

Міністерство охорони здоров'я України
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

ГУЗЬО НАТАЛІЯ МИКОЛАЇВНА



УДК: 615.32+582.711.712+615.451.1

ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПАРИЛА ЗВИЧАЙНОГО

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Львів – 2021

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармації Івано-Франківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор
Грицик Андрій Романович,
Івано-Франківський національний
медичний університет,
завідувач кафедри фармації.

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
Марчишин Світлана Михайлівна,
Тернопільський національний медичний
університет імені І. Я. Горбачевського,
завідувач кафедри фармакогнозії
з медичною ботанікою;

доктор фармацевтичних наук, професор
Кошовий Олег Миколайович,
Національний фармацевтичний університет,
завідувач кафедри фармакогнозії.

Захист відбудеться "16" квітня 2021 року о 12³⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 35.600.02 при Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького за адресою: 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (79000, м. Львів, вул. Січових Стрільців, 6).

Автореферат розісланий "16" березня 2021 року.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради



І. В. Драпак

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. В останні роки все більшого поширення набувають методи лікування з використанням лікарських рослин та біологічно активних субстанцій на їх основі. В переважній більшості такі препарати мають м'який терапевтичний ефект, не викликають важких побічних реакцій, мають широкий спектр фармакологічної дії і є низько токсичними, що є важливим для профілактики і терапії хронічних захворювань. Пошук перспективних рослин серед флори України, які мають достатню сировинну базу та використовуються у народній і науковій медицині, є актуальним завданням сучасної фармації.

Перспективними об'єктами для фармакогностичного вивчення є рослини роду Парило (*Agrimonia* L.) родини Розові (*Rosaceae*), які здавна використовують у медицині багатьох країн як протизапальний, гепатопротекторний, жовчогінний, сечогінний, протиглисний та спазмолітичний засіб. Системних досліджень видів роду Парило флори України не проводилось.

Найбільш перспективним для заготівлі та використання в медичній практиці є розповсюджений по всій території України вид – парило звичайне (*Agrimonia eupatoria* L.). Дана рослина внесена до Державного кадастру рослинного світу України як пріоритетний вид лікарських рослин, що потребує наукових досліджень.

Наявність достатньої сировинної бази, широкий спектр діючих речовин та різноманітність фармакологічної активності дають можливість більш широко застосовувати цю рослину з профілактичною та лікувальною метою в різних галузях.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана у відповідності до плану проблемної комісії «Фармація» МОЗ та АМН України і є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри фармації ІФНМУ «Дослідження деяких дикорослих і культивованих лікарських рослин західного регіону України та розробка лікарських засобів на їх основі» (номер державної реєстрації 0110U006205) та «Дослідження культивованих і дикорослих лікарських рослин Західного регіону України та розробка технологій їх застосування з лікувальною метою» (номер державної реєстрації 018U003809).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було фармакогностичне дослідження парила звичайного та встановлення можливості створення лікарських засобів на основі біологічно активних речовин досліджуваної сировини.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

- провести інформаційний пошук та аналіз сучасного стану досліджень за темою дисертаційної роботи;
- встановити морфолого-анатомічні ознаки сировини парила звичайного;
- встановити якісний склад та кількісний вміст основних груп біологічно активних речовин (БАР) парила звичайного;

- вивчити динаміку накопичення основних БАР залежно від місця зростання та фази вегетації, встановити оптимальні терміни заготівлі сировини;
- вивчити сировинні ресурси, встановити можливості промислової заготівлі сировини;
- розробити технологічні параметри одержання екстрактів із сировини парила звичайного, провести їх стандартизацію та вивчити фармакологічну активність;
- розробити проекти методів контролю якості на екстракт та інструкції із заготівлі, сушіння і зберігання лікарської рослинної сировини.

Об'єкти дослідження: листки, квітки, стебла, трава парила звичайного, водний та водно-спиртові екстракти, біологічно активні речовини, ресурсні запаси.

Предмет дослідження: виявлення, ідентифікація та кількісне визначення БАР сировини парила звичайного, розробка параметрів одержання екстрактів, їх стандартизація та вивчення фармакологічної активності; встановлення відмітних морфолого-анатомічних ознак парила звичайного; проведення ресурсознавчих досліджень.

Методи дослідження. В експериментальному дослідженні використовувалися такі методи: морфологічні – опис та ідентифікація парила звичайного; мікроскопічні (скануюча електронна мікроскопія) – для встановлення анатомічних діагностичних ознак сировини; гістохімічні – встановлення місця локалізації БАР у рослинній сировині; фізико-хімічні – тонкошарова (ТШХ) і паперова (ПХ) хроматографія, вискоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), спектрофотометрія в УФ- та видимій областях спектру, атомно-абсорбційна спектрофотометрія (ААС), хромато-мас-спектрометрія – ідентифікація БАР у сировині та субстанціях; фізичні – визначення втрати в масі при висушуванні, загальної золи, розчинності; технологічні; фармакологічні; ресурсознавчі дослідження. Обробку експериментальних даних проводили з використанням математично-статистичних методів.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше проведено фармакогностичні, фармакологічні та ресурсознавчі дослідження парила звичайного флори України. У досліджуваних зразках сировини встановлено наявність гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, дубильних речовин, амінокислот, вуглеводів, органічних кислот, макро- та мікроелементів.

Методом ВЕРХ у траві парила звичайного ідентифіковано фенольні сполуки: 7 компонентів дубильних речовин – галокатехін, епігалокатехін, катехін, епікатехін, епікатехіну галат, галову та елагову кислоти; 4 флавоноїди – ізокверцитрин, неогесперидин, нарингенін, лютеолін; 7 гідроксикоричних кислот – гідроксифенілацетатна, кофейна, сирінгова, *n*-кумарова, ферулова, синапова, цинамова та хінна. Виявлено і встановлено вміст методом ВЕРХ 6 органічних кислот – винна, піровиноградна, ізолимонна, лимонна, бурштинова, яблучна.

Вперше у сировині парила звичайного методом ГХ-МС ідентифіковано і встановлено вміст компонентів летких сполук: у листках – 49; у квітках – 41; у плодах – 49; у стеблах – 50. Серед ідентифікованих сполук найбільшу частку

становлять сесквітерпен β -каріофілен та його похідне каріофіленоксид, моноциклічний сесквітерпен гумулен та ациклічний сесквітерпен – β -фарнезен.

Вперше виділено та встановлено кількісний вміст фракцій водорозчинних полісахаридів (ВПРС), пектинових речовин (ПР), геміцелюлози А і Б (Гц А і Гц Б). Методом ГХ/МС встановлено мономерний склад полісахаридних комплексів *Agrimonia eupatoria* L.

У траві парила звичайного ідентифіковано 17 амінокислот, 9 з яких є незамінними. Домінуючими є аспарагінова кислота, гліцин, аланін, валін та лізин. Досліджено елементний склад трави парила звичайного.

Вивчено динаміку накопичення БАР (окиснюваних фенолів, суми гідроксикоричних кислот, танінів, поліфенолів і суми флавоноїдів) у траві досліджуваного об'єкту в залежності від фази вегетації та місця зростання.

Вперше проведено анатомічне дослідження трави *Agrimonia eupatoria* L. методом скануючої мікроскопії, в результаті якого встановлено діагностичні ознаки сировини.

Вперше за допомогою мікрохімічних реакцій встановлено локалізацію дубильних речовин, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, слизу, пектинових речовин, які використано для ідентифікації лікарської рослинної сировини.

Встановлено місця зростання парила звичайного на територіях Івано-Франківської, Тернопільської, Вінницької, Хмельницької, Кіровоградської, Закарпатської та Львівської областей. Вперше вивчено запаси парила звичайного в Івано-Франківській та Тернопільській областях на конкретних заростях.

Новизну досліджень підтверджено та захищено патентом України на винахід «Спосіб одержання екстракту трави парила звичайного з гепатопротекторною активністю» (№ 108382) та патентами України на корисну модель «Спосіб одержання екстракту трави парила звичайного з гепатопротекторною активністю» (№ 82949) та «Спосіб визначення локалізації гідроксикоричних кислот у рослинній сировині за допомогою мікрохімічної реакції» (№ 124069).

