикотическим, ранозагоювальну, спазмолітичну властивість; покращує процеси регенерації; збуджує секреторну активність травних органів; стимулює жовчоутворення і жовчовиділення; виявляє седативну і антиаритмічну (урежає серцебиття) дію. Володіє онкопротективною активністю. Встановлено високу протівірусну активність календули щодо вірусу грипу типів А і А2, *in vivo* виявлена здатність календули долати віруси простого герпесу[10].

1.4.1. Каротиноїди

Поряд із зеленими пігментами в хлоропластах є й такі, що належать до групи каротиноїдів. Каротиноїди – це найпоширеніші в рослинному світі жиророзчинні жовті, оранжеві та червоні пігменти аліфатичної будови. Вони є обов'язковим компонентом фотосинтетичного апарату. За хімічною природою всі вони – полімери вуглеводню і складають ланцюг із 40 вуглецевих атомів (Рис. 1.10), побудований з 8 залишків ізопрену.

Довжина ланцюгів досягає 3 нм і вони часто закінчуються шестичленними циклами. Каротиноїди можуть бути ациклічними (лікопін), моноциклічними або біциклічними. Окиснені форми каротиноїдів називають ксантофілами. Ксантофіли становлять близько 50% всіх каротиноїдів листка.

У хлоропластах вищих рослин поряд із хлорофілами найчастіше трапляються β -каротин ($C_{40}H_{56}$) і ксантофіли – лютеїн ($C_{40}H_{56}O_2$) і віолаксантин ($C_{40}H_{56}O_4$). В значних кількостях є також α -каротин і неоксантин.

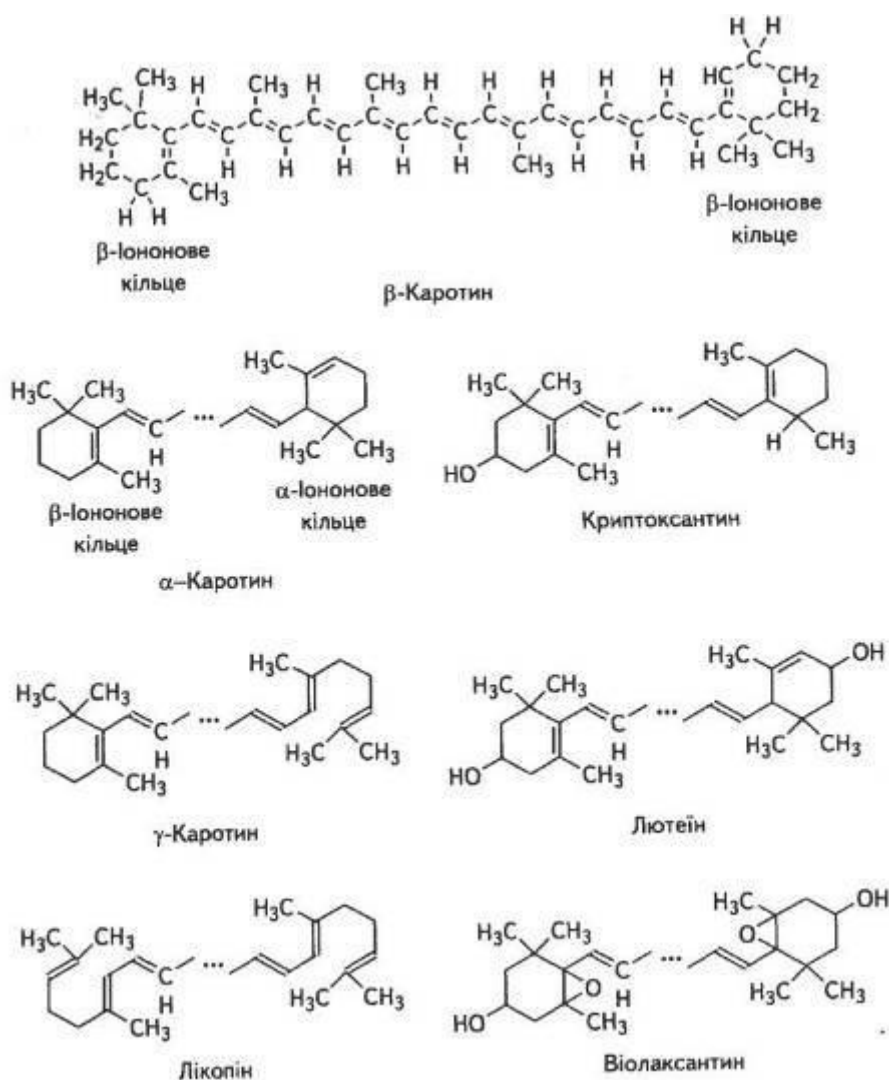


Рис. 1.10. Хімічна структура каротиноїдів

Каротини, як і ксантофіли, характеризуються гідрофобними властивостями, тому добре розчинні в жирах, що дає їм змогу формувати комплекси в ліпідному прошарку мембрани. Ксантофіли, порівняно з каротинами, мають різноманітнішу

структуру, бо до їхнього складу можуть входити різні групи, що містять O_2 , а саме: гідроксильні, метоксильні, кетогрупи та інші. Між собою ксантофіли відрізняються лише ступенем окиснення.

Як допоміжні пігменти фотосинтетичного апарату каротиноїди забезпечують поглинання квантів двома піками в синьо-фіолетовий та синій областях спектра (420...490 нм) і деякою мірою в зеленій (490...550 нм). Максимуми поглинання залежать від замісників біля вуглецевого скелета, типу розчинника та кількості подвійних зв'язків. В амплітуді від 400 до 550 нм вони, як правило, мають дві-три смуги поглинання.

Отже, каротиноїди розширюють спектр дії фотосинтезу, забезпечуючи, поглинання від 10 до 20 % енергії сонячних квантів, причому близько 50 % енергії поглинається в короткохвильовій області – зоні високих енергій. Ці пігменти виконують функцію світлопоглинання, передаючи енергію свого електронно-збудженого стану до хлорофілу а. Зворотний процес передачі неможливий. Слід підкреслити, що каротиноїди, на відміну від хлорофілів, не здатні до флуоресценції.

Такі каротиноїди, як віолаксантин, неоксантин, зеаксантин та інші, поглинаючи світло в короткохвильовій високоенергетичній частині спектра, виконують захисну функцію, як хімічні буфери в реакціях фотосинтезу. Можливий механізм захисту полягає в тому, що каротиноїди здатні реагувати зі збудженою молекулою хлорофілу, забираючи від нього енергію, чим попереджають його фотоокиснення. Енергія фотозбудженої молекули хлорофілу переходить до каротиноїду, хлорофіл набуває нормального енергетичного стану, а енергія виділяється у вигляді тепла. Завдяки цьому каротиноїди оберігають хлорофіл та інші біологічно активні сполуки від фотоокиснення.

Слід згадати, що каротиноїдам належить ще одна специфічна функція в регулюванні фотосинтетичного апарату рослинного організму. Річ у тім, що хлоропласти переміщуються в клітині під впливом синіх променів, які знову ж таки поглинаються каротиноїдами.

Фізіологічна функція каротиноїдів не обмежується їхньою участю в передачі енергії на молекули хлорофілів. Каротиноїди – переносники активного кисню, вони

беруть участь в окисно-відновних реакціях завдяки наявності значної кількості подвійних зв'язків. Їм належить певна функція у статевому процесі рослин, а саме: вони зумовлюють забарвлення пелюсток квітів, плодів, коренеплодів. Залишається мало з'ясованою їхня функція в кисневому обміні, участь у формуванні фотоперіодичної реакції, в ростових процесах, зокрема під час проростання насіння, в проявах фототаксису та фототропізму.

Каротиноїди мають антиоксидантну активність, впливають на регуляцію росту і диференціювання клітин, модулюють експресію генів і імунну відповідь. Ряд досліджень показує, що бета-каротин, яку містить їжа попереджає виникнення і розвиток раку. Одним з можливих механізмів реалізації цього ефекту може бути посилення імунної відповіді. Показано, що бета-каротин збільшує активність лімфоцитів і стимулює напрацювання інтерлейкіну-2 (ІЛ-2) у онкопацієнтів зі зниженим імунітетом. ІЛ-2 визначає рівень активності Т лімфоцитів і може опосередковувати цитотоксическіе реакції щодо ракових клітин. Астаксантин, каротиноид без провітамін А активності може також надавати протипухлинну дію за допомогою посилення імунної відповіді, збільшення активності цитотоксичних Т лімфоцитів і продукції гамма-інтерферону [4, 10].

Епідеміологічні дослідження пов'язують високе споживання каротиноїдів і концентрацію їх в тканинах зі зниженням розвитку серцево-судинних і онкологічних захворювань.

1.4.2. Флавоноїди

Флавоноїди – похідні фенольних сполук, жовті, коричневі пігменти рослин. Вони виявляють різноманітну фітотерапевтичну дію. Зустрічаються в багатьох рослинах у вигляді глікозидів, а також і в чистому вигляді. Найвідоміші у фітотерапії флавоноїди: рутин, гесперидин, гіперозид, кверцетин, кемпферол та апігенін [23].

Флавоноїди – природні фенольні сполуки, що нагромаджуються в усіх органах рослин у формі глікозидів. Залежно від ступеня окиснення піранового фрагменту

флавоноїди поділяють на катехіни, антоціани, халкони, флаванони, флаволи, флавоноли.

Флавоноїди – група ароматичних речовин із загальною формулою $C_6-C_3-C_6$. Молекула складається з двох фенільних залишків А і В, з'єднаних пропановою ланкою, яка може замикатись в кисневмісний гетероцикл С. Поділяються на істинні, ізофлавоноїди, неофлавоноїди. Істинні флавоноїди мають фенільний замісник біля С-2, а кетонну групу в положенні С-4. Це катехіни, флаванони, антоціанідини. Ізофлавоноїди мають фенільний замісник біля С-3, кетонну групу – теж в положенні С-4. Виділяють прості (похідні ізофлавану та ізофлавану) і конденсовані похідні (птерокарпани). Неофлавоноїди мають фенільний замісник біля С-4, кетонну ж групу – навпаки, в положенні С-2.

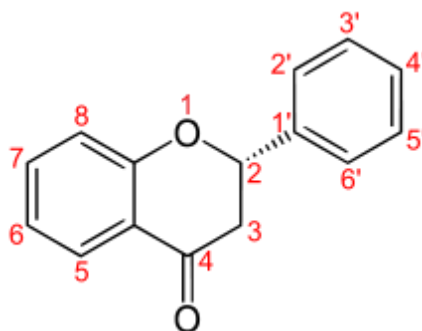


Рис. 1. 11. Хімічна структура флавоноїдів

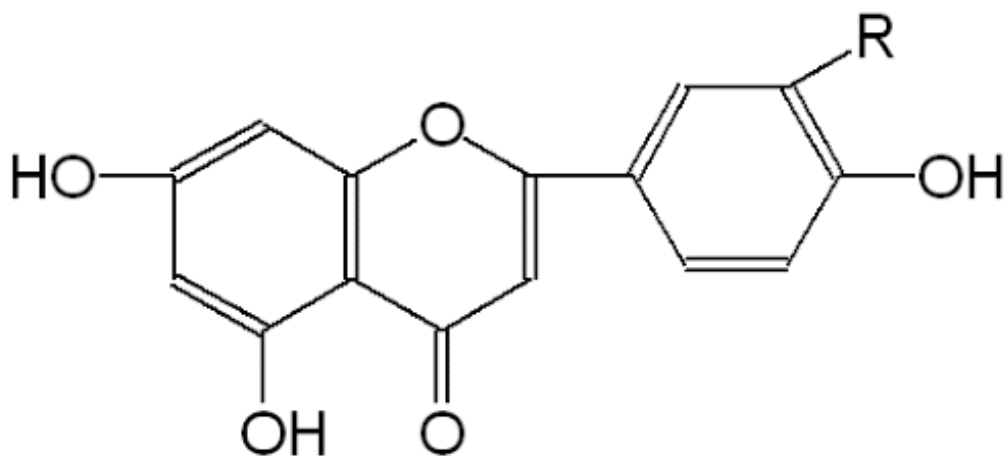
Найістотніша фармацевтична дія флавоноїдів полягає в регулюванні стану капілярів, зокрема вони підвищують їхню проникність при атеросклерозі й тим самим сприяють зниженню й нормалізації кров'яного тиску. Їм приписують і дії діуретичну (сечогінну), спазмолітичну й холеретичну дію на організм людини; вони розширюють капіляри (розширюючи капіляри, вони полегшують вплив ін. активних сполук), знижують тиск крові, тонізують серцеві м'язи, розширюють коронарні судини, зменшують згортання крові [23].

Флавоноїди мають широкий спектр біологічної активності: беруть участь в окисно-відновних процесах, виконуючи антиоксидантну функцію; поглинають УФ-

світло; запобігають руйнуванню хлорофілу. Проявляють Р-вітамінну активність, жовчогінну, спазмолітичну, діуретичну, гіпоглікемічну, седативну, естрогенну дії.

