

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

ЗАРІЧАНСЬКА ОЛЕНА ВАСИЛІВНА

УДК: 615.322:582.573.76-074

**ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ РОСЛИН РОДУ
ЛІЛІЙНИК (*HEMEROCALLIS L.*)**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Львів – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор
Марчишин Світлана Михайлівна
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»
завідувач кафедри фармакогнозії
з медичною ботанікою.

Офіційні опоненти: доктор хімічних наук, професор
Лубенець Віра Ільківна
Національний університет «Львівська політехніка»
професор кафедри технології біологічно активних сполук,
фармації та біотехнології

доктор фармацевтичних наук, професор
Кисличенко Вікторія Сергіївна
Національний фармацевтичний університет
завідувач кафедри хімії природних сполук

Захист відбудеться «09» грудня 2016 року о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 35.600.02 у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького за адресою: 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69.

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

Автореферат розісланий «03» листопада 2016 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

І. В. Драпак

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Фітотерапевтичний метод лікування і профілактики захворювань визнаний науковою медициною і має цілком обґрунтовану основу – біологічну активність хімічних компонентів лікарської рослинної сировини. Подібно до синтетичних лікарських засобів, препарати рослинного походження реалізують свої фармакологічні ефекти через певні біологічно активні речовини (БАР) у своєму складі, які здатні впливати на фізіологічні процеси в організмі. Однак такий вплив природних сполук більш м'який у порівнянні з ксенобіотичними препаратами синтетичного походження.

Незважаючи на науковий прогрес у галузі органічного синтезу і фармацевтичної хімії, розробка препаратів на основі рослинної сировини залишається актуальною з огляду на їх ефективність і безпечність, а також відсутність труднощів у отриманні.

Фармацевтичній розробці нових фітопрепаратів передують пошук нової лікарської рослинної сировини. Для цього вивчається досвід народної медицини і традиційних медичних систем, проводиться фітохімічний скринінг багатьох рослин з метою пошуку цінних БАР з прогнозованою фармакологічною активністю у складі їх сировини, а також вивчаються рослини за принципом філогенетичного зв'язку з відомими рослинами, що мають доведену фармакологічну активність. Пошук рослин з достатньою сировинною базою, які можуть доповнити номенклатуру офіційних видів, раціональне та комплексне використання сировини, а також створення на їх основі нових лікарських засобів – актуальне завдання сучасної фармації. Нераціональне використання природних ресурсів і виснаження запасів дикорослих лікарських рослин спонукають до пошуку перспективних видів серед культивованої флори.

У зв'язку з цим важливе науково-практичне значення мають представники роду лілійник *Heimerocallis* L., зокрема – лілійник буро-жовтий (*Heimerocallis fulva* L.) та лілійник гібридний (*Heimerocallis hybrida* var. "Stella De Oro"). Інтерес до лілійників обумовлений тим, що до складу їх надземних і підземних органів входить комплекс сполук, якісний склад і кількісний вміст яких свідчить про перспективи використання сировини лілійників у медичній практиці. Окрім того, рід Лілійник має достатню сировинну базу – поширений по всій території України та невибагливий до умов зростання, його види культивуються як декоративно-квіткові.

Відомо, що кореневі бульби, квітки і листки лілійників застосовують в східній традиційній медицині як протизапальний, антисептичний, седативний, антидепресивний, гепатопротекторний, знеболюючий засіб. На практиці потенціал БАР та природний ресурс вказаної сировини використовується недостатньо. Інтерес до корневих бульб, листків та квіток лілійників обумовлений рядом факторів, серед яких: наявність комплексу БАР, якісний склад і кількісний вміст яких дозволяє розглядати ці сировинні джерела пріоритетними для виробництва лікарських засобів рослинного походження, а також спеціальних харчових продуктів, що є актуальним для фармацевтичної науки.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідних програм кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою фармацевтичного факультету ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» «Фармакогностичний аналіз та вивчення фармакологічної дії біологічно активних речовин лікарських рослин в експерименті» (номер Державної реєстрації 0108U001695) та «Фармако-економічне обґрунтування створення, отримання, розробки субстанцій лікарських речовин і лікарських засобів на основі продуктів хімічного синтезу й біологічно активних речовин рослинного походження і їх стандартизація та фармакологічне вивчення» (номер Державної реєстрації 0111U003756).