Практичне значення одержаних результатів. Фармакогностичні дослідження вказують на можливість використання трави парила звичайного як перспективного джерела БАР для створення лікарських засобів з протизапальною та гепатопротекторною активністю.

Встановлено оптимальні параметри екстракції БАР та отримано 3 екстракти трави парила звичайного. Доведено можливість використання екстракту трави парила звичайного (екстрагент - 40 % етанол *P*) як лікарського засобу з гепатопротекторною та притизапальною активністю.

Встановлено обсяги можливих щорічних заготівель трави парила звичайного в Івано-Франківській та Тернопільській областях, що є достатнім для промислової заготівлі.

Розроблено проекти методів контролю якості (МКЯ) «Парила звичайного трави екстракт сухий» та «Інструкції з заготівлі та сушіння трави парила звичайного».

Матеріали дисертаційної роботи впроваджено в навчальний процес кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету;

кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету; кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; кафедри медичного та фармацевтичного права, загальної і клінічної фармації Харківської медичної академії післядипломної освіти; кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету; кафедри фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету; кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету; кафедри фармації Буковинського державного медичного університету; кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії ДЗ «Луганський державний медичний університет»; кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків ФПО Запорізького державного медичного університету; кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика; кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії Київського медичного університету УАНМ; кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (акти впровадження від 01.10.2015 р., 05.09.2016 р., 22.09.2016 р., 28.09.2016 р., 06.10.2016 р., 18.10.2016 р., 26.10.2016 р., 16.11.2016 р., 21.11.2016 р., 29.11.2016 р., 30.11.2016 р., 16.01. 2017 р. відповідно) та в практичну роботу випробувального центру державного підприємства «Івано-Франківськстандартметрологія» (акт впровадження від 19.01.2017 р.).

Отримано свідоцтво на раціоналізаторську пропозицію у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького (№1889 від 22.07.2015 р.).

Особистий внесок здобувача. Наукові дослідження за темою дисертаційної роботи проводилися у співавторстві з науковим керівником – д. фарм. н., проф. Грициком А. Р., основна частина виконана автором особисто.

Безпосередньо автором здійснено патентно-інформаційний пошук та аналіз сучасного стану досліджень за темою дисертаційної роботи; аналіз отриманих наукових даних із питань сучасних досліджень за проблематикою, результати яких стали підґрунтям до вибору об'єкта дослідження; виділено та ідентифіковано сполуки, встановлено кількісний вміст основних груп БАР трави парила звичайного в залежності від місця зростання, фази вегетації, року заготівлі; розроблено оптимальні параметри одержання екстрактів трави парила звичайного та проведено їх стандартизацію; встановлено морфолого-анатомічні діагностичні ознаки парила звичайного; досліджено фармакологічну активність парила звичайного трави екстрактів; вивчено сировинні ресурси та можливості промислової заготівлі сировини; розроблено проекти МКЯ «Парила звичайного трави екстракт сухий» та «Інструкції із заготівлі та сушіння трави парила звичайного».

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи викладено та обговорено на Всеукраїнському науково-практичному семінарі «Перспективи створення в Україні лікарських препаратів різної спрямованості дії» (Харків, 2004); VI Національному з'їзді фармацевтів України «Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України» (Харків, 2005); VIII Міжнародній науково-практичній конференції «Наука і

освіта – 2005» (Дніпропетровськ, 2005); 82-й науково-практичній конференції студентів і молодих вчених з міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 2013); IV і V Всеукраїнських науково-практичних конференціях з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 2016, 2019); Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій пам'яті доктора хімічних наук, проф. Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження) «PLANTA+. Досягнення та перспективи» (Київ, 2020); науково-практичній дистанційній міжнародній конференції «Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження» (Івано-Франківськ, 2020).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 23 наукові праці, у тому числі 9 статей (із них 5 - у фахових наукових виданнях України, 4 у іноземних виданнях, у тому числі 1 у виданні Scopus), 1 патент України на винахід, 2 патенти України на корисну модель, 11 тез доповідей, отримано 1 раціоналізаторську пропозицію.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 225 сторінках друкованого тексту (обсяг основного тексту - 163 сторінки) та складається зі вступу, огляду літератури, чотирьох розділів, загальних висновків, списку літератури та 20 додатків (24 с.). Робота ілюстрована 48 таблицями та 33 рисунками. Список використаної літератури містить 220 джерел, з яких – 60 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Розділ 1. Парило звичайне – перспективне джерело біологічно активних речовин (огляд літератури). В огляді літератури наведено ботанічну характеристику рослин роду Парило, дані про розповсюдження, умови культивування парила звичайного та його хімічний склад, фармакологічні властивості та досвід застосування в офіциальній і народній медицині. Парило звичайне використовують в медицині різних країн світу як гепатотропний, жовчогінний, в'яжучий, протизапальний, протимікробний, противірусний, відхаркувальний, сечогінний, кровоспинний, протиглисний та цукрознижувальний засіб. Засоби з парила звичайного нормалізують обмін речовин, регулюють функцію печінки і жовчного міхура, рефлекторно підсилюють секрецію залоз травного тракту, поліпшують апетит. Рослини роду Парило є джерелом флавоноїдів, окиснюваних фенолів, терпеноїдів, кумаринів, сапонінів, вуглеводів, органічних кислот, мікроелементів. Станом на 01.01.2021 р. у Державному реєстрі лікарських засобів України зареєстровано один лікарський препарат, до складу якого входить парило звичайне, – Просталад, наст. д/перор. заст. по 100 мл у фл. (ПрАТ "Біолік", Україна).

Незважаючи на суттєву кількість досліджень, якісний склад та кількісний вміст БАР парила звичайного, що зростає на території України, вивчено недостатньо, що створює передумови для фармакогностичного дослідження сировини парила звичайного.

Розділ 2. Методологія, об'єкти і методи дослідження. Для досягнення окреслених напрямків досліджень була вибудована структура дисертаційної роботи, яка складалася із п'яти етапів (рис. 1).



Рис. 1. Структура дослідження

У даному розділі наведено об'єкти та методи проведення фармакогностичних, технологічних, фармакологічних та ресурсознавчих досліджень з наведенням відомостей про використані прилади та реактиви.

Для фармакогностичного аналізу відібрано зразки сировини парила звичайного, заготовлені в Івано-Франківській та Тернопільській областях в 2003 – 2015 рр. з врахуванням бережливого відношення до флори.

Розділ 3. Фітохімічне вивчення сировини парила звичайного. При проведенні попереднього фітохімічного аналізу досліджуваної сировини встановлено наявність полісахаридів, амінокислот, аскорбінової кислоти, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та дубильних речовин.

Дослідження летких сполук. Методом ГХ/МС визначено якісний склад та вміст компонентів летких сполук досліджуваних органів парила звичайного. В листках було ідентифіковано 49 речовин, що становить 75,38 % від їх загальної кількості; у квітках ідентифіковано та встановлено вміст 41 речовини (91,11 % від їх загальної кількості); у плодах – 49 речовин (79,03 % від їх загальної кількості); у стеблах – 50 ідентифікованих речовин, що становить 80,65 % від загальної кількості виявлених компонентів. Серед ідентифікованих сполук найбільшу частку становлять сесквітерпен β -каріофілен та його похідне каріофіленоксид, моноциклічний сесквітерпен – гумулен та ациклічний сесквітерпен – β -фарнезен, які обумовлюють специфічну фармакологічну активність препаратів парила звичайного. У всіх частинах рослини присутні монотерпен ліналоол; сесквітерпени – неролідол, σ -кадінен, γ -кадінен. Крім моно- та сесквітерпеноїдів, було виявлено жирні кислоти, аліфатичні альдегіди, спирти тощо.