Флавоноїди – водорозчинні сполуки. Від них залежить забарвлення квіток і плодів. Окремі флавоноїди мають Р-вітамінну активність, зменшують вплив токсичних речовин, дають протимікробний і антигістамінний ефект (плоди глоду колючого, ягоди крушини ламкої, трава вересу звичайного, шишки хмелю, листки чаю, квітки і листки підбілу звичайного, плоди шипшини коричнеї, винограду, смородини, горобини звичайної та ін.). Флавоноїди в поєднанні з аскорбіною кислотою справляють протизапальний і протиалергічний вплив на капілярну систему. Флавоноїди знайшли застосування при лікуванні проявів алергії (бронхіальної астми, анафілактичного шоку), інфаркту міокарда, цукрового діабету.

Згідно з результатами досліджень *in vitro*, проведених вченими з Університету Іллінойсу (University of Illinois), апігенін і лютеонін (Рис. 1.12) – флавоноїди – елімінує клітини раку підшлункової залози.



R = H – апігенін

R = OH – лютеолін

Рис. 1.12. Хімічна структура апігеніна та лютеоліна

За словами Ельвіри де Мехія (Elvira de Mejia), професора хімії харчових продуктів і токсикології Університету Іллінойсу, апігенін в експерименті на 2 лініях культур клітин раку підшлункової залози індукував загибель клітин. В

експерименті на одній з ліній культур клітин раку підшлункової залози після обробки флавоноїдами рівень клітинного апоптозу підвищився з 8,4% до 43,8%. В цьому випадку хіміотерапевтичні препарати не додавалися. Результати виявилися ще краще, коли клітини раку попередньо обробляли апигенина, а потім протягом 36 год наносили хіміотерапевтичний препарат гемцитабін.

Вчені виявили, що апигенин пригнічує фермент киназу-3 β глікогенсинтази (GSK-3 β), це призводить до зниження рівня продуктів експресії антиапоптозних генів в клітинах раку підшлункової залози [23].

При цьому, на думку Джоді Джонсон, докторанта в лабораторії Е. де Мехія, флавоноїди слід використовувати не одночасно з хіміотерапевтичними препаратами, а заздалегідь.

Результати дослідження показали, що прийом антиоксидантів в той же день, що і хіміотерапевтичних препаратів, може звести нанівець ефект хіміотерапії. Це пов'язано з тим, що один з механізмів дії даних препаратів заснований на їх прооксидантній активності, а флавоноїди можуть виступати в якості антиоксидантів.

На думку Е. де Мехія, пацієнти з раком підшлункової залози, ймовірно, будуть не в змозі спожити таку кількість багатой на флавоноїди їжі, яка необхідна для підвищення їх концентрації в плазмі крові до ефективного рівня. Але вчені можуть розробити препарати, які дозволили б досягти цієї мети. При цьому вживання їжі з високим вмістом флавоноїдів може бути корисно в контексті профілактики онкологічних захворювань.

1.4.3. Сапоніни

Сапоніни – це складні безазотисті сполуки групи глікозидів рослинного походження з поверхнево-активними властивостями. До складу сапонінів входять моносахариди та неуглеводні сапогеніни (аглікони). Розчини сапонінів при збовтуванні утворюють густу стійку піну. Добре розчинні у воді та спирті. Широко поширені в природі, зустрічаються в різних частинах рослин – листах, стеблах, квітах, плодах.

1.5. Екстракція як метод виділення біологічно активних речовин

Процес екстракції відбувається за технологією всіх екстракційних препаратів (водних екстрактів, настоянок, екстрактів тощо) та при отриманні окремих речовин із рослинної та тваринного сировини. Найчастіше використовуються види екстракції – мацерація, перколяція, ремацерація, реперколяція та циркуляційна екстракція.

Екстракція – це окремий випадок процесів масообміну, при яких відбувається масообмін речовини з одного середовища в інше. Під час екстракції речовина переноситься із сировини (донорське середовище) в екстрагент (сприйнятливий середовище). Екстракція – це складний процес, який поєднує кілька більш простих процесів, які за своєю суттю також належать до масообміну. Процес екстракції включає такі процеси: дифузія, діаліз, розчинення, десорбція, осмос, механічне змивання.

Процес видобутку відбувається наступним чином:

- Екстрагент проникає у шматочки сировини, через міжклітинні канали досягає поверхні клітини, через просту клітинну мембрану потрапляє в клітину.

- У середині клітини після десорбції екстрактивні речовини розчиняються в екстрагенті.

- Через різницю в концентраціях починається діаліз – перенесення речовин з клітини через клітинну стінку.

- У результаті діалізу на поверхні рослинного матеріалу утворюється нерухомий дифузійний шар. Він має молекулярну дифузію. Його товщина різна і залежить від швидкості екстрагенту щодо сировини. Дифузійний шар є стійкістю до вилучення речовин, оскільки уповільнює вивільнення речовин із сировини.

- Подолавши дифузійний шар, екстрактивні речовини розподіляються по всьому об'єму екстрагента за законами вільної конвективної дифузії.

Фактори, що впливають на процес видобутку:

- Подрібнення сировини. При подрібненні збільшується загальна поверхня сировини, що контактує з екстрагентом. Чим більше поверхня, тим більше речовини видаляється. Однак ступінь тонкості сировини регулюється, оскільки під час

тонкого помелу екстракція забруднюється баластними речовинами та механічними домішками.

- Різниця в концентраціях екстрактивних речовин. Різниця в концентраціях екстрактивних речовин у сировині та екстрагенті є рушійною силою будь-якого типу дифузії та реалізується переміщенням екстрагента відносно сировини, що передбачено методами екстракції.

- Екстракція температури. Зі збільшенням температури інтенсивність дифузії зростає, через що цей фактор використовується досить часто: при виробництві води, екстрактів олії.

До екстрагентів пред'являються наступні основні вимоги: здатність до виділення певної групи активних речовин, хімічна та фармакологічна байдужість, можливість регенерації.

1.5.1. Метод мацерації

Спосіб полягає у наполяганні в мацераційній ємності необхідної кількості сировини з екстрагентом при кімнатній температурі протягом 7 днів при періодичному перемішуванні. Після настоювання екстракція зливається з резервуара, сировина пресується. Метод неефективний, оскільки вилучення екстрактивних речовин відбувається головним чином за рахунок молекулярної дифузії. Тому спосіб у цьому варіанті застосовується рідко: при отриманні препаратів та свіжої сировини та сировини тваринного походження.

Для активізації процесу екстракції процес проводять при перемішуванні мішалками, в обертових резервуарах або екстрагент циркулює.

Ремацерація (дробова мацерація). Екстрагент поділяють на 2-4 частини і згодом із кожною частиною екстрагують сировину.

Всі отримані екстракти поєднують. Періодична заміна екстрагента дозволяє підтримувати різницю концентрацій і, отже, швидкість.



Рис. 1.13. Приклад мацерації

1.5.2. Метод перколяції

Перколяція (динамічний метод) полягає у пропусканні безперервного екстрактора через сировину з певною швидкістю. Процес здійснюється в контейнерах різної конструкції, званих перколяторами-екстракторами. Вони можуть бути циліндричної або конічної форми (Рис. 1.14), з паровою сорочкою або без неї, з нахилом і саморозрядом, виготовлені з нержавіючої сталі, алюмінію, лудженої міді та інших матеріалів. На дні перколятора є фальшиве дно (перфорована сітка) (1), на яке розміщується фільтруючий матеріал (2) (мішковина, полотно тощо) і завантажуються сировина. Циліндричні перколятори зручні в експлуатації при вивантаженні сировини, конічні – забезпечують більш рівномірний відбір.

Метод перколяції включає 3 послідовних етапи: змочування сировини, наполягання, просочування.

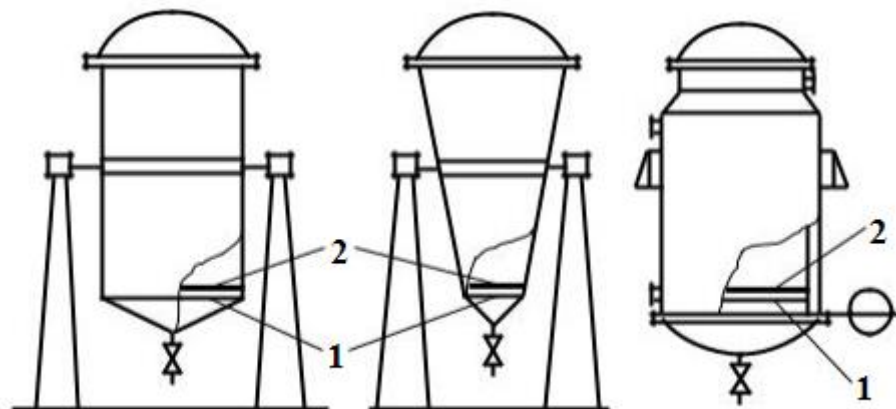


Рис. 1.14. Схема перколяційної екстракції

Змочування утримувало половину або однакову кількість екстрагенту протягом 4-5 годин. При замочуванні сировина набрякає і стає більш доступним для проникнення екстрагенту. Крім того, всередині клітин сировини утворюється концентрований розчин екстрактивних речовин. Змочування проводять за межами перколятора, набряклу сировину поміщають у перколятор, екстрагент додають у “дзеркало” і починається стадія інфузії, яка триває 24-48 годин. За ефективністю екстракції цей етап подібний до методу мацерації. Після інфузії перколяція починається зі швидкості $1/48$ використовуваного об'єму перколятора протягом 1 год з постійним надходженням екстрагенту до сировини з такою ж швидкістю. Залежно від виду одержуваного препарату перколяцію проводять до повного вичерпання сировини або до отримання необхідного обсягу препарату, або до отримання 2 перколатів: первинного та вторинного. Метод перколяції ефективніший, ніж мацерація, оскільки завдяки рухливості екстрагенту підтримується висока швидкість внутрішньої дифузії.

Повторне нанесення або повторне (багаторазове) просочування. Суть методу полягає в тому, що сировина ділиться на частини і кожна наступна партія екстрагується екстрактом, отриманим з попередньої. Використовується акумуляторна батарея (3-5). Екстрагент від перколятора до перколятора збагачений екстрактивними речовинами. Основним принципом будь-якого варіанту реперколяції є отримання чистого екстрагенту (без екстрагованих речовин) на

найбільш збідненій сировині, готову екстракцію отримують з останнього перколятора, де сировина найменш виснажена. Ця процедура дозволяє підтримувати максимально можливу різницю в концентрації екстрактивних речовин між сировиною та екстрагентом.

Існує безліч варіантів методу реперколяції: з поділом сировини на рівні та нерівні частини, з повним та неповним циклом. Спосіб здійснюється в перколяторній батареї.

1.5.3. Метод циркуляційної екстракції

Метод заснований на багаторазовому вилученні рослинної сировини з тією ж порцією леткого екстрагенту. Витяжна установка працює у замкненому циклі безперервно і автоматично за принципом роботи апарату Сокслета (рис. 1.15). Він складається з дистиляційного кубика (1), екстрактора (2), конденсаторного конденсатора (3), конденсатозбірника (4).

В якості екстрагентів використовують леткі органічні розчинники з низькою температурою кипіння - етиловий ефір (34,5°C), хлороформ (61,3°C), метиленхлорид (40,00°C) або їх суміші. Етиловий спирт (навіть 96%) не підходить для цих цілей, оскільки він буде адсорбувати вологу, що міститься в сировині, і змінювати її концентрацію, що призведе до зміни температури кипіння та екстрагуючої здатності [14].

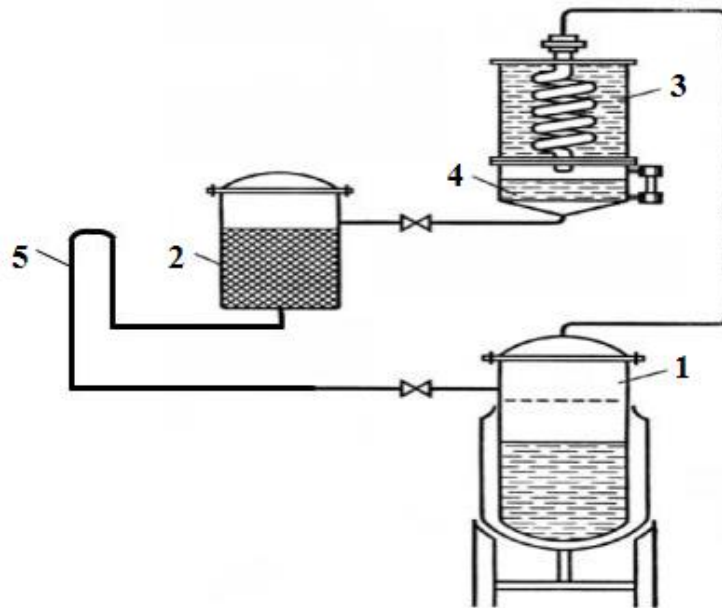


Рис. 1.15 Циркуляційний апарат типу Сокслета

Сировина завантажується в екстрактор (2), заливається екстрагентом трохи нижче петлі сифонної трубки (5) і настоюється протягом певного часу. Одночасно в випарник (1) заливається невелика кількість екстрагенту. По закінченні інфузії зі збору (4) екстрагент зливається в екстрактор, так що екстракт досягає верхнього рівня сифонної петлі і починає переливатися в випарник, який нагрівається. Отримані пари екстрагенту піднімаються в конденсатор (3), який подається котушковим теплообмінником, і з нього в колектор. Далі екстрагент надходить у сировину. При поступовому наповненні екстрактора, коли рівень екстрагенту досягне певного значення, екстракт буде стікати через сифон. Насичений вихлоп знову потрапляє у випарник [14].