Мета та завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи було проведення комплексного фармакогностичного дослідження біологічно активних речовин квіток, листків та кореневих бульб представників рослин роду Лілійник (*Hemerocallis* L.) – лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*”, одержання субстанцій на їх основі та вивчення їх фармакологічної активності.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- проаналізувати вітчизняні та закордонні джерела літератури щодо ботанічних ознак, географічного розповсюдження, хімічного складу, біологічних особливостей та фармакологічної дії рослин роду Лілійник;
- провести фітохімічний аналіз квіток, листків і кореневих бульб лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*”, визначити якісний склад і кількісний вміст основних біологічно активних речовин: кислот органічних, в тому числі – кислоти аскорбінової, вуглеводів, амінокислот, фенольних сполук (кислот гідроксикоричних, флавоноїдів, окиснюваних фенолів та дубильних речовин, кумаринів), летких сполук, ліпофільних речовин (каротиноїдів та хлорофілів), макро- і мікроелементів;
- провести морфолого-анатомічне вивчення квіток, листків і підземних органів лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*”;
- розробити технологію одержання біологічно активних субстанцій з квіток і кореневих бульб лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*”;
- дослідити гостру токсичність отриманих субстанцій та вивчити їх фармакологічну активність;
- розробити проекти методик контролю якості (МКЯ) на рослинну сировину лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*” та одержані субстанції.

Об'єкт дослідження – комплексне фармакогностичне дослідження сировини двох видів роду Лілійник (*Hemerocallis* L.) та фармакологічна активність рослинних субстанцій, одержаних з квіток та кореневих бульб даних видів.

Предмет дослідження – якісний та кількісний аналіз БАР квіток, листків і кореневих бульб лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*”; макро- та мікроскопічний аналіз досліджуваної сировини; технологічні аспекти розробки фітосубстанцій з квіток і кореневих бульб лілійника буро-жовтого та

лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*” та вивчення їх гострої токсичності, а також нейротропної та гіпоглікемічної активностей відповідно.

Методи дослідження. При виконанні дисертаційної роботи були використані фармакопейні методи якісного і кількісного визначення БАР. Використовували тонкошарову (ТШХ), газорідинну (ГРХ), високоефективну рідинну хроматографію (ВЕРХ) та хроматографію на папері (ПХ). Дослідження компонентного складу ефірної олії досліджуваної сировини проводили на хроматографі Agilent Technology 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973N. Елементний склад сировини визначали методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії (ААС).

Для анатомічних досліджень використовували мікроскоп МБУ-6 та люмінісцентний мікроскоп. Мікрофотознімки зроблені фотокамерою D-580 ZOOM /C-460 ZOOM/ X-400. Використовували методи математичної статистики (обробка цифрових даних методом варіаційної статистики з використанням параметричного критерію Стьюдента, непараметричного критерію Манна-Уїтні).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше проведено комплексне фармакогностичне дослідження квіток, листків і кореневих бульб цінних лікарських і декоративних рослин роду Лілійник (*Heimerocallis* L.) – лілійника буро-жовтого (*Heimerocallis fulva* L.) та лілійника гібридного (*Heimerocallis hybrida* var. “*Stella De Oro*”). Проведено вивчення якісного складу і кількісного вмісту основних груп біологічно активних речовин сировини досліджуваних видів. Виявлено в них наявність та визначено кількісний вміст вуглеводів (водорозчинних полісахаридів, пектинових речовин, інуліну в кореневих бульбах), каротиноїдів, хлорофілів, флавоноїдів, кумаринів, дубильних речовин, кислот органічних, в тому числі аскорбінової, кислот гідроксикоричних, аміно- і жирних, летких сполук, а також макро- і мікроелементів.

Вперше досліджено морфолого-анатомічну будову квітки, листка, кореневища, кореня і кореневої бульби лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*” та встановлено їх основні макро- і мікродіагностичні ознаки.

Розроблено технологію отримання екстракту густого з квіток і екстракту сухого з кореневих бульб лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*”; досліджено їх фармакологічну активність, доведено седативну і антидепресивну (для лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*” квіток екстракту густого) і гіпоглікемічну (для лілійника буро-жовтого кореневих бульб екстракту сухого) дії.

Практичне значення одержаних результатів. Розроблено технологію одержання сумарних екстракційних субстанцій з вираженими фармакологічними властивостями: седативною, антидепресивною та гіпоглікемічною.