Дослідження вуглеводів. Досліджено полісахаридні комплекси з трави, стебел, листків і квіток парила звичайного, заготовленого з різних місць зростання, виділено фракції ВРПС, ПР, Гц А, Гц Б, кількісний вміст яких коливався в межах від 2,99 % до 3,95 %; від 5,05 % до 5,99 %; від 19,55 % до 21,36 % та від 3,16 % до 4,03 % відповідно. Методами ПХ і ТШХ у гідролізаті водорозчинних полісахаридів трави парила звичайного ідентифіковано глюкозу і галактозу, у гідролізаті пектинових речовин – галактозу і кислоту галактуронову, у гідролізаті геміцелюлоз – ксилозу, арабінозу та галактуронову кислоту.

Якісний склад і кількісний вміст моноцукрів у парила звичайного траві також виявляли методом ГХ/МС. Виявлено 11 вільних цукрів, ідентифіковано 3 – D-глюкозу, D-галактозу і D-фруктозу. Після кислотного гідролізу встановлено наявність та визначено кількісний вміст 17 моноцукрів, ідентифіковано 8: D-рамнозу, L-арабінозу, D-ксилозу, D-манозу, D-глюкозу, D-галактозу, D-манітол і дулцітол. Домінує D-глюкоза, її вміст становить 23,88 мг/г.

Дослідження амінокислот. Визначення вмісту вільних амінокислот проводили на амінокислотному аналізаторі ААА Т-339 М (Чехія). У дослідженому зразку трави парила звичайного виявлено та ідентифіковано 17 амінокислот, 9 з яких є незамінними. У кількісному відношенні домінують аспарагінова кислота, гліцин, аланін, валін та лізин. Кількісний вміст суми амінокислот становить 7,62 мг на 100 мг сировини.

Визначення вмісту окиснюваних фенолів. Для кількісної оцінки суми окиснюваних фенолів трави парила звичайного використовували метод Левенталю-Найбауера у перерахунку на танін. Під час масового цвітіння рослини кількісний вміст окиснюваних фенолів коливався в межах 7,95 % - 8,64 %, залежно від місця зростання.

Дослідження танінів та поліфенолів. Кількісне визначення танінів і поліфенолів у траві парила звичайного проводили спектрофотометричними методами у перерахунку на пірогалол за методикою ДФУ 2.0. Вміст танінів у сировині парила звичайного коливався в межах 1,67 % – 2,10 %, поліфенолів – в межах 4,00 % – 4,15 %, залежно від місця зростання.

Визначення компонентів дубильних речовин у парила звичайного траві проводили методом ВЕРХ на хроматографі *Agilent 1200 3D LC System Technologies* (США) (табл. 1, рис. 2).

Таблиця 1

Якісний склад та кількісний вміст компонентів дубильних речовин і вільних дубильних речовин у парила звичайного траві

Назва речовини	УФ-спектр λ max, нм	Час утримання, хв	Кількісний вміст, %
Кислота галова	280	7,850	0,0008
Галокатехін	280	11,241	0,21
Епігалокатехін	280	13,258	0,97
Катехін	280	16,382	0,38
Епікатехін	280	18,207	1,16
Епікатехіну галат	280	21,077	0,63
Кислота елагова	255	8,102	0,007

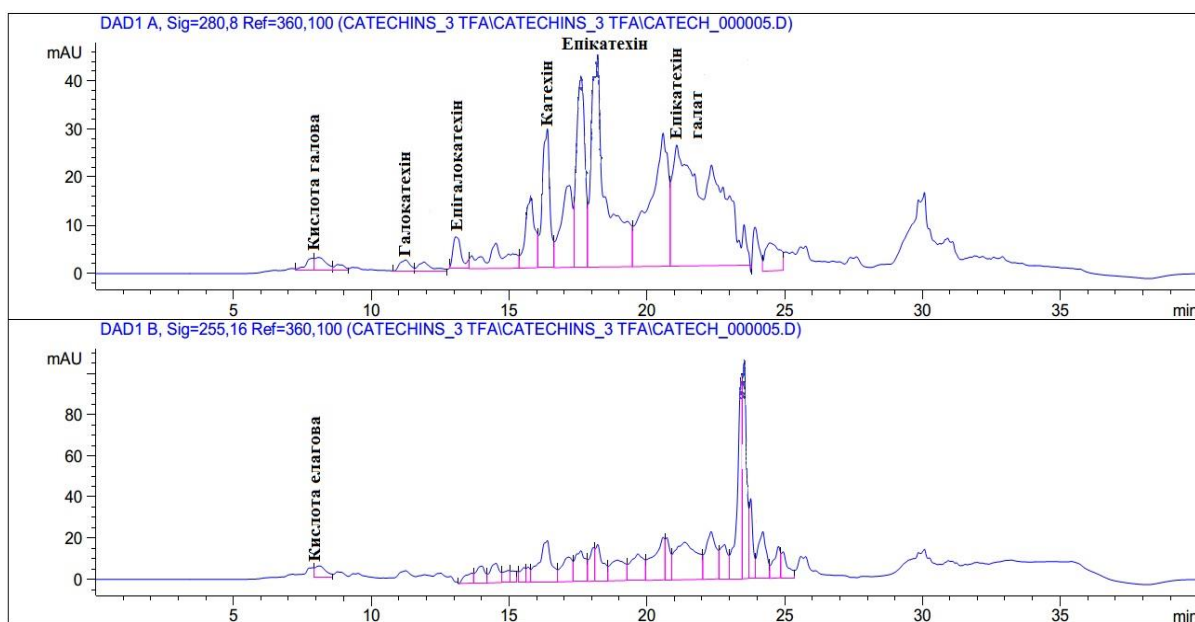


Рис. 2 ВЕРХ-хроматограма компонентів дубильних речовин парила звичайного траві

Дослідження флавоноїдів і гідроксикоричних кислот. Кількісне визначення флавоноїдів проводили за допомогою спектрофотометричного методу після утворення комплексу з алюмінію хлоридом у перерахунку на рутин, гідроксикоричних кислот – у перерахунку на кислоту хлорогенову. Встановлено, що в період масового цвітіння в траві парила звичайного накопичується 4,09 – 4,44 % флавоноїдів і 2,45 % – 2,89 % гідроксикоричних кислот в залежності від місця зростання рослин.

Методом ВЕРХ встановлено якісний склад і визначено вміст індивідуальних сполук фенольної природи у парила звичайного траві: флавоноїдів – ізокверцитрину, неогесперидину, нарингеніну, лютеоліну (рис. 3); гідроксикоричних кислот – гідроксифенілацетатної, кофейної, сірінгової, *n*-кумарової, ферулової, синапової, цинамової; та хінної кислоти (рис. 4).

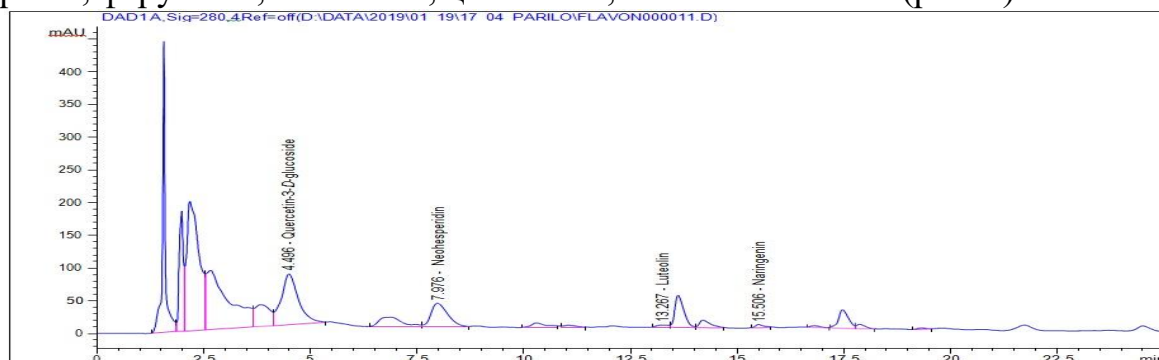


Рис. 3 ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів парила звичайного траві