Циркуляція екстрагенту здійснюється багаторазово до повного виснаження сировини. Отриманий екстракт концентрують шляхом відгонки екстрагенту в ресивер. В випарному апараті залишається зосереджена екстракція екстрактивних речовин. Методом циркуляційної екстракції отримують значну кількість густих екстрактів.

Цей спосіб характеризується отриманням високого виходу біологічно активних речовин і максимальним виснаженням сировини, використовуючи невелику кількість екстрагенту, створюючи високу різницю концентрацій на межі

розділу (оскільки чистий екстрагент кожного разу подається до сировини) і скорочення загальної тривалості видобутку. До недоліків методу слід віднести тривалий температурний вплив на екстрактивні речовини та значну швидкість потоку теплоносія [14].

1.6. Висновки до Розділу

Представники роду *Brassicaceae* неофіційно відомі як хрестоцвіті овочі, капуста або гірчичні рослини. Понад 30 диких видів та гібридів культивуються, а також численні сорти та гібриди культурного походження. Однорічна овочева рослина брокколі (*Brassica oleracea var italica*). Належить до підрозділу *Magnoliophyta*, сімейства *Cruciferae*. Існує три часто вирощувані види брокколі. Розрізняють калабрез, пророщування та фіолетову цвітну капусту. До інших сортів сортів *Brassica oleracea* належать капуста, цвітна капуста та брокколі Романеско, зелень листової капусти та комір, кольрабі, брюссельська капуста та кайлан.

Крім того, ми дослідили траву *Bursae pastoris* (*Capsella bursa pastoris*), яка належить до відділу покритонасінних, родини *Brassicaceae*. Скрізь, як бур'ян. Збирають в Україні, Білорусі, Поволжі. Середовище проживання у вологих місцях, частіше серед оброблюваних культур, у парках, уздовж доріг, у дворах, садах. Для виготовлення ліків використовується трава (*Herba Bursae pastoris*), зібрана під час цвітіння рослини.

Суцвіття брокколі є хорошим джерелом оздоровчих сполук, оскільки воно містить глюкозинолати, флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, особливо індол-3-карбінол та сульфорафан. Ці біологічно активні сполуки знижують ризик розвитку певних типів гормонозалежних пухлин. *Capsella bursa pastoris* здебільшого включає флавоноїди. Були вказані рутин та гесперидин.

Айстрові (*Asteraceae*) або Складноцвіті (*Compositae*) – родина рослин, найбагатша за кількістю видів серед еудикотів. Серед Айстрових виділяють багато овочевих культур, бур'янів та декоративних рослин. Ми розглядали лікарську рослину *Calendula officinalis*. Вона має сильно виражені бактерицидні властивості

відносно багатьох збудників хвороб, особливо стафілококів та стрептококів. Препарати з календули застосовують для лікування опіків, ран, для полоскання горла при хронічному тонзиліті та порожнини рота при стоматиті. Квітки *Calendula officinalis* містять каротиноїди, флавоноїди.

Каротиноїди мають антиоксидантну активність, впливають на регуляцію росту і диференціювання клітин, модулюють експресію генів і імунну відповідь.

Флавоноїди – водорозчинні сполуки. Від них залежить забарвлення квіток і плодів. Окремі флавоноїди мають Р-вітамінну активність, зменшують вплив токсичних речовин, дають протимікробний і антигістамінний ефект. Апігенін і лютеонін мають здатність елімінувати клітини раку підшлункової залози.

Екстракція – один із древніх методів виділення біологічно активних речовин (БАВ) із природних рослинних джерел і на сьогоднішній день залишається основним методом приготування БАР. Найчастіше використовується при виконанні простих та ефективних методів: мацерація, просочування та екстракція кровообігу.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Об'єкти дослідження

2.1.1. Рослинні матеріали

Об'єктами дослідження були зразки сировини – сушені трави *Capsella bursa pastoris*, *Calendula officinalis* та свіжа брокколі *Brassica oleracea var italia*. Зразки отримували в місцевих аптеках та супермаркетах Києва.



Рис. 2.1. Рослинні матеріали

2.1.2. Лінія клітин раку

У цій роботі для перевірки протипухлинної активності ми використовували WISH ATCC-№ CCL-25 (моношар) лінію клітин раку. Ця клітинна лінія була надана Європейською колекцією аутентифікованих клітинних культур (ECACC).

Загальна характеристика клітинної лінії WISH представлена в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

**Загальні характеристики WISH ATCC-№ CCL-25
(моношар) клітинна лінія**

| | |
|-------------------|---|
| Організм | Людина |
| Тканина | Шийка матки |
| Тип клітини | Епітеліальна клітина |
| Властивість рісту | Моношар |
| Опис | Спочатку отримано з тканини амніону людини. Були використані при вивченні вірусів; сприйнятливий до VSV (штат Індіана), аденовірусу 3 та поліовірусу. Корисний для диференціації вірулентного та авірулентного вірусу кору. Були виявлені маркерні хромосоми HeLa та тип A G6PD. Встановлено, що ця клітинна лінія не відрізняється від HeLa шляхом профілювання ДНК ПЛР STR. Отже, клітинна лінія повинна розглядатися як похідна від HeLa. Етнічна приналежність: чорний. |
| Тип раку | Карцинома шийки матки людини |

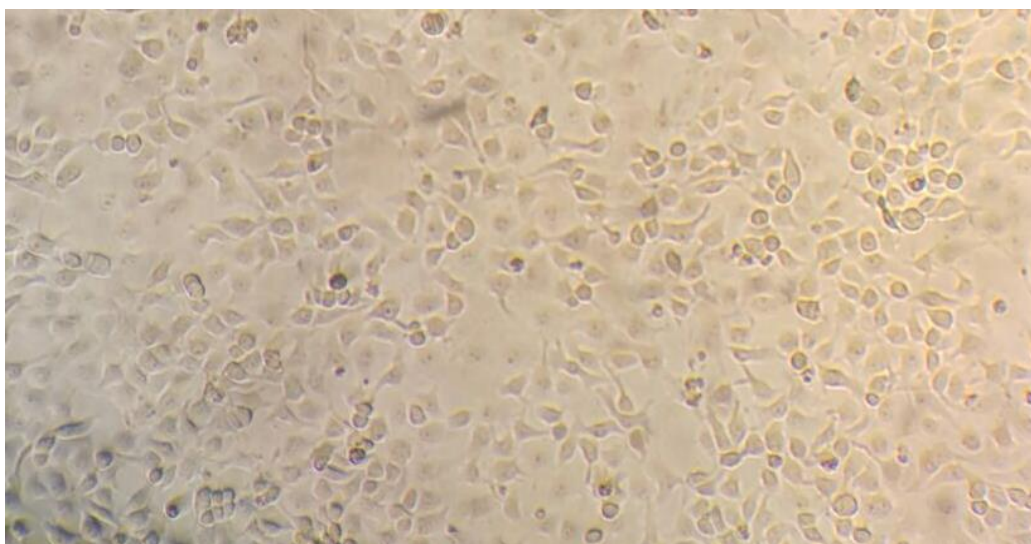


Рис. 2.2. WISH (моношар) клітинна лінія під мікроскопом

2.2. Метод дослідження

2.2.1. Технологія виготовлення екстрактів

Екстракцію біологічно активних сполук з брокколи та трав проводили за допомогою 3 різних методів.

Перший метод (спиртово-водна екстракція) – у скляній пляшці ємністю 100 мл, 5 г подрібненої сировини *Capsella bursa pastoris* та *Calendula officinalis* (ступінь подрібнення 2-3 мм) з 10 мл дистильованої води та 10 мл етанолу 96% (рис. 2.3) і витримували на водяній бані (рис. 2.4) протягом 60 хвилин при температурі 90°C. Після охолодження зразків до кімнатної температури (приблизно 20°C) екстракт фільтрували (рис. 2.5) у пластикові пробірки ємністю 15 мл.

Другий метод (витяжка води) – у скляну пляшку ємністю 100 мл додали 10 г подрібненої сировини *Capsella bursa pastoris* та *Calendula officinalis* (ступінь подрібнення 2-3 мм) з 40 мл дистильованої води (рис. 2.3), і витримували на водяній бані (рис. 2.4) протягом 60 хвилин при температурі 90°C. Після охолодження зразків до кімнатної температури (приблизно 20°C) екстракти фільтрували (рис. 2.5) у пластикові пробірки ємністю 15 мл.

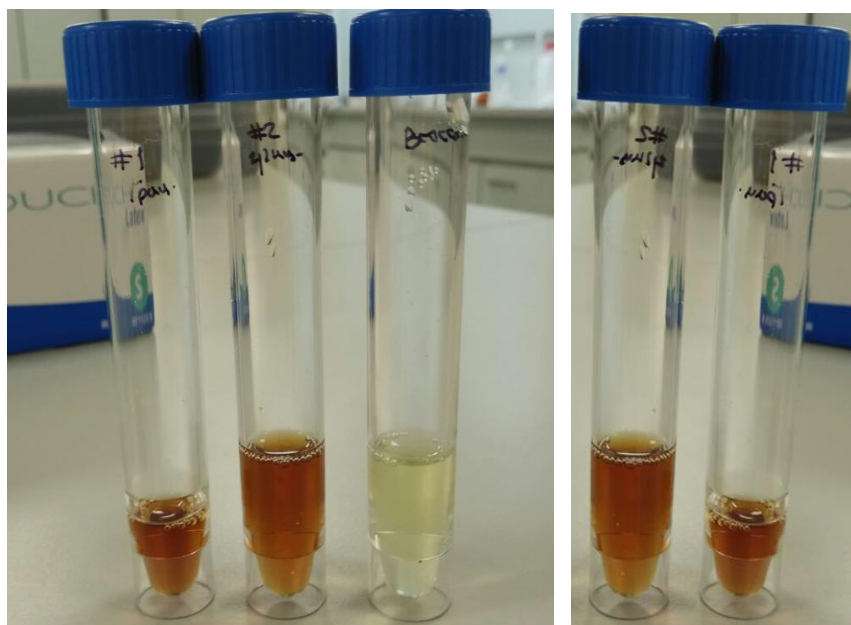
Третій метод (механічний) – сік брокколи вичавлюється механічно. Потім цей сік фільтрували (рис. 2.5) у пластикові пробірки ємністю 15 мл.



Мал. 2.3. Екстракти *Capsella bursa pastoris* та *Calendula officinalis*



Мал. 2.4. Витримування екстрактів на водяній бані (WB-4MS)



Мал. 2.5. Відфільтровані екстракти

В результаті ми отримали 5 різних екстрактів, а саме: сушену траву *Capsella bursa pastoris* та *Calendula officinalis* з дистильованою водою, сушену траву *Capsella bursa pastoris* та *Calendula officinalis* з дистильованою водою та етанолом, свіжий сік брокколі. Також екстракти фільтрували через бактеріологічний фільтр «Епікріз» з діаметром пор 0,22 нм перед введенням в ракові клітини.

2.2.2. Технологія перевірки протипухлинної діяльності

Технологія перевірки протипухлинної активності екстрактів трав була запропонована на базу практики. Ця технологія складається з наступних етапів: підготовка клітинної лінії, введення екстрактів та візуалізація результатів експерименту.

Приготування розчину:

- Буферний розчин фосфатної солі (PBS). 1 таблетку натрій-фосфатного буфера (Sigma P4417 або подібної якості) розчинили у 200 мл води. Або приготуйте сольовий розчин, забуферений фосфатом, рН 7,4 г. Розчин стерилізують фільтруванням через мембранний фільтр з порами 0,22 мкм або в автоклаві при 121°C протягом 15 хв. Термін зберігання розчину при 2-8°C 6 місяців.

- Живильне середовище. Використовується живильне середовище RPMI-1640 (Sigma, R 8758 або подібне), до якого в 1% розчин додають антибіотик-антимікотик (10000 МО / мл пеніциліну, 10 мг / мл стрептоміцину, 25 мкг / мл амфотерицину В) (Sigma, A5955 , або подібної якості) та 8-10% плодової телячої сироватки (DL, F6178 або подібної якості).

- Випробувальний розчин. Препарат розбавляють, використовуючи як розчинник, так і живильне середовище.

-Розчин резазурину. Приготований основний розчин натрієвої солі резазурину 0,3 мг / мл (7-гідрокси-3Н-феноксазин-3-на-10-оксид) (кат. № Sigma R7017 або подібної якості). Для цього 15 мг барвника розчиняють у 50 мл PBS, фільтрують через фільтр з порами 0,22 мкм. Виливають в аликвоти і зберігають при температурі -20 ° С не довше 6 місяців. Перед використанням розморозьте аликвоту і розведіть 1:10 PBS.

Підготовка клітин: планшетку з моношаром клітин видаляють живильне середовище, тричі промивають розчином PBS, зливають і наносять 2-4 мл 0,25% розчину трипсину з 0,1% ЕДТА (Sigma, 59428С або подібних якостей.) Пляшки з клітинами поміщають в інкубатор CO₂ при температурі 37 ± 1°С на 5-10 хвилин для відшарування клітини. Етапи відділення від дна флакона оцінюють за допомогою інвертованого мікроскопа. Розчин трипсину ретельно відбирають і вводять у флакони живильного середовища, клітини суспендують за допомогою піпетки та відбирають проби для підрахунку кількості клітин у камері Горяєва або іншим відповідним методом. Змішуючи з живильним середовищем, доводиться концентрація клітин у суспензії перед посівом (300-350 тис. клітин / мл) і заливають 100 мкл у все отвір таблетки. Культивування проводять в атмосфері 5% CO₂ при температурі 37°С (стандартні умови для культури клітин) та інкубують протягом 6 годин для прикріплення клітин.

Примітка. Всі маніпуляції з розчином для порівняння, що досліджується, і культурою клітин проводяться в асептичних умовах.

Виконання контролю: у другий ряд отворів пластини з утвореним моношаром клітин і 100 мкл досліджуваних розчинів живильне середовище вводиться (B1: B12), принаймні чотири повтори.

За допомогою багатоканального дозатора відбирають 100 мкл розчину з другого ряду (B1: B12), перенесеного в третій ряд (1: C12), змішують 5 разів. Потім відбирають по 100 мкл з третім рядом (C1: C12), переносять у четвертий ряд (D1: D12) і перемішують 5 разів. Процедуру повторюють до останнього ряду (H1: H12), з якого 100 мкл розчину потрапляють у стік.

Перший ряд отворів таблетки (A1: A12) залишають для контролю життєздатності клітин. Пластина інкубується протягом 24 годин, відповідно до стандартних умов для культури клітин.

Після завершення інкубації у всіх лунках з негативним контролем не повинно бути ознак руйнування моношару клітин. Видалить рідину з отворів, струшуючи різким рухом над контейнером з дезінфікуючим розчином. У всі лунки вносять 100 мкл PBS, закривають і промивають, перемішуючи вміст пластини на планшетному термозмішувачі при 700-900 об/хв при кімнатній температурі протягом 3 хвилин. Рідина видаляється з отворів. Процедура миття повторюється.

Результати візуалізуються наступним чином: за допомогою багатоканальної піпетки всі отвори роблять 100 мкл розчину резазурину. Планшетку інкубують протягом 1 години при температурі 37°C.

Результати реєструються за допомогою флуоресцентної спектрофотометрії за допомогою планшетного флуоресцентного спектрофотометра (Cytation3 Viatek, або подібний) в Ex560 нм, 590 нм (чутливість приладу регулюється таким чином, щоб значення рівня викидів отворів «Позитивний контроль» становило до 1000 РФУ (відносні одиниці флуоресценції.))

Інтерпретація результатів: статистична обробка даних проводиться за допомогою програми Excel.

2.3. Висновки до Розділу

Об'єкти дослідження – сушені трави *Capsella bursa pastoris* та свіжа брокколі *Brassica oleracea var italia*, *Calendula officinalis* отримані в місцевих аптеках та супермаркетах Києва. Для перевірки протипухлинної активності ми використовували WISH ATCC-№ CCL-25 (одношарова) лінія клітин раку, заздалегідь отримано з тканини амніону людини. Клітинна лінія WISH була використана при вивченні вірусів; сприйнятливий до VSV (штат Індіана), аденовірусу 3 та поліовірусу. Також корисна для диференціації вірулентного та авірулентного вірусу кору. Клітинна лінія розглядалася як похідна від HeLa.

Екстракцію біологічно активних сполук з брокколі та трав проводили 3 різними методами: спиртово-водна екстракція, екстракція водою та механічна.

Технологія перевірки протипухлинної активності екстрактів трав була запропонована на практичній основі. Ця технологія складається з наступних етапів: підготовка клітинної лінії, введення екстрактів та візуалізація результатів експерименту.

РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ

3.1. Перевірка результатів

Через 72 години ми перевіряємо наші планшетки під мікроскопом і порівнюємо їх з початковою точкою нашого експерименту.

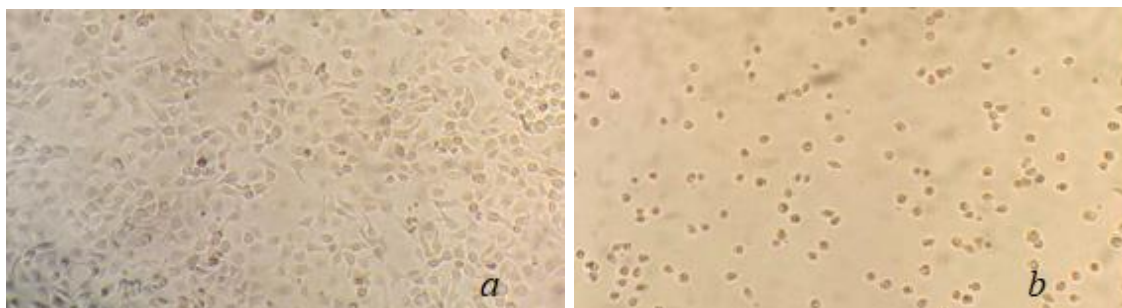


Рис. 3.1. Порівняння *a)* живі клітини WISH з *b)* мертві клітини WISH

У нас були різні концентрації екстрактів, а саме 1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 та К+. Оскільки початкова концентрація екстрактів становила 1/4, ми можемо розрахувати кількість речовини в 1 мл розчину.

Таблиця 3.1

Концентрація екстрактів

| Розведення | Концентрація г/мл | | | | |
|------------|--|-------------------------------------|---|---|--------------------------------------|
| | <i>C. bursa pastoris</i> (водно-спирт.) | <i>C. bursa pastoris</i> (водн.) | <i>Brassica oleracea</i> var <i>italia</i> | <i>Calendula officinalis</i> (водно-спирт.) | <i>Calendula officinalis</i> (водн.) |
| 1/1 | 0,125 | 0,125 | 0,125 | 0,125 | 0,125 |
| 1/2 | 0,063 | 0,063 | 0,063 | 0,063 | 0,063 |
| 1/4 | 0,031 | 0,031 | 0,031 | 0,031 | 0,031 |
| 1/8 | 0,016 | 0,016 | 0,016 | 0,016 | 0,016 |
| 1/16 | 0,008 | 0,008 | 0,008 | 0,008 | 0,008 |

| | | | | | |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1/32 | 0,004 | 0,004 | 0,004 | 0,004 | 0,004 |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|

Після флуоресцентної спектрофотометрії за допомогою планшетного флуоресцентного спектрофотометра (Cytation3 Viatek) в Ex560 нм, 590 нм ми отримали дані з RFU (відносні одиниці флуоресценції).

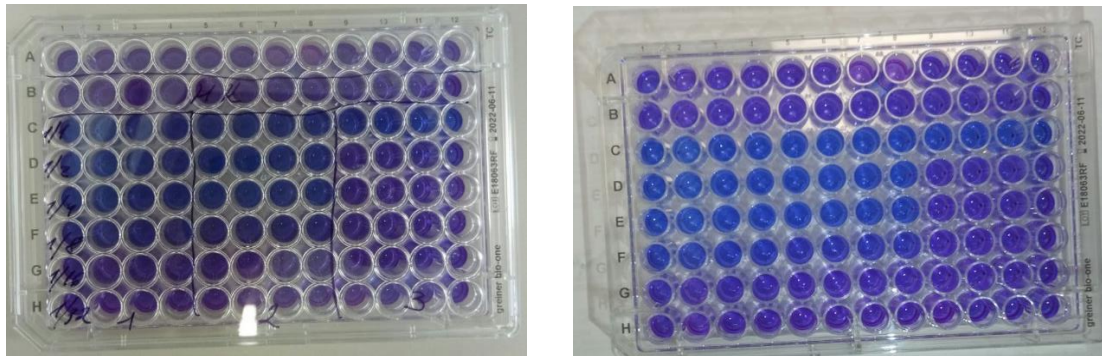


Рис. 3.2. 96-лункова планшетка клітинних ліній з екстрактами

Таблиця 3.2

Одиниці відносної флуоресценції *C. bursa pastoris* та
Brassica oleracea var italia (RFU)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| B | 3801 | 4195 | 3961 | 4136 | 4031 | 3882 | 4136 | 4255 | 4175 | 4017 | 4287 | 3955 |
| C | 290 | 231 | 284 | 295 | 290 | 279 | 298 | 296 | 479 | 579 | 577 | 766 |
| D | 280 | 234 | 283 | 288 | 288 | 290 | 293 | 286 | 3930 | 3972 | 3862 | 2892 |
| E | 292 | 246 | 294 | 294 | 292 | 300 | 297 | 298 | 4204 | 4365 | 4374 | 3933 |
| F | 1262 | 1364 | 1376 | 1382 | 2212 | 2039 | 2115 | 2183 | 4479 | 4676 | 4713 | 4445 |
| G | 3239 | 4064 | 3868 | 3737 | 4408 | 4254 | 4221 | 4246 | 4783 | 4753 | 4740 | 4446 |
| H | 4303 | 4893 | 4638 | 4727 | 4879 | 4911 | 4990 | 4930 | 6103 | 4618 | 4560 | 4483 |

Таблиця 3.3

Одиниці відносної флуоресценції *Calendula officinalis* (RFU)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| A | 6825 | 6793 | 6850 | 6789 | 6787 | 6813 | 6758 | 6741 | 6879 | 6854 | 6799 | 6815 |
| B | 661 | 607 | 783 | 813 | 689 | 725 | 507 | 545 | 508 | 533 | 529 | 516 |
| C | 832 | 769 | 786 | 826 | 855 | 798 | 560 | 534 | 562 | 569 | 582 | 544 |
| D | 3280 | 3284 | 3140 | 3273 | 3166 | 3245 | 832 | 826 | 878 | 833 | 846 | 875 |
| E | 5444 | 5478 | 5483 | 5575 | 5463 | 5529 | 2340 | 2349 | 2209 | 2324 | 2255 | 2312 |
| F | 6258 | 6333 | 6165 | 6161 | 6286 | 6217 | 3216 | 3289 | 3304 | 3245 | 3242 | 3311 |
| G | 6556 | 6529 | 6438 | 6472 | 6543 | 6513 | 5458 | 5564 | 5473 | 5429 | 5567 | 5488 |

| | | | | | | | | | | | | |
|---|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Н | 6838 | 6812 | 6793 | 6746 | 6827 | 6817 | 6345 | 6378 | 6319 | 6421 | 6453 | 6379 |
|---|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|

Спочатку ми повинні розрахувати середнє середнє значення контрольного рядка. Отримуємо 4108 і тоді можемо визначати відсоток живих клітин. Стовпці 1 і 12 не враховуються, оскільки присутній ефект випаровування при вимірюванні флуоресценції.

| | | | | | | | | | | | | |
|----------|------|------|------|----------|------|------|------|------|----------|------|------|------|
| 1 зразок | 231 | 284 | 295 | 2 зразок | 290 | 279 | 298 | 296 | 3 зразок | 479 | 579 | 577 |
| | 234 | 283 | 288 | | 288 | 290 | 293 | 286 | | 3930 | 3972 | 3862 |
| | 246 | 294 | 294 | | 292 | 300 | 297 | 298 | | 4204 | 4365 | 4374 |
| | 1364 | 1376 | 1382 | | 2212 | 2039 | 2115 | 2183 | | 4479 | 4676 | 4713 |
| | 4064 | 3868 | 3737 | | 4408 | 4254 | 4221 | 4246 | | 4783 | 4753 | 4740 |
| | 4893 | 4638 | 4727 | | 4879 | 4911 | 4990 | 4930 | | 6103 | 4618 | 4560 |

| | | | | | | | | | | | |
|----------|------|------|------|------|------|----------|------|------|------|------|------|
| 4 зразок | 607 | 783 | 813 | 689 | 725 | 5 зразок | 507 | 545 | 508 | 533 | 529 |
| | 769 | 786 | 826 | 855 | 798 | | 560 | 534 | 562 | 569 | 582 |
| | 3284 | 3140 | 3273 | 3166 | 3245 | | 832 | 826 | 878 | 833 | 846 |
| | 5478 | 5483 | 5575 | 5463 | 5529 | | 2340 | 2349 | 2209 | 2324 | 2255 |
| | 6333 | 6165 | 6161 | 6286 | 6217 | | 3216 | 3289 | 3304 | 3245 | 3242 |
| | 6529 | 6438 | 6472 | 6543 | 6513 | | 5458 | 5564 | 5473 | 5429 | 5567 |

Рис. 3.3. RFU 1-5 зразків

Таблиця 3.3

Визначення ефекту 1 зразка *Capsella bursa pastoris* (водно-спирт.) на ракові клітини

| Середнє значення, RFU | Живі клітини, % | Концентрація, г/мл |
|-----------------------|-----------------|--------------------|
| 270 | 7 | 0,125 |
| 268 | 7 | 0,063 |
| 278 | 7 | 0,031 |
| 1374 | 33 | 0,016 |
| 3890 | 95 | 0,008 |
| 4753 | 116 | 0,004 |