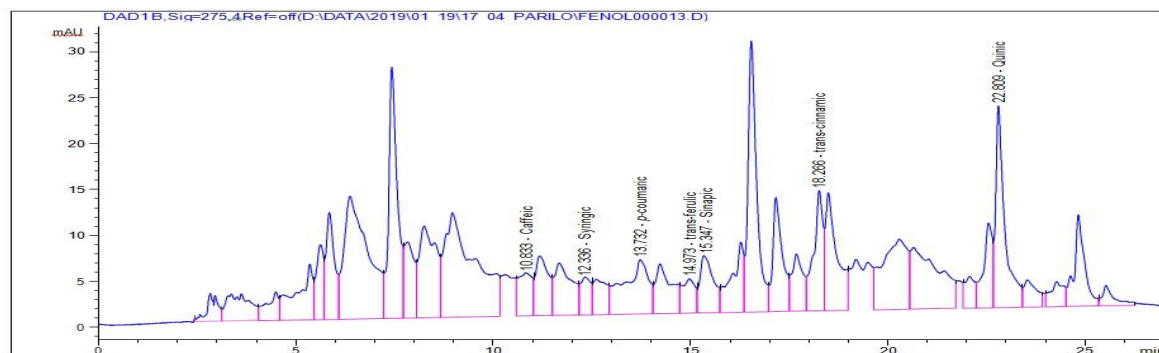


Рис. 4 ВЕРХ-хроматограма кислот гідроксикоричних парила звичайного траві

Дослідження органічних кислот. Методом ВЕРХ у парила звичайного траві виявлено і встановлено кількісний вміст індивідуальних органічних кислот (табл. 2).

Таблиця 2

Якісний склад та кількісний вміст органічних кислот у парила звичайного траві

Сполука	Час утримування, хв	Вміст, мкг/г
Винна кислота	1,953	2352,52
Піровиноградна кислота	2,263	1067,46
Ізолимонна кислота	2,511	16478,30
Лимонна кислота	2,925	1838,71
Бурштинова кислота	3,250	6834,23
Яблучна кислота	4,876	399,11

Найбільшу кількість складають ізолимонна і бурштинова кислоти (6478,30 мкг/г і 6834,23 мкг/г відповідно), найменше виявлено яблучної кислоти (399,11 мкг/г). Кількісне визначення суми органічних та аскорбінової кислот проводили титриметричними методами згідно з фармакопейними методиками.

Накопичення аскорбінової кислоти у траві парила звичайного коливалося в межах від 0,16 % до 0,18 %; органічних кислот – від 1,29 % до 1,34 % у залежності від місця зростання.

Дослідження мінерального складу трави парила звичайного. У парила звичайного траві виявлено і визначено кількісний вміст 12 елементів – 4 макро- і 8 мікроелементів. З макроелементів ідентифіковано К, Са, Mg, Na, з мікроелементів – Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Se, Cr, Si. Спостерігали значний вміст серед макроелементів – К (22921 мг/кг), а серед мікроелементів – Fe (349 мг/кг). Вміст важких металів знаходиться в дозволених межах (ДФУ 2.0 – 2.4.27).

Розділ 4. Одержання екстрактів з парила звичайного трави та дослідження їх фармакологічної активності. Обґрунтовано оптимальні параметри екстракції БАР з парила звичайного трави: екстрагування подрібненої сировини до розміру частинок 0,5 – 3,0 мм водою очищеною *P*, 40 % або 70 % етанолом *P* в колбі зі зворотним холодильником на водяній бані протягом 30 хв у співвідношенні між сировиною та екстрагентом 1:15. Кратність екстракції водою очищеною *P* становить 3 рази, 40 % та 70 % етанолом *P* – 2 рази. Вихід екстрактів становив 18,26 – 22,31 % у залежності від виду екстрагента. Одержані екстракти – це пухкі порошки від світло- до темно-коричневого кольору.

Перспективною субстанцією для розробки лікарської форми з гепатопротекторною активністю є екстракт парила звичайного трави (екстрагент - 40 % етанол *P*), стандартизацію якого проводили за вимогами ДФУ 2.0 (табл. 3).

Таблиця 3

**Показники якості екстракту парила звичайного трави
(екстрагент – 40 % етанол *P*)**

Показник якості	Допустимі межі	Результат		
		Серія 001	Серія 002	Серія 003
1	2	3	4	5
<i>Опис</i>	Пухкий порошок коричневого кольору	Відповідає		
<i>Розчинність</i>	Розчинний у воді, 40 % етанолі, нерозчинний в хлороформі, етилацетаті	Відповідає		
<i>Ідентифікація діючих речовин</i>	3 1 % водним розчином феруму (III) амонію сульфату	Відповідає		
<i>Втрата в масі при висушуванні, %</i>	Не більше 5 %	4,52	4,59	4,45

1	2	3	4	5
Загальна зола, %	Не більше 1 %	0,88	0,87	0,87
Важкі метали	Не більше 0,002 %	Відповідає		
Мікробіологічна чистота	В 1 г препарату не більше 100 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 в 1 г	Відповідає		
Таніни, %	Не менше 16,0 %	16,23	16,79	17,16

На основі проведених досліджень нами запропоновано показники доброякісності сухого екстракту парила звичайного трави, які включено до проекту МКЯ «Парила звичайного трави екстракт сухий».

Комплекс проведених досліджень з вивчення гострої токсичності показав, що сухі екстракти парила звичайного трави відносяться до практично нетоксичних речовин (V клас токсичності) при внутрішньошлунковому введенні ($LD_{50} > 5000$ мг/кг).

В експериментах на щурах досліджено протизапальну активність екстрактів парила звичайного трави (табл. 4).

Таблиця 4

Антиексудативна активність екстрактів трави парила звичайного

№ групи	Екстрагент	Умовне скорочення	Доза	Показник пригнічення запальної реакції, %		
				через 1 год	через 3 год	через 5 год
2	Вода очищена	ПВ	0,1 мг/кг	28,63	53,58	68,17
3			1,0 мг/кг	38,30	60,68	72,96
4			10,0 мг/кг	61,59	78,03	86,48
5			100,0 мг/кг	43,11	71,52	86,96
6	40 % етанол	П ₄	10,0 мг/кг	66,19	83,92	88,17
7	70 % етанол	П ₇	10,0 мг/кг	65,04	76,92	82,93
8	Настойка горіха	НГ	0,05 мл/0,1кг	68,48	74,53	78,96

Встановлено, що найкращу протизапальну активність через 1 год проявив сухий екстракт трави п. звичайного П₄ (екстрагент – 40 % етанол), який зменшував набряк на 66,19 %. Через 3 год набряк продовжував знижуватись у всіх групах. Через 5 годин спостерігалось максимальне пригнічення запалення у тварин, яким вводили екстракт П₄ (88,17 %) та екстракт ПВ у дозі 10,0 мг/кг (86,96 %).

Гепатопротекторну активність екстрактів трави парила звичайного вивчали на скринінговій моделі гострого тетрахлорметанового гепатиту. Проведені дослідження показали, що при розвитку модельного токсичного гепатиту спостерігалось достовірне, відносно інтактних тварин, підвищення

рівня у 4,5 рази загального та у 5,2 рази аскорбатзалежного перекисного окислення ліпідів. Про деструкцію мембран гепатоцитів свідчить достовірне до інтактних тварин підвищення активності ферментів АлАТ і АсАТ у 4,8 та 2,4 рази відповідно (табл. 5).

Таблиця 5

**Результати дослідження гепатопротекторної активності екстрактів
парила звичайного трави**

№ групи	Об'єкт дослідження	АлАТ, ммоль/л	АсАТ, ммоль/л	ЗП, ммоль/год*мл	АЗП, ммоль/год*мл
1	Контроль	5,22±0,07*	4,07±0,07*	257,55±27,86*	789,91±31,48*
2	ПВ	4,70±0,23*/**	5,58±0,11*	138,48±21,17*/**	284,58±44,40*/**
3	П ₄	4,78±0,31*	3,31±0,75*	230,77±13,62*	341,14±8,46*
4	Силібор	4,27±0,25*/**	3,56±0,12*/**	105,16±16,94*/**	374,18±45,48*/**
5	Інтактні тварини	1,08±0,12	1,68±0,19	57,29±3,41	149,80±11,34

Примітки: * - достовірно по відношенню з інтактними тваринами, $p \leq 0,05$; ** - достовірно по відношенню до тварин з моделлю гепатиту, $p \leq 0,05$.