Таблиця 3.4

Визначення ефекту 2 зразка *Capsella bursa pastoris* (водн.) на ракові клітини

| Середнє значення, RFU | Живі клітини, % | Концентрація, г/мл |
|-----------------------|-----------------|--------------------|
| 291 | 7 | 0,125 |
| 289 | 7 | 0,063 |
| 297 | 7 | 0,031 |
| 2137 | 52 | 0,016 |
| 4282 | 104 | 0,008 |
| 4928 | 120 | 0,004 |

Таблиця 3.5

Визначення ефекту 3 зразка *Brassica oleracea var italia* на ракові клітини

| Середнє значення, RFU | Живі клітини, % | Концентрація, г/мл |
|-----------------------|-----------------|--------------------|
| 545 | 13 | 0,125 |
| 3921 | 95 | 0,063 |
| 4314 | 105 | 0,031 |
| 4623 | 113 | 0,016 |
| 4759 | 116 | 0,008 |
| 5094 | 124 | 0,004 |

Визначення ефекту 4 зразка *Calendula officinalis*(водно-спирт.) на ракові клітини

| Середнє значення, RFU | Живі клітини, % | Концентрація, г/мл |
|-----------------------|-----------------|--------------------|
| 713 | 10,5 | 0,125 |
| 811 | 11,9 | 0,063 |
| 3231 | 47,5 | 0,031 |
| 5495 | 80,7 | 0,016 |
| 6237 | 91,6 | 0,008 |
| 6509 | 95,6 | 0,004 |

Визначення ефекту 5 зразка *Calendula officinalis*(водн.) на ракові клітини

| Середнє значення, RFU | Живі клітини, % | Концентрація, г/мл |
|-----------------------|-----------------|--------------------|
| 523 | 7,7 | 0,125 |
| 559 | 8,2 | 0,063 |
| 848 | 12,5 | 0,031 |
| 2298 | 33,8 | 0,016 |
| 3268 | 48,0 | 0,008 |
| 5497 | 80,7 | 0,004 |

Нарешті, після розрахунку в Excel ми побудували графік залежності.

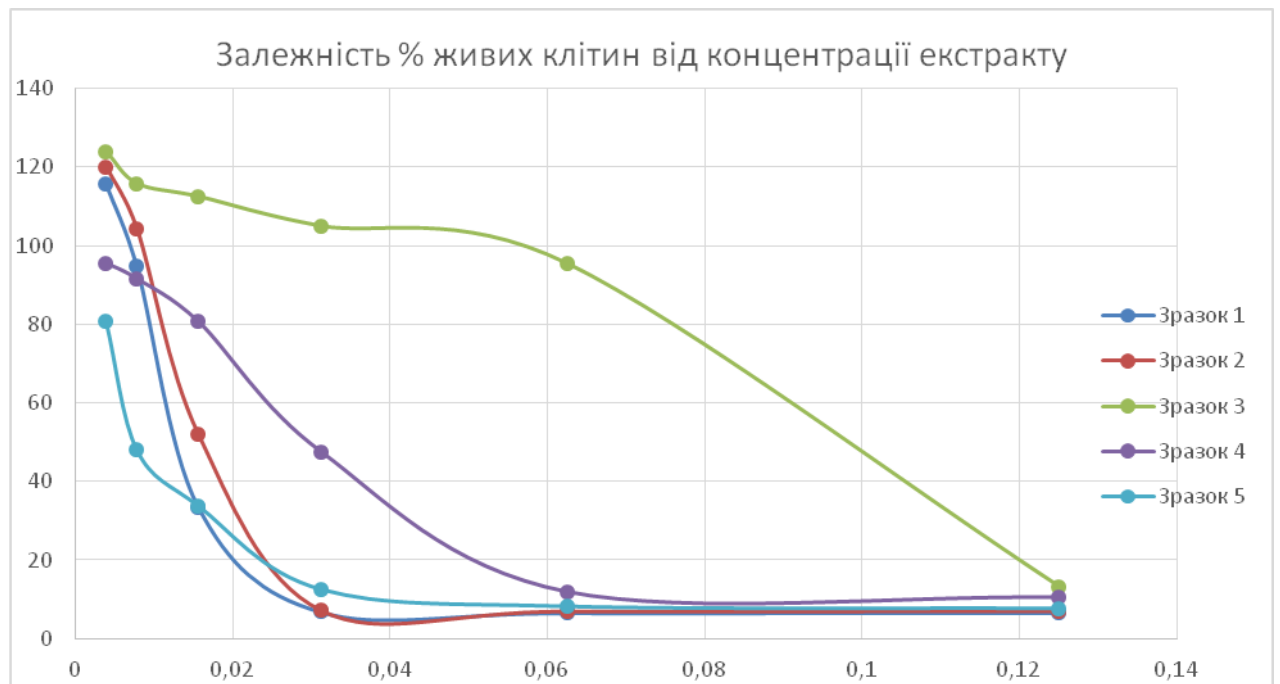


Рис. 3.4. Графік залежності: 1 зразок - *Capsella bursa pastoris* (водно-спирт. розч), 2 зразок - *Capsella bursa pastoris* (водн. розч), 3 зразок - *Brassica oleracea var italia* сік, 4 зразок - *Calendula officinalis*(водно-спирт.), 5 зразок - *Calendula officinalis*(водн.)

3.2. Висновки до Розділу

Отже, ми можемо спостерігати, що *Capsella bursa pastoris* діє на ракову лінію WISH (моношар) у мінімальній концентрації 0,016 г/мл, де інгібування ракових клітин становить 67%. При концентрації 0,031-0,125 г/мл і більше виживання клітинної лінії становить 7%. *Calendula officinalis* екстракт водного розчину теж дає хороші результати – інгібування 66% ракових клітин при мінімальній концентрації 0,016 г/мл. Більша концентрація дає показники виживання клітин у 7-10%. В той же час, брокколи *Brassica oleracea var italia* не має яскравих результатів у нашому експерименті, лише при 0,125 г/мл виживання клітинної лінії становить 13%.

РОЗДІЛ 4 ОХОРОНА ПРАЦІ

4.1. Небезпечні та шкідливі виробничі фактори в мікробіологічній лабораторії

Дана дипломна робота включає експеримент з визначення інгібуючої властивості та антиканцерогенної активності в екстрактах рослин *Brassicea* та *Asteraceae*. Цей вид робіт супроводжується використанням мікробіологічних або хімічних лабораторій. Працюючи в таких лабораторіях, організм людини піддається дії різних небезпечних та шкідливих факторів, пов'язаних з характером виконання експерименту. Особа (суб'єкт) випускної роботи – це студент / лаборант, виробнича діяльність якого безпосередньо пов'язана з розробкою та реалізацією обраної теми, а здоров'я суб'єкта пов'язане зі шкідливими факторами. Для аналізу умов робочого процесу підібрана мікробіологічна лабораторія.

Мікробіологічна лабораторія для мого експерименту становить 38 м². У цьому місці одночасно можуть працювати 4 людини, кожна з яких має індивідуальний робочий простір. Індивідуальний робочий простір включає власний стіл із необхідним обладнанням. Також у такій лабораторії представлені полички зі склянками, реактивами, місце для миття рук та брудне обладнання. Одне з найважливіших речей – витяжки для лабораторій та вікон.

У мікробіологічній практиці використовують переважно чисті культури мікроорганізмів, тобто мікроорганізми популяції одного виду часто є потомством однієї клітини. У повітрі, на поверхні навколишніх предметів на одязі, руках, волоссі завжди знаходиться велика різноманітність флори. Працюючи з різними реагентами, хімічні речовини впливають на організм людини. Протягом цього необхідно дотримуватись правил охорони праці.

Відповідно до ГОСТ 12.0.003-74 на працівника у лабораторії діяли фізичні та хімічні небезпечні та шкідливі виробничі фактори. До фізичних НШВФ відносяться – підвищений рівень ультрафіолетової радіації; підвищена температура повітря робочої зони; підвищений рівень шуму на робочому місці; підвищена запиленість та загазованість повітря робочої зони. До хімічних НШВФ відносяться – токсичні речовини, які використовувались для проведення дослідів. Відповідно до ГОСТ 12.0.003-74 хімічні небезпечні та шкідливі виробничі фактори підрозділяються за характером впливу на організм людини. Під час роботи в лабораторії на працівника впливали токсичні хімічні небезпечні і шкідливі виробничі фактори.

Токсичні хімічні небезпечні і шкідливі виробничі фактори. Для дезінфекції інструментів був використаний етиловий спирт. Етиловий спирт за ступенем впливу на організм людини відноситься до 4-го класу небезпеки за ГОСТ 12.1.007-76. Гранично допустима концентрація (ГДК) парів етилового спирту в повітрі робочої зони виробничих приміщень – 1000 мг/м³ згідно ГОСТ 18300-87. Для проведення дослідів використовувався гідроксид натрію. Відповідно до ГОСТ 12.1.005-76 гідроксид натрію відноситься до шкідливих речовин 2-го класу небезпеки. ГДК аерозолію гідроксиду натрію в повітрі робочої зони складає 0,5 мг/м³ відповідно до ГОСТ 12.1.007-76. Для визначення біологічно активних речовин використовувалась оцтова кислота. Згідно з ГОСТ 12.1.007-76 належить до 3-го класу небезпеки, ГДК парів оцтової кислоти у повітрі робочої зони 5 мг/м³. Категорія і група вибухонебезпечної суміші парів оцтової кислоти з повітрям 11А-Т1 згідно з ГОСТ 12.1.011-78 [1,2].

Підвищений рівень ультрафіолетової радіації. Джерелом підвищення рівня ультрафіолетової радіації в лабораторії є бактерицидні кварцові лампи, спектр яких містить випромінювання діапазону довжин хвиль 205-315 нм. Бактерицидні лампи використовуються для створення стерильних умов в боксі лабораторії. Нормування УФ випромінювання у виробничих приміщеннях здійснюють згідно з санітарними нормами СН4557-88. Допустима інтенсивність ультрафіолетового опромінення працюючих при наявності незахищених ділянок поверхні шкіри не більше 0,2 мД (обличчя, шия, кисті рук і ін.), Загальною тривалістю впливу випромінювання 50%

робочої зміни і тривалість одноразового опромінення понад 5 хв і більше не повинна перевищувати: 10,0 Вт/м² с для області УФ-А; 0,01 Вт/м² – для області УФ-В. Випромінювання в області УФ-С при зазначеній тривалості не допускається. Підвищена температура повітря робочої зони. Робота в лабораторії проводилась в теплий період року. Відповідно до ДСН 3.3.6.042-99 оптимальні величини температури – 20-22 °С; відносної вологості повітря 60-40 %; швидкості руху повітря в робочій зоні 0,3 м/с. Джерелом підвищення температури в лабораторії були – спиртівка, електрична плитка, термостати, автоклав, сушильна шафа для стерилізації. В результаті впливу даних факторів температура в робочій зоні підвищувалась, досягала 32 °С, що не відповідає нормам [1,3].

Підвищений рівень шуму на робочому місці. Джерелом шуму в лабораторії є сушильна шафа для стерилізації, автоклав, вентиляційна шафа, шейкери тощо. Тривалий вплив інтенсивного шуму (вище 80 дБА) на слух призводить до його часткової або повної втрати. Скрізь волокна слухових нервів роздратування шумом передається в центральну і вегетативну нервові системи, а через них впливає на внутрішні органи, приводячи до значних змін у функціональному стані організму, впливає на психічний стан людини. Причому вплив шуму на нервову систему виявляється навіть при невеликих рівнях звуку (30..70 дБА). Нормування рівні звукового тиску (дБ) та рівнів шуму (дБА) робочих місцях здійснюється відповідно до ДСН 3.3.6.037-99 [1,2].

Підвищена запиленість та загазованість повітря робочої зони. Відповідно до санітарних норм усі виробничі і допоміжні приміщення повинні вентилюватися. Рівень повітрообміну в лабораторії є недостатній, оскільки він не може забезпечити дотримання норм температури повітря (°С); відносної вологості повітря (%); швидкість руху повітря (м/с); ГДК шкідливих газоподібних речовин (мг/м³). В лабораторії є витяжна шафа, яка не може забезпечити повне дотримання норм мікроклімату в приміщенні, тому необхідне встановлення додаткової вентиляції, яка буде забезпечувати лабораторію чистим повітрям і заданими метеорологічними умовами. Оптимальним є встановлення в лабораторії системи припливно-витяжної

вентиляції, оскільки це забезпечить повітрообмін з одночасною подачею і видаленням повітря [1,3] .

4.2. Технічні та організаційні заходи для зменшення рівня впливу небезпечних та шкідливих виробничих факторів у мікробіологічній лабораторії

Захист від несприятливого впливу токсичних речовин. Для захисту працівників від шкідливої дії хімічних речовин при роботі необхідно дотримуватися правил техніки безпеки. Ефективним захистом працівників в лабораторії є встановлення відповідних систем вентиляції – загальні та місцеві, у відповідних робочих зонах. Також як захист від токсичних речовин можна використовувати засоби індивідуального захисту (спецодяг, рукавиці, маски, окуляри). Всі хімічні речовини необхідно зберігати за відповідних умов у спеціально відведених для них місця, тара для зберігання має бути щільно зачинена для уникнення летючості відповідних речовин. Хімічні речовини при попаданні на тіло можуть викликати хімічні опіки, а проникнення в організм людини через легені, шкіру і рот – отруєння, глибоку токсикацію. Досліди з концентрованими кислотами, лугами та іншими небезпечними речовинами слід проводити з використанням засобів індивідуального захисту у витяжній шафі при працюючій загальнообмінній вентиляції. Відповідно до ГОСТ 12.1.016-79 в лабораторії необхідно постійно проводити вимірювання концентрацій шкідливих речовин в повітрі робочих зон [1, 2].

Зменшення рівня ультрафіолетової радіації. Шкідливий вплив УФ випромінювань на біологічні тканини пов'язаний з поглинанням випромінювання нуклеїновою кислотою і зведеними білками клітин і протіканням у цих з'єднаннях світло хімічних реакцій.УФ випромінювання впливають на центральну нервову систему, в результаті виникають загальнотоксичні симптоми – головний біль, підвищення температури, стомленість, нервові порушення.

Зменшення рівня УФ радіації досягається:

- захистом відстанню – визначаючи захисну відстань, використовують дані безпосередніх вимірів у конкретних умовах;
- екрануванням робочих місць – є найбільш раціональним методом захисту. Екрани виконуються у вигляді щитів, ширм, кабін. Повний захист від УФ випромінювання всіх областей забезпечує флінтглас (скло, яке вміщує оксид свинцю);
- засобами індивідуального захисту – у якості ЗІЗ використовують спецодяг із спеціальних тканин, що не пропускають УФ випромінювання (льняні, бавовняні, поплін); захисні окуляри та щитки із світлофільтрами. Для захисту рук застосовують мазі із вмістом речовин, що служать світлофільтрами (салол, саліциловометиловий ефір);
- спеціальним фарбуванням приміщень і раціональним розташуванням робочих місць – стіни і ширми фарбують у світлі кольори (сірий, жовтий, блакитний), застосовуючи цинкове чи титанове білило для поглинання УФ випромінювань[1, 2].

Зменшення впливу підвищення температури повітря робочої зони.

Підвищення температури повітря в робочій зоні може спричинити погіршення стану здоров'я. Тривала дія підвищеної температури може призвести до перегріву, втоми, що в подальшому може спричинити втрату свідомості. Для забезпечення відповідного температурного режиму в лабораторії необхідне встановлення кондиціонера. Системи кондиціонування та фільтрації повітря повинні відповідати нормованим метеорологічним параметрам та чистоті повітря в приміщенні при розрахункових параметрах зовнішнього повітря для теплого і холодного періодів року згідно ДСН 3.3.6.042199 та ГОСТ 12.1.005188.

Кондиціонування повітря здійснюється комплексом технічних засобів – системою кондиціонування повітря (СКП). В склад СКП входять: прилади приготування, переміщення та розподілу повітря, засоби автоматики, дистанційного керування та контролю. Технічні засоби СКП повністю або частково агрегуються в апараті – кондиціонері. При наявності джерел тепловипромінювання вживають

комплекс заходів з теплоізоляції устаткування та нагрітих поверхонь за допомогою теплозахисного обладнання згідно з ДСН 3.3.6.042-99.

Для захисту від надмірного теплового випромінювання необхідно використовувати спеціальний одяг або одяг з натуральних тканин. В умовах підвищеної температури рекомендується допускати до роботи осіб не молодше 25 і не старше 40 років.

З метою профілактики зневоднення організму потрібно правильно дотримуватися питного режиму. Рекомендована температура питної води, напоїв, чаю + 10-15 °С. Для оптимального водозабезпечення рекомендується також відшкодовувати втрату солей і мікроелементів, що виділяються з організму з потом, за рахунок вживання підсоленої води, мінеральної лужної води, молочно-кислих напоїв (знежирене молоко, молочна сироватка), соків, вітамінізованих напоїв, киснево-білкових коктейлів. Пити воду слід часто і потроху, щоб підтримувати хорошу гідратацію організму (оптимальний вміст води в організмі, який забезпечує його нормальну життєдіяльність, обмін речовин). При температурі повітря більше 30 °С і виконанні робіт середньої тяжкості, потрібно випивати не менше 0,5 л води на годину — приблизно один стакан кожні 20 хвилин [1].

Проте всі ці заходи є недостатньо ефективними при роботах на відкритих площадках. Тому слід організувати раціональні режими праці та відпочинку. Згідно ДСН 3.3.6.042-99 сумарна тривалість робіт при температурі більше 28 °С не повинна перевищувати 4-5 год за зміну. Іноді навіть необхідно змінити розпорядок робочого дня та перенести години роботи на ранковий або вечірній час. Внутрішньо змінний режим праці та відпочинку організовують за рахунок тривалості робочого часу: тривалість регламентованих перерв повинна становити не менше 10% робочого часу на кожні 2 °С перевищення. Під час таких перерв працівники повинні перебувати у приміщеннях з різницею температур повітря не більше 5 °С, та не нижче +24...+25 С. Це також слід враховувати працівникам, в приміщеннях яких встановлені кондиціонери [5,8].

Зменшення впливу підвищення рівня шуму на робочому місці. Працюючі в умовах тривалого шумового впливу може виникнути зниження пам'яті,

запаморочення, підвищену стомлюваність, дратівливість і ін. До об'єктивних симптомів шумової хвороби відносяться: зниження слухової чутливості, зміна функцій травлення, що виражається в порушенні кислотно- лужного балансу у шлунку, серцево-судинна недостатність. Відмічаються порушення зорового та у вестибулярному апараті.

Захист від шуму повинен здійснюватися розробкою шуму безпечної техніки, використанням методів та засобів колективного захисту та засобами індивідуального захисту. Питання боротьби з шумом слід починати вирішувати ще при проектуванні підприємства, робочого місця, устаткування. До організаційних заходів відносяться раціональне розташування виробничих ділянок, устаткування та робочих місць, постійний контроль режиму праці і відпочинку працівників, обмеження застосування обладнання та використання робочих місць, що не відповідають санітарно-гігієнічним вимогам. Технічні заходи дають змогу значно зменшити вплив шуму на працівників і поділяються на заходи, що використовуються: в джерелі виникнення (конструктивні та технологічні), на шляху розповсюдження (звукоізоляція, звукопоглинання, глушники шуму, звукоізоляційні укриття) в зоні сприйняття (засоби колективного та індивідуального захисту). Для зниження шуму необхідно насамперед використовувати конструктивні та технологічні методи, які в свою чергу залежать від походження звуку, конструктивних особливостей обладнання. Якщо рівень шуму у джерелі високий, то застосовуються методи зниження шуму на шляху розповсюдження і насамперед такий метод, як ізоляція джерела чи робочого місця. Звукова ізоляція від повітряного шуму здійснюється за допомогою кожухів, екранів, перетинок. Звукоізолюючі перепони відбивають звукову хвилю і тим самим перешкоджають розповсюдженню шуму [8].

Збільшення рівня повітрообміну в робочій зоні. Підвищена запиленість повітря робочої зони може привести до виникнення захворювань органів дихання і зору при вдиханні повітря, насиченого частинками виробничого пилу, і при попаданні на слизову оболонку очей частинок пилу.

Для того, щоб в приміщенні був оптимальний стан повітря, зменшення ступеню запиленості та загазованості повітря, а також видалення небезпечних та шкідливих речовин необхідно дотримуватись наступних вимог:

1. При будівництві приміщення необхідно встановлювати відповідну систему вентиляції, дотримуючись норм і правил, що забезпечують безпечний і ефективний повітрообмін. Крім загальної вентиляції необхідно встановлювати місцеву, над робочими зонами які цього потребують. Використовувати в системі вентиляції додаткові фільтри необхідних потужностей.

2. Для ефективної роботи вентиляції необхідно дотримуватися вимоги: Обсяг припливу повітря L_p у приміщення повинен відповідати обсягу витяжки L_v . Різниця між цими обсягами не повинна перевищувати 10...15%.

3. При організації повітрообміну необхідно свіже повітря подавати в ті частини приміщення, де концентрація шкідливих речовин мінімальна, а видаляти повітря необхідно з найбільш забруднених зон. Якщо щільність шкідливих газів нижче щільності повітря, то видалення забрудненого повітря виконується з верхньої частини приміщення, при видаленні шкідливих речовин із щільністю більшою – з нижньої зони.

4. Система вентиляції не повинна створювати додаткових шкідливих і небезпечних факторів (переохолодження, перегрів, шум, вібрацію).

5. Система вентиляції повинна бути надійною в експлуатації і економічною.

Розрахунок природного освітлення:

Попередній розрахунок природного освітлення полягає у визначенні площі світлових прорізів за формулю:

$$S_g = (e_n * K_{буд} * K_z * \eta_v S_n) / (T_0 * r_1 * 100); \quad (4.1)$$

де S_n – площі ліхтарів, вікон, m^2 ;

e_n – нормоване значення КПО, % визначається за формулою:

$$e_n = e m, \quad (4.2)$$

де e – значення КПО за табл. 4.1;

m – коефіцієнт світлового клімату;

S_n - площа підлоги, m^2 ;

$K_{\text{буд}}$ - коефіцієнт, що враховує затінення вікон напроти стоячими будівлями, приймається в межах 1...1,5;

K_3 - коефіцієнт запасу, приймається 1,5...2;

T_0 - загальний коефіцієнт світлопропускання

$$T_0 = T_1 * T_2 * T_3 * T_4 * T_5 \quad (4.3)$$

Іє T_1 – коефіцієнт світлопропускання матеріалу;

T_2 - коефіцієнт, що враховує втрати світла у віконній рамі;

T_3 - коефіцієнт, що враховує втрати світла у несучих конструкціях (при боковому освітленні $T_3=1$; при верхньому - $T_3 = 0,8-0,9$);

T_4 - коефіцієнт, що враховує втрати світла у сонцезахисних пристроях;

T_5 - коефіцієнт, що враховує втрати світла у захисній сітці, яка встановлюється під ліхтарями (приймається рівним 0,9).

r_1, r_2 - коефіцієнти, що враховують підвищення КПО за рахунок відбиття відповідно при боковому і верхньому освітленні;

Таблиця 4.1

Норми штучного та природного освітлення виробничих

| Характеристика зорових робіт | Найменший розмір об'єкта розпізнавання, мм | Розряд зорової роботи | Під-розряд зорової роботи | Штучне освітлення | Природне освітлення |
|------------------------------|--|-----------------------|---------------------------|---------------------|---------------------|
| | | | | Освітленість, лк | КПО, % |
| | | | | загальне освітлення | бокове освітлення |
| Середньої точності | 0,5-1 | IV | а | 300 | 1,5 |
| | | | б | 200 | |
| | | | в | 200 | |
| | | | г | 150 | |
| Малої точності | 1-5 | V | а | 200 | 1,0 |
| | | | б | 150 | |
| | | | в | 150 | |
| | | | г | 100 | |
| Груба | Більше 5 | VI | — | 150 | 0,5 |

Середній коефіцієнт відбиття $\rho_{\text{ср}}$ стелі, стін, підлоги визначається за формулою:

$$\rho_{\text{ср}} = \frac{\rho_{\text{стелі}} S_{\text{стелі}} + \rho_{\text{стін}} S_{\text{стін}} + \rho_{\text{підлоги}} S_{\text{підлоги}}}{S_{\text{стелі}} + S_{\text{стін}} + S_{\text{підлоги}}}, \quad (4.5)$$

$\rho_{\text{стелі}}$, $\rho_{\text{стін}}$, $\rho_{\text{підлоги}}$ – відповідні коефіцієнти відбиття;

$S_{\text{стелі}}$, $S_{\text{стін}}$, $S_{\text{підлоги}}$ – відповідні площі поверхонь.

$\eta_{\text{в}}$ – світлова характеристика вікна;

Отже, за даними мого лабораторного приміщення розрахунки показують такі результати:

$$e_{\text{н}} = 1,5 * 0,9 = 1,35\%;$$

$$K_{\text{буд}} = 1, K_{\text{з}} = 1,5, \eta_{\text{в}} = 10, S_{\text{п}} = 40\text{м}, T_0 = 0,345, r_1 = 1,1$$

$$S_{\text{в}} = (1,35 * 1,5 * 1 * 10 * 40) / (0,345 * 1,1 * 100) = 55,49\text{м}^2$$

Площина вікон має складати 55м^2 для оптимального і продуктивного робочого устрою.

4.3. Забезпечення пожежної і вибухової безпеки в мікробіологічній лабораторії

Правила пожежної безпеки в лабораторії (установі) слід складати на підставі НАПБ А.01.001-2004 “Правила пожежної безпеки в Україні” та вимог цих правил.

Пожежна безпека забезпечується організаційними, технічними та іншими заходами, передбаченими правилами пожежної безпеки в Україні. Кімнатні лабораторії повинні бути обладнані автоматичними пожежними сигналізаціями, вогнегасниками, які розміщуються у легкодоступних місцях. Для боксу забезпечують вогнегасник та ковдру або азбест. Підходи до гасіння пожеж повинні бути безкоштовними. При вході в газову мережу встановити загальну лабораторну аварійну газову арматуру, яка закривається в кінці дня.