Екстракти парила звичайного ПВ і П₄ дозі 25 мг на 1,0 кг маси тварини та референтний препарат достовірно, відносно моделі гепатиту, знижували рівень загального та аскорбатзалежного перекисного окислення ліпідів. За рівнем інгібування цитолітичних процесів найбільш активними є П₄ та Силібор (зниження рівня АлАТ у 1,1 та 1,2 рази відповідно; АсАТ у 1,2 та 1,1 рази відповідно).

У дослідях *in vitro* методом активної дифузії речовини в агар із застосуванням паперових дисків доведена антимікробна активність екстрактів парила звичайного трави відносно бактерій *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27923.

Розділ 5. Ресурсознавчі дослідження парила звичайного та стандартизація рослинної сировини. Для стандартизації сировини парила звичайного та розробки проекту інструкції із заготівлі та сушіння трави парила звичайного було проведено дослідження морфолого-анатомічної будови парила звичайного.

Методом скануючої електронної мікроскопії встановлено мікроскопічні діагностичні ознаки сировини парила звичайного: гіпостоматична будова листка; продихові комплекси аномоцитного типу, знаходяться тільки на нижній поверхні; по поверхні стебла нерівномірно розміщені два типи трихом, які формують складне опушення стебла (рис. 5).

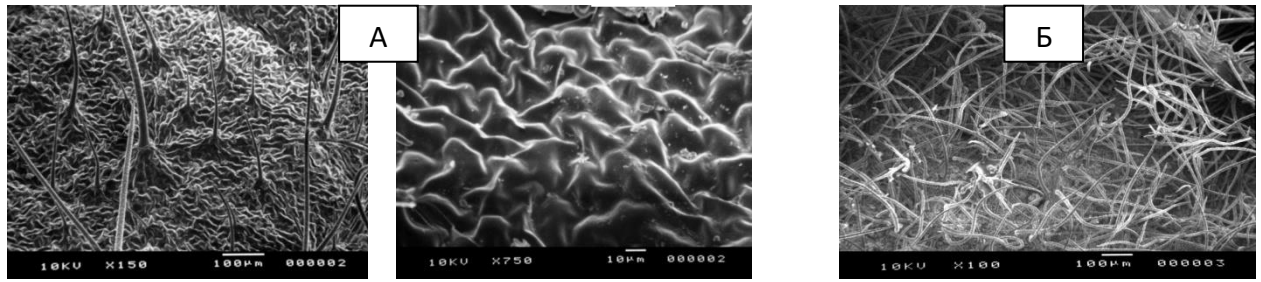


Рис. 5 Загальний вигляд рельєфу адаксіальної (А) та абаксіальної (Б) поверхні листової пластинки *Agrimonia eupatoria* L.

Гістохімічними реакціями ідентифіковано та встановлено локалізацію дубильних речовин (рис. 6), флавоноїдів (рис. 7), гідроксикоричних кислот (рис. 8), слизу та пектинових речовин (рис. 9) у тканинах і клітинах париля звичайного, що є важливим при встановленні тотожності та доброякісності лікарської рослинної сировини.

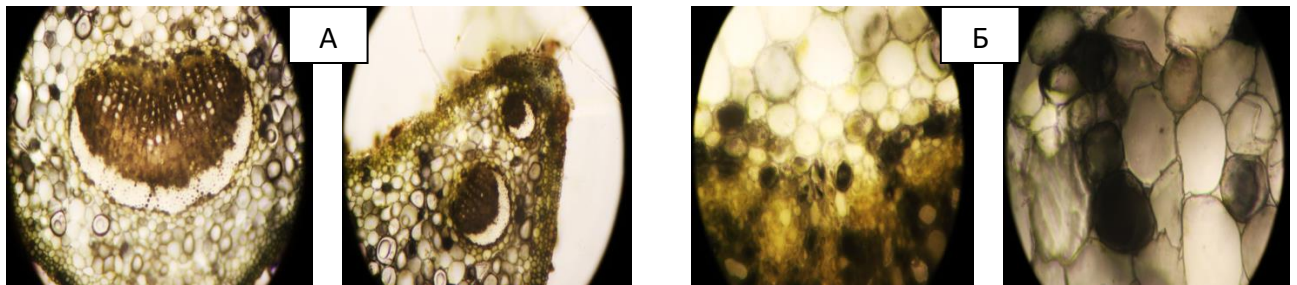


Рис. 6 Мікрохімічна реакція виявлення конденсованих (А) і гідролізованих (Б) дубильних речовин на поперечному перерізі листка париля звичайного

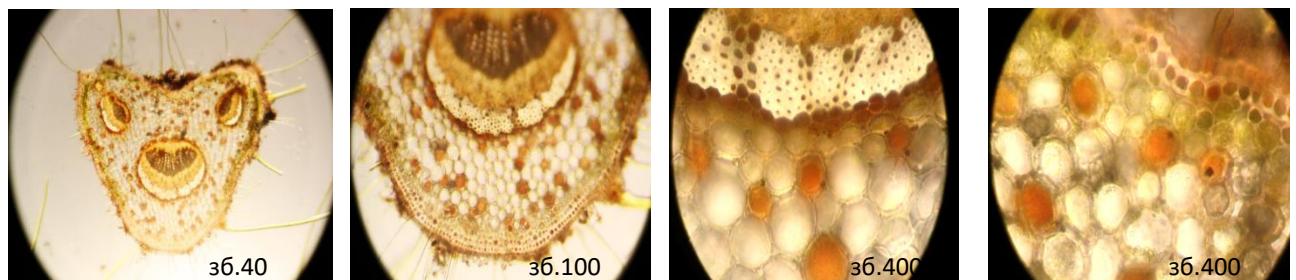


Рис. 7 Локалізація флавоноїдів у листках париля звичайного

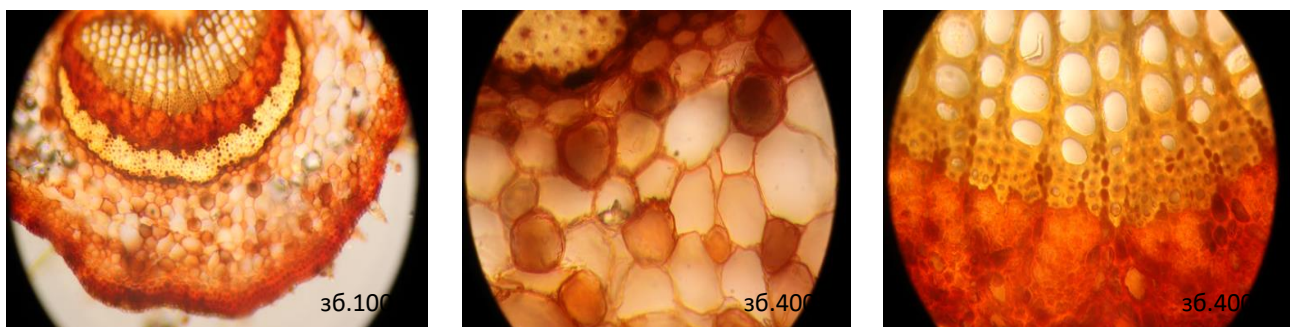


Рис. 8 Локалізація гідроксикоричних кислот у листках париля звичайного

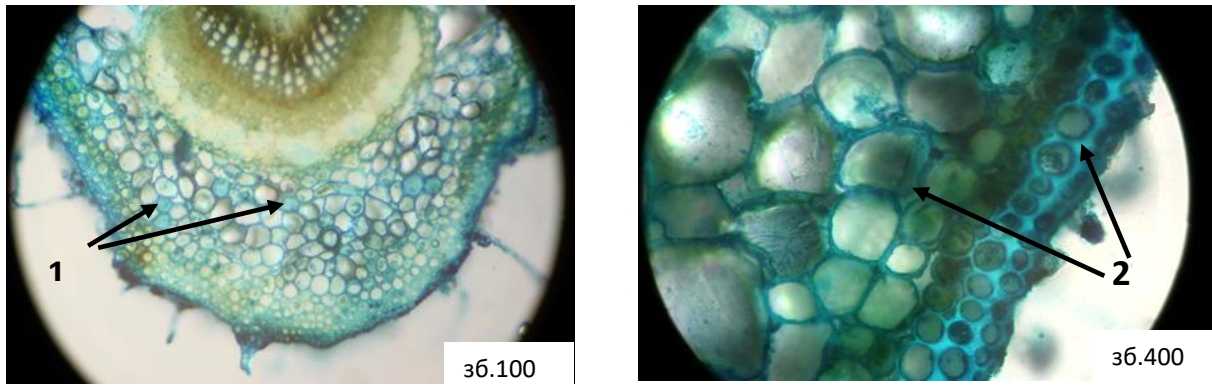


Рис. 9 Локалізація полісахаридів у листках парила звичайного за результатами гістохімічної реакції з спиртовим розчином метиленового синього (1:5000) (1 – клітини зі слизом; 2 – пектинові речовини)

У зв'язку з можливістю використання парила звичайного трави в офіційній фармації і медицині досліджувалось розповсюдження даного виду на території деяких областей України (Івано-Франківської, Тернопільської, Хмельницької, Львівської, Кіровоградської, Вінницької, Черкаської, Київської, Закарпатської областей та в автономній республіці Крим). У процесі роботи використовували методичні матеріали І.Л. Крилової, А.І. Шретера щодо вивчення запасів дикорослих лікарських рослин.

Встановлено, що в різних місцях зростання у Івано-Франківській і Тернопільській областях середня урожайність надземної частини парила звичайного становить $3,58 - 21,00 \text{ г/м}^2$ повітряно-сухої сировини (табл. 6). Обсяг можливих щорічних заготівель трави на встановлених заростях $28,41 - 71,30 \text{ кг}$.

Отже, запаси сировини парила звичайного достатні для промислової заготівлі як можливої лікарської рослинної сировини.

Таблиця 6

Запаси трави парила звичайного на досліджуваних заростях

Місце зростання*	Урожайність, г/м^2	Біологічний запас, кг	Експлуатаційний запас, кг	Обсяг можливої щорічної заготівлі, кг
1	2	3	4	5
1	$21,00 \pm 3,60$	874,20	427,80	71,30
2	$3,96 \pm 0,31$	338,90	247,16	41,19
3	$3,58 \pm 0,37$	237,60	156,20	26,03
4	$10,83 \pm 0,87$	540,50	390,87	65,15
5	$6,40 \pm 0,54$	209,44	148,96	24,83
6	$8,69 \pm 0,62$	317,76	238,40	39,73
7	$10,20 \pm 0,85$	357,00	255,00	42,50
8	$9,46 \pm 0,85$	305,55	204,22	39,20
9	$10,25 \pm 0,95$	342,20	210,55	41,25

1	2	3	4	5
10	8,54±0,65	314,12	237,55	28,41
11	9,78±0,84	321,11	241,22	41,56
12	15,54±9,21	754,23	399,85	68,25

Примітка. * - опис місць зростання (1 - 5–Тернопільська область, 6 - 12–Івано-Франківська область) наведено в дисертаційній роботі.

Для виявлення впливу факторів зовнішнього середовища на накопичення біологічно активних речовин, проведено їх кількісне визначення в сировині, яку заготовляли на околицях смт. Отинія Івано-Франківської області. Встановлено, що найбільше БАР у траві парила звичайного нагромаджується від початку цвітіння до фази молочної стиглості.

Для раціонального використання рослинної сировини парила звичайного та можливості промислової заготівлі, встановлено залежність кількісного вмісту біологічно активних речовин у траві від місця зростання рослини.

Встановлено, що вміст БАР у парила звичайного траві в залежності від місця зростання суттєво не відрізняється.

Проведено товарознавчий аналіз сировини парила звичайного, на основі результатів якого розроблено проєкт «Інструкції із заготівлі та сушіння трав парила звичайного».

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено вирішення наукових завдань, що виявляється у комплексному фармакогностичному вивченні сировини парила звичайного, дослідженні різних груп біологічно активних речовин, одержанні та стандартизації субстанцій на їх основі для створення нових лікарських засобів з протизапальною та гепатопротекторною активністю.

1. Проведено фітохімічне вивчення парила звичайного траві, встановлено наявність полісахаридів, амінокислот, аскорбінової та органічних кислот, дубильних речовин, флавоноїдів, летких сполук сесквітерпенового та іншого походження.

2. Визначено у парила звичайного траві кількісний вміст водорозчинних полісахаридів, пектинових речовин, геміцелюлоз А і Б; аскорбінової та органічних кислот; амінокислот – 2,99 – 3,95 %, 5,05 – 5,99 %, 19,55 – 21,36 % і 3,16 – 4,03 %; 0,16 – 0,18% та 1,27 – 1,34 %; 7,62 мг/100г відповідно. У парила звичайного траві встановлено кількісний вміст сполук фенольної природи: окиснюваних фенолів, суми гідроксикоричних кислот, танінів, поліфенолів і суми флавоноїдів: 7,95 % - 8,64 %, 2,25 % - 2,89 %, 1,67 % - 2,10 %, 4,00 % - 4,15 %, 4,09 % - 4,44 % у перерахунку на суху сировину. Встановлено мономерний вуглеводний склад досліджуваного об'єкту, який включає глюкозу, арабінозу, ксилозу, галактозу та галактуронову кислоту. Методом ВЕРХ ідентифіковано та встановлено кількісний вміст у досліджуваній траві флавоноїдів – ізокеверцитрину (916,73 мкг/г), неогесперидину (3850,93 мкг/г), нарингеніну (308,28 мкг/г), лютеоліну (332,13 мкг/г);

гідроксикоричних кислот – гідроксифенілацетатної (1145,25 мкг/г), кофейної (614,17 мкг/г), сирінгової (215,86 мкг/г), *n*-кумарової (827,54 мкг/г), ферулової (267,72 мкг/г), синапової (381,35 мкг/г), цинамової (251,81 мкг/г), хінної (77,28 мкг/г) та компонентів дубильних речовин – галокатехіну (0,21 %), епігалокатехіну (0,97 %), катехіну (0,38 %), епікатехіну (1,16 %), епікатехіну галату (0,63 %), вільних галової та елагової кислот (0,0008 % і 0,007 % відповідно).

3. Методом хромато-мас-спектроскопії визначено якісний склад та кількісний вміст компонентів летких сполук у квітках, листках, стеблах та плодах парила звичайного. Домінуючими компонентами є сесквітерпен β -каріофілен та його похідне каріофіленоксид, моноциклічний сесквітерпен гумулен та ациклічний сесквітерпен – β -фарнезен. У всіх частинах рослини присутні монотерпен ліналоол; сесквітерпени – неролідол, σ -кадінен, γ -кадінен.

4. Встановлено оптимальні умови одержання екстрактів (ступінь подрібнення сировини, вид екстрагенту, співвідношення між сировиною і екстрагентами, час та кратність екстракції). Вихід екстрактів становив 18,26 – 22,31 % залежно від природи екстрагенту.

5. Експериментально доведено, що екстракти трави парила звичайного нетоксичні і відповідають V класу токсичності речовин. Встановлено, що екстракти проявляють гепатопротекторну, протизапальну та антимікробну активність. Екстракт трави парила звичайного P_4 має виражену гепатопротекторну дію, знижує рівень перекисного окислення ліпідів та стабілізує мембранні структури клітин печінки. Спосіб одержання парила звичайного трави екстракту з гепатопротекторною активністю захищено патентом на винахід №108382.