Щоб запобігти пожежі заборонено:

- куріння на виробничих площах;

- зберігати та зберігати папір, вату, марлю, спирт та інші легкозаймісті речовини та матеріали в шафах та поза ними, радіатора центрального опалення, біля палаючих пальників, електричних проводів та приладів;

- зберігати легкозаймісті, вибухонебезпечні та легкозаймісті речовини (бензин, скипидар, мовлення, фото- та кінофільми тощо) без дотримання правил безпеки;

- нагрівати легкозаймісті речовини на відкритому вогні, електриці тощо;

- залишено без нагляду прилади, електричне освітлення, підсвічені газові пальники;

- чистити випадково розлиті легкозаймісті речовини при горінні печей та електроприладів у комплекті;

- розпалювати вогонь, включати в приміщення електричні прилади, якщо запах газу;

- розірвати проводку, заставити шафки, повісити плакати, картини, газети тощо джгут, розетки;

- захаращення коридорів, проїздів, виходів, сходів та доступу до шаф, порти та інших предметів пожежної техніки;

- використовувати саморобні, несправні або розімкнуті електричні обігрівачі.

У разі пожежі персонал лабораторії повинен попереджати адміністрацію самостійно про вжиття необхідних заходів для її ліквідації, а саме негайно закрити всі вікна, фрамуги, вентиляційні отвори, вимкнути електричні, газові пальники та вентиляцію, витягнуті з лабораторних легкозаймістих рідин, балонів. зі скрапленими газами, лужними металами та фосфором; використовувати протипожежне обладнання [5, 8].

Полум'я потрібно гасити за допомогою: лужних металів та фосфору - сухого піску; вогонь у рідинах (речовинах), які змішуються з водою, або тих, що легкозаймісті - вогнегасниках, струмені води, піску, ковдрах; при пожежі речовини, які не змішуються з водою - вуглекислотні вогнегасники, пісок, покривала, починаючи з периферії. Категорично забороняється використовувати воду; спалювання шматочків деревини - всі засоби.

У разі виникнення непередбачених надзвичайних ситуацій персонал, що працює у боксі, повинен негайно застосувати звукову сигналізацію та пожежу.

4.4. Висновки до Розділу

Працюючи в лабораторіях, організм людини піддається впливу різних небезпечних та шкідливих факторів, пов'язаних з характером виконання експерименту. Безпечна робота в мікробіологічній лабораторії повинна бути надана відповідно до ГОСТ 12.0.003-74. Виконуючи свої обов'язки, лабораторія повинна дотримуватись вимог санітарних норм та щодо особистої гігієни: починати роботу лише в особистому доступі захисні засоби; постійно тримати робоче місце в чистоті та порядку; відпочивати і їсти тільки в спеціально відведених місцях; після роботи мити забруднені частини тіла та брудний посуд.

Усі лабораторні приміщення повинні мати природне та штучне освітлення. Кожна кімната повинна бути з загальним перемикачем. Світильники та фітинги повинні бути закритого типу та доступні для вологої обробки.

Правила пожежної безпеки в лабораторії (установі) слід складати на підставі НАПБА.01.001-2004 "Правила пожежної безпеки в Україні" та вимоги цих правил.

РОЗДІЛ 5

ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

5.1. Екологічні аспекти, що впливають на умови вирощування та відбору рослин для виділення екстрактів

Вплив екологічних факторів середовища можна розцінити як дію подразнювальних факторів, лімітуючих факторів та модифікаторів. Подразнювальні фактори обумовлюють адаптивні зміни фізіологічних процесів рослини. Лімітуючі фактори створюють неможливі умови існування даного виду рослини у певному середовищі. Модифікатори провокують морфологічні та фізіологічні трансформації організмів рослин. Природно-екологічні фактори динамічні, непостійні, тому рослини піддаються впливу їх режимів, тобто послідовності змін за певний часовий проміжок.

Слід зазначити, що рослини, пристосувавшись до життя в конкретних умовах, самі в процесі життєдіяльності модифікують середовище свого проживання, а згодом забезпечують сталість умов середовища.

Класифікація екологічних факторів за природою походження: абіотичні (фактори неживої природи), біотичні (фактори живої природи) та антропогенні (діяльність людини) [3, 9].

До абіотичних факторів відносять:

- кліматичні (температура, тиск повітря, вологість),
- хімічні (концентрація солей у воді, кислотність, газовий склад повітря),
- фізичні (сонячна радіація, шум, магнітні поля, теплопровідність),
- орографічні (рельєф місцевості, висота над рівнем моря),
- едафогенні (склад ґрунту, його повітропроникність, кислотність).

Біотичні фактори впливу:

1. Хвороботворні мікроорганізми – різні види вірусів та бактерій, які викликають багато захворювань рослин. Вони можуть вражати різноманітні органи лікарських рослин. Цей фактор впливає на численність та розповсюдження лікарських рослин.

2. Паразитичні гриби – гриби викликають найбільш розповсюджені та небезпечні хвороби лікарських рослин (головня). Цей фактор суттєво впливає на численність деяких видів рослин.

3. Травоядні тварини – це один з основних факторів, який регулює біомасу лікарських рослин на даній території. Часто не розглядається як негативний фактор. Але з іншого боку, хімічні особливості лікарських рослин також впливають на організм тварин. Наприклад деякі тварини шукають лікарські рослини, які їм необхідні, щоб лікуватись.

Антропогенні фактори впливу:

1. Радіоактивне забруднення середовища – цей фактор може викликати підвищення числа мутацій в поколінні лікарських рослин. Окрім цього підвищується чисельність аномалій розвитку у рослин.

2. Хімічне забруднення довкілля – даний фактор здатен викликати підвищення рівня мутацій в поколінні лікарських рослин. Для лікарських рослин хімічне забруднення шкідливе не менше, а можливо і більше, ніж радіоактивне, тому що воно більш поширене. Тому ні в якому разі не можна збирати лікарські рослини поблизу доріг, промислових центрів, металургійних, хімічних підприємств та інших екологічно небезпечних об'єктів.

Абіотичні фактори впливу:

1. Клімат – в різних кліматичних умовах перевагу отримують ті види лікарських рослин, які відносяться до різних екологічних груп. Вони формують відповідні рослинні угруповання. Наприклад, екологічні групи рослин щодо вологи, субстрату, світла, тепла.

2. Хімічний склад навколишнього середовища – лікарські рослини по різному реагують на підвищення чи зменшення кількості різних хімічних речовин в навколишньому середовищі. Від цього залежать темпи їх росту та розвитку. У

процесі росту і розвитку лікарські рослини, як і всі живі організми, тісно пов'язані з навколишнім середовищем. Під дією зовнішніх умов у рослин виникають різні закономірні зовнішні (модифікаційні) або внутрішні, генетичні, зміни, що передаються у спадок нащадкам.



Рис. 5.1. Класифікація екологічних факторів

Середовище, що оточує лікарські рослини – це складний комплекс багатьох факторів, які діють у різних сполученнях. До них належать волога, світло, повітря, температура, ґрунт, рельєф місцевості, тваринні і рослинні організми. Їх сукупна дія визначає як будову органів рослин так і ритми їх розвитку. Якщо один із факторів навколишнього середовища є пануючим, то під його впливом лікарські рослини утворюють відповідну екологічну групу.

До однакових умов різні рослини пристосовуються по різному, набувають тих чи інших ознак. Тому, навіть, в межах однієї екологічної групи можна зустріти

рослини, які відрізняються за зовнішнім виглядом (габітусом – від латинського "habitus" – "зовнішність") і за анатомічною структурою органів. Вони складають різні життєві форми.

Життєві форми і екологічні групи лікарських рослин – поняття не тотожні. Вони відрізняються тим, що перші відбивають пристосованість організмів до всього комплексу факторів навколишнього середовища, а другі – пристосованість лише до певних його факторів.

Екологічні групи є складовою частиною поняття "життєві форми". Так, ксерофіти, мезофіти, гігрофіти та інші є екологічними групами, бо вони відбивають пристосування рослин до різних ступенів зволоження. М.С.Двораківський виділяв в своїх роботах такі екологічні групи лікарських рослин, як групи щодо вологи, світла, субстрату [10,11].

Екологічні групи рослин щодо вологи

Лікарські рослини потребують неоднакову кількість вологи, що дає змогу виділити такі екологічні групи:

1. Мезофіти (від mesos – середній, phyton – рослина) – це рослини, що ростуть в умовах помірного зволоження (конюшина, дуб, береза, вільха та ін.).

2. Ксерофіти (від xeros – сухий) – ці рослини можуть довгий час жити при недостатній кількості вологи (молочай, алое, очиток, сосна, жовтозілля, мати - й - мачуха, шавлія, полин, васильки та ін.).

3. Гідрофіти (від hudor – вода) – це напівзанурені у воду рослини. Ростуть на берегах водойм (частуха подорожиколиста, вахта трилиста, очерет озерний, хвощ багновий тощо).

4. Гігрофіти (від гр. hydros – волога) – ці рослини ростуть на ґрунті з надмірним зволоженням (аїр, лепешняк, калужниця, чистотіл великий, кислиця та інші).

Екологічні групи рости щодо світла

По відношенню до світла лікарські рослини з яких виділяють екстракти розділяють на три групи:

1. Світлолюбні, або геліофіти – ці рослини ростуть на відкритих освітлених місцях (мати - й - мачуха, молодило, очиток їдкий).

2. Тіньові, або сціофіти – це рослини, що ростуть на відкритих сонячних місцях, але витримують і деяке затінення (дев'ясил мечелистий, липа, кислиця).

3. Тіньовитривалі – це рослини, що не витримують яскравого сонячного освітлення.

Екологічні групи лікарських рослин щодо субстрату

По відношенню до багатства ґрунтів поживними речовинами лікарські рослини поділяють на:

1. Евтрофні – ті лікарські рослини, що ростуть на багатих ґрунтах, до них відносяться ясень звичайний, клен платановидний, дуб звичайний тощо.

2. Оліготрофні рослини – це ті лікарські рослини, що не дуже вибагливі до багатства ґрунтів. Це – багно звичайне, верес, журавлина, підбіл звичайний, мирт звичайний та інші.

3. Мезотрофні – більшість лікарських рослин лісів і луків, які помірно вибагливі до багатства ґрунтів.

Головним показником Раункієр, датський вчений, у 1905 р вважав бруньки відновлення рослин, зокрема їх положення і захищення. За цією ознакою від виділяє 5 груп надземних життєвих форм [10, 11].

1. Фанерофіти (від *phaneros* – відкритий, *phyton* – рослина). До них належать дерева, кущі.

2. Хамефіти (від *chamai* – приземистий). До них належать такі лікарські рослини, в яких бруньки відновлення розташовані невисоко над землею. Це напівкущі (брусниця, верес тощо)

3. Гемікриптофіти (від *hemi* – напів, *kryptos* – схований). У цих лікарських рослин бруньки відновлення занурені у ґрунт на малу глибину (коричник шишкуватий, звіробій продірявлений, кропива дводомна, лютик їдкий, повзучий та ін.).

4. Крптофіти (від *kryptos* – схований). У цих рослин бруньки відновлення розташовані на коренях та підземних пагонах.

5. Терофіти (від *theros* – літо). Майже всі однорічні трав'янисті лікарські рослини.

Сукупна дія усіх екологічних факторів впливу, як зазначає Г.Н.Котуков, визначає певні біологічні особливості кожної лікарської рослини. Так, наприклад: Алое деревовидне має такі біологічні особливості – теплолюбна рослина, яка вже при температурі – 2 °С вимерзає. Вона пристосовувалась до умов пустель та полупустель. При великій посузі алое утворює великі соковиті листки, де накопичується велика кількість вологи. Блекота чорна – на першому році життя дає лише розетку прикореневих листків, а на другому році вже дає плоди. А перший період росту потребує підвищеної вологості ґрунту, але надлишок вологи у більш пізній період негативно впливає на урожай. Беладона лікарська – теплолюбна та вологолюбна (гігрофіт) рослина, з дуже довгим періодом вегетації. Її сходи дуже легко гинуть від посухи, бур'янів та шкідників. На першому році росте повільно. Грицики звичайні – дуже добре пристосовуються до ґрунтовокліматичних і метеорологічних умов, тому ростуть на самих різних ґрунтах та в різних кліматичних умовах. Як вологолюбна культура, любляють ґрунти з підвищеним зволоженням і в той самий час може дуже довго переносити посуху. Мак снотворний – сходи маку розвиваються повільно і легко заглушуються бур'янами. Але вони можуть витримувати і невеликі заморозки. Пізніше мак потребує помірної температури та достатньої вологості ґрунту. Суха тепла погода в період цвітіння впливає на підвищення морфіну в коробочках. Календула звичайна – теплолюбна і світлолюбна рослина, любляє розпушування ґрунту. Не боїться посухи завдяки могутній кореневій системі. Нагідки лікарські – можуть рости на різних ґрунтах як дуже невибагливі рослини. Розмножуються самосівом. М'ята перцева – вологолюбна, світлолюбна рослина. Дуже вибаглива до родючості ґрунту. Легко переносить надмірну вологість ґрунту навесні та восени. Самі високі врожаї дає на низьких ділянках. Особливо багато вологи потребує в першу половину літа до утворення бутонів. Кореневище проростає навесні та при заморозках вимерзає. При підвищеній вологості та ущільненні ґрунту виходить на поверхню та починає стелитися. Ромашка лікарська – світло - та вологолюбна рослина. Вегетаційний період дуже короткий: від сходів до цвітіння минає лише 60-70 днів. Однією з найважливіших біологічних особливостей ромашки лікарської є велике насіння [11].