6. Проведено вивчення морфологічної будови парила звичайного трави. Методом скануючої електронної мікроскопії встановлено мікроскопічні діагностичні ознаки сировини парила звичайного: гіпостоматична будова листка; продихові комплекси аномоцитного типу, знаходяться тільки на нижній поверхні; по поверхні стебла нерівномірно розміщені два типи трихом, які формують складне опушення стебла. За результатами гістохімічних реакцій ідентифіковано та встановлено локалізацію дубильних речовин, слизу, пектинових речовин, гідроксикоричних кислот та флавоноїдів в тканинах і клітинах парила звичайного, що є важливим при встановленні тотожності та доброякісності лікарської рослинної сировини.

7. Встановлено місця зростання парила звичайного в Івано-Франківській, Тернопільській, Вінницькій, Хмельницькій, Кіровоградській, Закарпатській та Львівській областях. Вивчено запаси сировини парила звичайного в Івано-Франківській та Тернопільській областях на конкретних заростях. Встановлено оптимальні параметри заготівлі та сушіння сировини парила звичайного, що було використано при розробці проекту «Інструкції із заготівлі та сушіння трави парила звичайного».

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Грицик А. Р., Цвеюк Н. П., Лейбенко Н. М. Перспективні рослини карпатського регіону з гепатопротекторними та жовчогінними властивостями. *Запоріжський медичний журнал*. 2004. Т. 2, № 1. С. 99–100 (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті).
2. Гузьо Н. М., Грицик А. Р., Угрин О. М. Дослідження гепатопротекторної дії екстрактів трави парила звичайного при гострому ураженні тетрахлоретаном. *Укр. журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2011. Т. 6, № 4. С. 166–168 (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті).
3. Грицик А. Р., Гузьо Н. М., Ерстенюк Г. М. Доказова фармація: вивчення протизапальної активності екстрактів парила звичайного. *Український вісник психоневрології*. 2013. Т. 21, Вип. 2 (75), додаток. С. 94–96 (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті).
4. Гузьо Н. М., Грицик А. Р. Хромато-мас-спектрометричне дослідження летких сполук парила звичайного (*Agrimonia eupatoria* L.). *Фармацевтичний журнал*. 2013. № 6. С. 78–83 (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті).
5. Гузьо Н. М., Ковальська Н. П., Грицик А. Р. Дослідження дубильних речовин парила звичайного. *Медична та клінічна хімія*. 2019. Т. 21, № 3. С. 97–103 (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті).
6. Huzio N. M., Grytsyk A. R Research of the amino acid composition of *Agrimonia eupatoria*. *The Pharma Innovation*. 2015. Vol. 4. N 2. P. 28–29. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті).
7. Determination of flavonoids and hydroxycinnamic acids in the herb of common agrimony by HPLC method / N. Huzio, A. Grytsyk, L. Budniak, I. Bekus. *The Pharma Innovation*. 2020. Vol. 9. N 1. P. 43–46. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті).
8. Huzio N., Grytsyk A., Slobodianiuk L. Determination of carbohydrates in *Agrimonia eupatoria* L. herb *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science* 2020. N 6 (28). P. 35–40 (Видання індексується у наукометричній базі Scopus; особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті).
9. Huzio N., Kovalska N., Slobodianiuk L. Histochemical study of herb of *Agrimonia eupatoria* L. *Czasopismo Aptekarskie* 2021. N 1 (325). P. 43–46. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті).
10. Грицик А. Р., Гузьо Н. М., Угрин О. М. Спосіб одержання екстракту трави парила звичайного з гепатопротекторною активністю: патент № 108382 (на винахід), Україна, заявл. 11.08.2014 р., опубл. 27.08.2015 р., Бюл. N 8. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні патенту).

11. Грицик А. Р., Гузьо Н. М., Угрин О. М. Спосіб одержання екстракту трави парила звичайного з гепатопротекторною активністю: патент № 82949 (на корисну модель), Україна, заявл. 28.01.2013 р., опубл. 27.08.2013 р., Бюл. 16. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні патенту).

12. Джан Т. В., Ковальська Н. П., Гузьо Н. М., Коновалова О. Ю., Клименко С. В. Спосіб визначення локалізації гідроксикоричних кислот у рослинній сировині за допомогою мікрохімічної реакції: патент № 124069 (на корисну модель), Україна, заявл. 29.06.2017 р., опубл. 26.03.2018 р., Бюл. № 6. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні патенту).

13. Лейбенко Н. М. Парило звичайне – перспективна лікарська рослина. *7-й Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих учених, Тернопіль, 21–23 трав. 2003 р.*: матеріали конгр. Тернопіль, 2003. С. 253.

14. Грицик А. Р., Лейбенко Н. М. Одержання екстрактів з трави парила звичайного та вивчення їх хімічного складу. *Фармацевтичне право: організаційно-правові проблеми рецептурного та без рецептурного відпуску лікарських засобів у сучасних умовах*: матеріали наук.-практ. конф., Ліки України, 2004. № 9. С. 152.

15. Лейбенко Н. М., Грицик А. Р. Парило звичайне – перспективне джерело біологічно активних речовин. *Перспективи створення в Україні лікарських препаратів різної спрямованості дії*: матеріали Всеукр. наук.-практ. семін., м. Харків, 26 лист. 2004 р. Х., 2004. С. 219–226.

16. Грицик А. Р., Лейбенко Н. М., Капельюха А. К. Вивчення антимікробної активності екстрактів з трави парила звичайного. *Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України*: матеріали VI Нац. з'їзду фармацевтів України м. Харків, 28-30 вер. 2005р. Х.: Вид-во НФаУ, 2005. С. 695.

17. Грицик А. Р., Лейбенко Н. М. Виділення фракції біологічно активних речовин з трави парила звичайного. *Медична хімія*. 2005. Т. 7. № 4. С. 99.

18. Лейбенко Н. М. Дослідження флавоноїдів та фенолкарбонових кислот в траві парила звичайного. *Наука і освіта–2005*: матеріали VIII Міжнар. наук.-практ. конф. м. Дніпропетровськ, 7-21лют. 2005р. Дніпропетровськ, 2005. С. 320.

19. Гузьо Н. М. Вивчення мікро- та макроеlementарного складу трави парила звичайного. *Інновації в медицині*: Матеріали 82-ої наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених з міжнар. участю, м. Івано-Франківськ, 18–19 квіт. 2013 р. Івано-Франківськ, 2013. С. 215 – 216.

20. Грицик А. Р., Гузьо Н. М., Ковальська Н. П. Дослідження локалізації дубильних речовини у листках парила звичайного. *Хімія природних сполук*: матеріали IV Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 21–22 квіт. 2016 р. Тернопіль: ТДМУ, 2016. С. 15–16.

21. Гузьо Н. М., Грицик А. Р. Вміст органічних кислот у сировині парила звичайного. *Хімія природних сполук*: матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар.участю, м. Тернопіль, 30–31 трав. 2019 р. Тернопіль.: ТДМУ, 2019. С. 24–25.

22. Гузьо Н. М., Грицик А. Р. Елементний склад трави парила звичайного. *PLANTA+ Досягнення та перспективи: матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., присвяченої пам'яті д. хім. н., проф. Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження), м. Київ, 20–21 лют. 2020 р. К.: ПАЛИВОДА А. В., 2020. С. 71–73.*

23. Гузьо Н. М., Грицик А. Р. Вивчення поверхні листка парила звичайного за допомогою скануючої електронної мікроскопії. *Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження: матеріали наук.-практ. дистанційної міжнар. конф., м. Івано-Франківськ, 19–20 трав. 2020 р., Івано-Франківськ: ІФНМУ, 2020. С. 156 – 158.*

АНОТАЦІЯ

Гузьо Н. М. Фармакогностичне дослідження парила звичайного – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Міністерство охорони здоров'я України, Львів, 2021.

Вперше проведено комплексне фармакогностичне дослідження парила звичайного трави (*Agrimonia eupatoria* L.) родини Розові (*Rosaceae*) Встановлено у досліджуваній сировині якісний склад і визначено кількісний вміст основних біологічно активних речовин – амінокислот, полісахаридів, органічних кислот, летких сполук, речовин фенольної природи (окиснюваних фенолів, суми гідроксикоричних кислот, суми флавоноїдів, танінів, поліфенолів), а також вивчено елементний склад рослини.