Основні екологічні групи рослин

| Екологічний фактор | Екологічна група | |
|--------------------|------------------|--|
| Волога | Ксерофіти | Рослини посушливих місцеперебувань |
| | Мезофіти | Рослини середневологих місцеперебувань |
| | Гідрофіти | Водні рослини |
| Температура | Мегатермофіти | жаростійкі рослини |
| | Мезотермофіти | Теплолюбиві рослини |
| | Мікротермофіти | Холодолюбиві рослини |
| | Гекістотермофіти | Дуже холодолюбиві рослини |
| Світло | Сциофіти | Тіньлюбні рослини |
| | Сциогеліофіти | Тіньовитривалі рослини |
| | Геліофіти | Тіньлюбні рослини |
| Трофність ґрунту | Оліготрофи | Рослини бідних ґрунтів |
| | Мезотрофи | Рослини помірно родючих ґрунтів |
| | Еутрофи | Рослини родючих ґрунтів |
| Засоленість ґрунту | Глікофіти | Рослини, які не переносять засолення |
| | Галіофіти | Солестійкі рослини |
| Кислотність ґрунту | Ацидофіти | рослини кислих ґрунтів |
| | Нейтрофіти | рослини нейтральних ґрунтів |
| | Базофіти | рослини лужних ґрунтів |

Шавлія лікарська – рослина має потужну кореневу систему, яка глибоко проникає у ґрунт (вона не боїться посухи). Шавлія дуже теплолюбна рослина.

Лікарські рослини, як елементарні частини живого світу в середовищі свого існування, знаходяться під одночасним впливом різних чинників – екологічних факторів. У процесі росту і розвитку лікарські рослини тісно пов'язані із навколишнім середовищем. Сукупна дія факторів навколишнього середовища визначає будову органів рослин, ритми їх розвитку. Якщо один із факторів навколишнього середовища є пануючим, то під його впливом лікарські рослини утворюють відповідну екологічну групу. До однакових умов різні рослини пристосовуються по-різному, набувають тих чи інших ознак. В межах однієї екологічної групи можна зустріти лікарські рослини, що відрізняються за своїм зовнішнім виглядом. Сукупна дія усіх екологічних факторів впливає на чисельність видового складу та хімічний склад лікарських рослин.

5.2. Висновки до Розділу

Вплив екологічних аспектів має лімітуючий або модифікуючий характер для вирощування та відбирання рослин. Екологічні фактори розділяються на три основних види: біотичні, абіотичні та антропогенні.

В даній роботі використовувались рослини які не примхливі до оточуючого середовища, але це не виключає моменту впливу екологічних факторів на їх хімічний склад та на анатомічний розвиток.

Середовище, що оточує лікарські рослини – це складний комплекс багатьох факторів, які діють у різних сполученнях. До них належать волога, світло, повітря, температура, ґрунт, рельєф місцевості, тваринні і рослинні організми. Їх сукупна дія визначає як будову органів рослин так і ритми їх розвитку. Якщо один із факторів навколишнього середовища є пануючим, то під його впливом лікарські рослини утворюють відповідну екологічну групу.

Розділяють такі екологічні групи: ксерофіти, гідрофіти, сциофіти, мезотрофи, глікофіти, нейтрофіти та інші.

ВИСНОВКИ

1. Представники роду *Brassicaceae* відомі як хрестоцвіті овочі, капуста або рослини гірчиці. Брокколи відноситься до відділу *Magnoliophyta*, сім'ї *Cruciferae*. Трава грициків звичайних *Bursae pastoris* (*Capsella bursa pastoris*) належить до відділу покритосеменних, родини *Brassicaceae*.

Суцвіття брокколи є гарним джерелом оздоровчих сполук, оскільки містить глюкозинолати, флавоноїди, гідроксинієві кислоти, особливо індол-3-карбінол і сульфорафан. Ці біологічно активні сполуки знижують ризик розвитку деяких видів гормонозалежних пухлин. *Capsella bursa pastoris* в більшій частині містить флавоноїди, а саме рутин і гесперидин.

Представником роду Айстрові (*Asteraceae*) або Складноцвіті (*Compositae*) в даній роботі – лікарська рослина *Calendula officinalis*. Вона має сильно виражені бактерицидні властивості відносно багатьох збудників хвороб, особливо стафілококів та стрептококів. Препарати з календули застосовують для лікування опіків, ран, для полоскання горла при хронічному тонзиліті та порожнини рота при стоматиті. Квітки *Calendula officinalis* містять каротиноїди, флавоноїди.

Каротиноїди мають антиоксидантну активність, впливають на регуляцію росту і диференціювання клітин, модулюють експресію генів і імунну відповідь.

Флавоноїди – водорозчинні сполуки. Апігенін і лютеонін мають здатність елімінувати клітини раку підшлункової залози.

Екстракція – спосіб виділення біологічно активних речовин (БАР) з рослинних джерел, який на даний час залишається основним методом у підготовці БАР. Найчастіше застосовуються такі методи як мацерація, перколяція і циркуляційна екстракція.

2. Об'єкти дослідження – висушені трави *Capsella bursa pastoris*, *Calendula officinalis* і свіжі брокколи *Brassica oleracea var italia*, отримані від місцевих аптек і супермаркетів Києва. Для перевірки протипухлинної активності використовували

клітинну лінію раку WISH ATCC-№ CCL-25 (моношар). Екстракцію біологічно активних сполук з брокколі та трав проводили за допомогою 3 різних методів: спиртово-водна екстракція, водна екстракція та механічна.

На практичній базі була запропонована технологія перевірки протиракової активності трав'яних екстрактів. Ця технологія складається з наступних етапів: підготовка лінії клітин, введення екстрактів і візуалізація результатів експерименту.

3. *Capsella bursa pastoris* діє на раковій лінії WISH (монослой) в мінімальній концентрації 0,016 г / мл, де інгібування ракових клітин становить 67%. При концентрації 0,031-0,125 г / мл і більше виживання клітинної лінії становить 7%. *Calendula officinalis* екстракт водного розчину теж дає хороші результати – інгібування 66% ракових клітин при мінімальній концентрації 0,016 г/мл. Більша концентрація дає показники виживання клітин у 7-10%. Натомість, брокколі *Brassica oleracea var italia* не виявила яскравого результату в експерименті, тільки при 0,125 г / мл виживання клітинної лінії становить 13%.

Працюючи в лабораторіях, організм людини піддається впливу різних небезпечних та шкідливих факторів, пов'язаних з характером виконання експерименту. Безпечна робота в мікробіологічній лабораторії повинен бути наданий відповідно до ГОСТ 12.0.003-74. Виконуючи свої обов'язки, лабораторія повинна дотримуватись вимог санітарних норм та щодо особистої гігієни: починати роботу лише в особистому доступі захисні засоби; постійно тримати робоче місце в чистоті та порядку; відпочивати і їсти тільки в спеціально відведених місцях; після роботи мити забруднені частини тіла та брудний посуд.

Вплив екологічних аспектів має лімітуючий або модифікуючий характер для вирощування та відбирання рослин. Екологічні фактори розділяються на три основних види: біотичні, абіотичні та антропогенні.

В даній роботі використовувались рослини які не примхливі до оточуючого середовища, але це не виключає моменту впливу екологічних факторів на їх хімічний склад та на анатомічний розвиток.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бедрій Я. І. Безпека життєдіяльності: навч. пос. / Я. І. Бедрій. – К. : Кондор, 2009. – 286 с.
2. Бобирьов В.М. Нові механізми дії ромашки й календули як основа їхнього застосування в сучасних лікарських засобах // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2014. – № 1. – С. 3-9.
3. Гудзенко А.В. Розробка підходів до стандартизації квіток нагідок лікарських у багатокомпонентних рослинних сумішах // Фітотерапія. Часопис. – 2011. – № 1. – С. 80-83.
4. 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.
5. Жидецький В. Ц. Основи охорони праці : підручник / В. Ц. Жидецький. –Л. : Афіша, 2004. – 248.
6. Запрометов М.Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. – М., 1993. – 272 с
7. Зубицька Н. П. Лікуємо нагідками / Н.П.Зубицька, Р.П.Желясків. – Тернопіль: Навч. книга- Богдан, 2003. – 88 с.
8. Кучерявого В. П. Охорона праці: навч. пос. / В. П. Кучерявого. – Л. :Оріяна – Нова, 2007. – 368 с.
9. Кобзар А.Я. Фармакогнозія в медицині. — Київ: “Медицина”, 2007. – С. 227-229.
10. Компанієць К.М. Застосування настоянки календули в лікуванні хворих на хронічний некалькульозний холецистит на тлі хелікобактеріозу у сполученні з ішемічною хворобою серця // Фітотерапія. Часопис. – 2011. – № 2. – С. 59-61.

11. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А. М. Гродзінський. – К. : Видавництво «Українська Енциклопедія» ім. М. П. Бажана, Український виробничо-комерційний центр «Олімп», 1992. – 544 с.
12. Ляшенко, А. А. Индол-3-карбинол (Индол-3 карбинола): терапевтические и профилактические эффекты на опухоли молочной железы /А. А. Ляшенко, В. И. Киселев, Е. С. Северин // Молекулярная медицина. – Москва, 2005. – № 2. – 20-25 с.
13. Машковский М.Д. Лекарственные средства. В 2 т. X. –1997. – 688 с.
14. Технологія лікарств промислового виробництва: ТЗ8 учебник для студ. высш. учеб. завед. : перевод с укр. : в 2 ч. Ч 1; перевод с укр. яз. / [В. И. Чуешов, Е. В. Гладух, И. В. Сайко и др.]. – Винница : Нова Книга, 2014. – 696 с.
15. Юриссон С. М. Установление действующих веществ пастушьей сумки *Capsella bursa-pastoris* / С. М. Юриссон // Ученые записки Тартусского университета. – 1971. – № 270. – 71-79 с.
16. Юриссон, С. М. Флавоноидные вещества пастушьей сумки –*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik. / С. М. Юриссон // Фармация. – 1973. – Т. 22, № 5. – 34-35 с.
Русаловський А. В. Правові та організаційні питання охорони праці / А. В. Русаловський – [4-те вид., допов. і перероб.]. – К.: Університет «Україна», 2009. – 295 с.
17. Al-Snafi, A. E. Therapeutic properties of medicinal plants: a Review of their detoxification capacity and protective effects (Part I) / A. E. Al-Snafi // *Asian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. – 2015. – vol. 5, no. 4, pp. 257-270.
18. Bailey L. H. (1922) The cultivated brassicas .Part I. *Gentes Herbarum*, vol. 1, no. 2, pp. 53-108.
19. Bailey L. H. (1930) The cultivated brassicas. Second Paper. *Gentes Herbarum*, vol. 2, no. 5, pp. 211-267.
20. Bekker N. P., UI'chenko N. T., Glushenkova AI 2002. Lipids of the aerial part of *Capsella bursa-pastoris*. *Chem Nat Compd* , vol. 38, pp. 610-611.
21. Cheung K. L., Kong A. N. (2010) Molecular targets of dietary phenethyl isothiocyanate and sulforaphane for cancer chemoprevention. *AAPS J*, vol. 12, pp. 87-97.

22. Dixon G.R., Vegetable Brassicas and Related Crucifers.-Wallingford, UK: CABI 2007. – pp. 327.
23. Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications / O.M. Andersen, K.R. Markham, CRC Press Taylor&Francis Group. – 2006.
24. Iori R., Bernardi R., Gueyrard D., Rollin P., Palmieri S. (1999) Formation of glucoraphanin by chemoselective oxidation of natural glucoerucin: a chemoenzymatic route to sulforaphane. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, vol. 9, no.7.
25. Kweon MH, Kwak JH, Ra KS, Sung HC, Yang HC 1996. Structural characterization of a flavonoid compound scavenging superoxide anion radical isolated from *Capsella bursapastoris*. *J Biochem Mol Biol*, vol. 29, pp. 423-428.
26. Ren K., Li Z., Li Y., Zhang W., Han X. (2017) Sulforaphene enhances radiosensitivity of hepatocellular carcinoma through suppression of the NF- κ B pathway. *Journal of biochemical and molecular toxicology*. Wiley Periodicals, Inc: pp. 289-294.
27. Shang H., Shih Y., Lee C., Hsueh S., Liu J., Liao N., Chen Y., Huang Y., Lu H., Chung J.(2016) Sulforaphane-induced apoptosis in human leukemia HL-60 cells through extrinsic and intrinsic signal pathways and altering associated genes expression assayed by cDNA microarray. *Environmental toxicology*. Wiley Periodicals, Inc. Environ Toxicol 32. – pp. 311-328.
28. Song N, Xu W, Guan H, Liu X, Wang Y, Nie X 2007. Several flavonoids from *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik. *Asian Journal of Traditional Medicines* 2: 218-222.