Вперше проведено морфологічне дослідження та встановлено основні морфологічні ознаки парила звичайного. Методом скануючої електронної мікроскопії встановлено мікроскопічні діагностичні ознаки досліджуваної сировини.

Гістохімічними реакціями ідентифіковано та встановлено локалізацію дубильних речовин, слизу, пектинових речовин, гідроксикоричних кислот та флавоноїдів у тканинах і клітинах парила звичайного трави.

Розроблено оптимальні параметри одержання субстанцій з парила звичайного трави – сухих екстрактів, для яких визначено безпечність і фармакологічну дію (гепатопротекторну і протизапальну) та антимікробну активність.

За дослідженням гострої токсичності досліджувані екстракти віднесено до V класу токсичності сполук (практично нетоксичні речовини, ЛД₅₀>5000 мг/кг).

Розроблено проекти методів контролю якості «Парила звичайного трави екстракт сухий» та «Інструкції із заготівлі та сушіння трави парила звичайного».

Ключові слова: парило звичайне, трава, сухий екстракт, біологічно активні речовини, фармакогностичне і фармакологічне дослідження, морфологічний та анатомічний аналіз.

АННОТАЦИЯ

Гузьо Н. Н. Фармакогностическое исследование репешка обыкновенного - Квалификационный научный труд на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 - фармацевтическая химия и фармакогнозия. – Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Министерство здравоохранения Украины, Львов, 2021.

Впервые проведено комплексное фармакогностическое исследование травы репешка обыкновенного (*Agrimonia eupatoria* L.) семейства Розовые (*Rosaceae*). В исследуемой сырье установлен качественный состав и определено количественное содержание основных биологически активных веществ – аминокислот, полисахаридов, органических кислот, летучих соединений, веществ фенольной природы (окисляемых фенолов, суммы гидроксикоричных кислот, суммы флавоноидов, танинов, полифенолов), а также изучен элементный состав растения.

Впервые проведено морфологическое исследование и установлены основные морфологические признаки репешка обыкновенного. Методом сканирующей электронной микроскопии установлены микроскопические диагностические признаки исследуемого сырья.

Гистохимическими реакциями идентифицировано и установлено локализацию дубильных веществ, слизи, пектиновых веществ, гидроксикоричных кислот и флавоноидов в тканях и клетках репешка обыкновенного травы.

Разработаны оптимальные параметры получения субстанций с репешка обыкновенного травы – сухих экстрактов, для которых определены безопасность и фармакологическое действие (гепатопротекторное, противовоспалительное) и антимикробная активность.

По исследованию острой токсичности исследуемые экстракты отнесены к V классу токсичности (практически нетоксичные вещества, $LD_{50} > 5000$ мг/кг).

Разработаны проекты методов контроля качества «Репешка обыкновенного травы экстракт сухой» и «Инструкции по заготовке и сушке травы репешка обыкновенного».

Ключевые слова: репешок обыкновенный, трава, сухой экстракт, биологически активные вещества, фармакогностическое и фармакологическое исследование, морфологический и анатомический анализ..

ANNOTATION

Huzio N. N. Pharmacognostic study of the common agrimony (*Agrimonia eupatoria* L.) – Qualifying scientific work as a manuscript.

Thesis for the degree of Candidate of Pharmaceutical Sciences in specialty 15.00.02 – Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. – Danylo Halytskyi Lviv National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Lviv, 2021.

The thesis work is devoted to the complex pharmacognostic study of the common agrimony (*Agrimonia eupatoria* L.) plants of the Rosaceae family. The presence of carbohydrates, amino acids, organic acids and phenolic compounds in the herb of the studied species was determined by phytochemical methods, and the elemental composition of the plant was also studied.

The quantitative content of oxidizing phenols, the amount of hydroxycinnamic acids, the amount of flavonoids, the amount of polyphenols and tannins, which was 7.95 – 8.64 %, 2.25 – 2.89 %, 4.09 – 4.44 %, 1.67 – 2.10 % and 4.00 – 4.15 % respectively, in terms of dry raw materials and depending on the place of growth, was determined using the spectrophotometry method in the common agrimony herb.

Determination of the quantitative content of organic acids showed that the maximum accumulation was observed during the period of mass flowering of the herb and ranged from 1.29 % to 1.34 % depending on the place of growth. The accumulation of ascorbic acid in the common agrimony herb ranged from 0.16 % to 0.18 % also during the period of mass flowering of plants.

HPLC was used to identify and quantify the content of hydroxycinnamic acids in the common agrimony herb: hydroxyphenyl acetate (1145.25 µg/g), caffeic (614.17 µg/g), syringic (215.86 µg/g), *p*-coumaric (827.54 µg/g), ferulic (267.72 µg/g), synapic (381.35 µg/g), cinnamic (251.81 µg/g) and quinic (77.28 µg/g) acids; flavonoids: isoquercitrin (916.73 µg/g), neohesperidin (3850.93 µg/g), naringenin (308.28 µg/g), luteolin (332.13 µg/g).

According to the results of HPLC analysis free gallic and ellagic acids were identified in the studied raw materials. Their content in the herb of the plant was 0.007% of gallic acid and 0.008% of ellagic acid. It was determined the quantitative content of gallocatechin – 0.21 %, epigallocatechin – 0.97 %, catechin – 0.38 %, epicatechin – 1.16 %, epicatechingallate – 0.63 %.

The monomeric composition of polysaccharide complexes in the common agrimony herb was determined by the method of gas chromatography with mass spectrometry (GC/MS): 11 free sugars were detected and 3 were identified and quantified: D-glucose – 15.02 mg/g, D-galactose – 0.28 mg/g and D-fructose – 12.90 mg/g. The presence and quantitative content of 17 monosaccharides was established after acidic hydrolysis in the polysaccharide complexes of the common agrimony herb, 8 of which were identified: D-rhamnose, L-arabinose, D-xylose, D-mannose, D-glucose, D-galactose, D-mannitol and dulcitol.

By the HPLC method 17 amino acids were identified in the common agrimony herb, 9 of which are essential. Aspartic acid and glycine (0.93 % each), alanine and valine (0.69 % each), and lysine (0.53 %) were dominant.

The elemental composition of the common agrimony herb was investigated and the quantitative content of 12 elements (4 macro- and 8 microelements) was

determined. A significant content of potassium (22921 mg/kg), calcium (362 mg/kg), iron (349 mg/kg) and silicon (159 mg/kg) was established.

The morphological structure of the common agrimony herb was studied. The microscopic diagnostic features of the studied raw material were established by the method of electron microscopy.

The technology for obtaining the dry extracts from the common agrimony herb was developed. The main biologically active substances were determined in the obtained extracts and their acute toxicity, anti-inflammatory, hepatoprotective and antimicrobial effects were studied.

The project of quality control methods "Common agrimony herb dry extract" was developed.

Key words: common agrimony, herb, dry extract, biologically active substances, pharmacognostic and pharmacological study, morphological and anatomical analysis.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

A. – *Agrimonia* L.;

ААС – атомно-абсорбційна спектрофотометрія;

АлАТ – аланінамінотрансфераза;

АсАТ – аспартатамінотрансфераза;

БАР – біологічно активні речовини;

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;

ВРПС – водорозчинні полісахариди;

ГХ-МС – газова хромато-мас-спектрометрія;

Гц А – геміцелюлоза А;

Гц Б – геміцелюлоза Б;

МКЯ – Методи контролю якості;

НГ – настойка горіха;

ПВ – екстракт трави парила звичайного (екстрагент – вода очищена);

П₄ – екстракт трави парила звичайного (екстрагент – 40 % етанол);

П₇ – екстракт трави парила звичайного (екстрагент – 70 % етанол);

ПР – пектинові речовини;

ПХ – паперова хроматографія;

ТШХ – тонкошарова хроматографія.