Результати фітохімічних і морфолого-анатомічних досліджень використано при створенні методичних рекомендацій «Морфолого-анатомічний та фітохімічний аналіз рослин роду Лілійник (*Heimerocallis* L.)», м. Київ, 2016 р., які впроваджені в практику лабораторій з контролю якості лікарських засобів територіальних представництв Державної служби України з лікарських засобів та контролю за наркотиками (акт впровадження від 26.10.2016 р.).

Розроблено проекти МКЯ на нову лікарську рослинну сировину «Лілійника буро-жовтого кореневі бульби» та «Лілійника гібридного квітки». Розроблено

технологію одержання густих екстрактів із квіток досліджуваних видів лілійників і сухого екстракту з кореневих бульб лілійника буро-жовтого. На отриману субстанцію розроблено проекти МКЯ «Лілійника гібридного квіток екстракт густий» та встановлено його седативну активність і «Лілійника буро-жовтого кореневих бульб екстракт сухий» та встановлено його гіпоглікемічну активність. Одержано патент України на корисну модель №109917 (zareєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі 12.09.2016).

Результати фармакогностичних досліджень впроваджено у науково-дослідну роботу та навчальний процес кафедр фармакогнозії та хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету, фармакології і ботаніки Запорізького державного медичного університету, кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, кафедр фармацевтичної хімії та фармації Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (акти впровадження від 22.10.2015 р., 23.10.2015 р., 26.10.2015 р., 17.11.2015 р., 05.11.2015 р., 28.10.2015 р., 25.01.2016 р. відповідно).

Особистий внесок здобувача. Разом із науковим керівником здобувачем визначено мету, завдання, методики експериментальних досліджень. Дисертантом самостійно проведено інформаційно-патентний пошук та аналіз даних літератури щодо ботанічної характеристики, хімічного складу, особливостей використання рослин роду Лілійник у народній і науковій медицині.

Автором проведено вивчення якісного складу і кількісного вмісту біологічно активних речовин рослин роду Лілійник, здійснено статистичну обробку, аналіз та узагальнення отриманих результатів; досліджено морфолого-анатомічні особливості будови сировини лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту "*Stella De Oro*" та розроблено проекти МКЯ на нову лікарську рослину сировину. Обґрунтовано технологію отримання сухого екстракту з кореневих бульб і густого екстракту з квіток лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту "*Stella De Oro*", розроблено проекти МКЯ «Лілійника гібридного квіток екстракт густий» та встановлено його седативну активність і «Лілійника буро-жовтого кореневих бульб екстракт сухий» та встановлено його гіпоглікемічну активність.

Дослідження нейротропної активності густих екстрактів квіток лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту "*Stella De Oro*" та дослідження гіпоглікемічної активності сухого екстракту кореневих бульб лілійника буро-жовтого проведено автором на базі науково-дослідної лабораторії доклінічного вивчення фармакологічних речовин Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова під керівництвом професора Н. І. Волощук.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал та основний доробок.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були представлені та обговорені на 5-й науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2012); XVIII міжнародному

медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2014); міжнародній науково-практичній конференції молодих науковців «Проблеми та перспективи досліджень рослинного світу» (Ялта, 2014); 9th international symposium on chromatography of natural products (Lublin (Poland), 2014); всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання експериментальної і клінічної біохімії та фармакології» (Тернопіль, 2014); International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student “Topical issues of new drugs developmen” (Kharkiv, 2015); XIX міжнародному медичному конгресі студентів і молодих вчених, присвяченому пам’яті ректора, члена-кореспондента НАМН України, професора Леоніда Якимовича Ковальчука (Тернопіль, 2015); підсумковій науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (присвяченій пам’яті ректора, члена-кореспондента НАМН України, професора Леоніда Якимовича Ковальчука) (Тернопіль, 2015); 46th International Symposium on Essential Oils (Lublin (Poland), 2015); 4th International conference and workshop “Plant – the source of research material” (Lublin (Poland), 2015), IV всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 2016), VIII Національному з’їзді фармацевтів України (Харків, 2016).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 26 наукових робіт, у тому числі 8 статей у фахових виданнях України, 1 стаття у фаховому закордонному виданні, 1 патент України на корисну модель, 1 методичні рекомендації, 15 тез доповідей.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається із вступу, огляду літератури, чотирьох розділів експериментальних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел літератури (189 найменувань, з яких 120 кирилицею та 69 латиною) та 5 додатків (37 с.). Робота викладена на 234 сторінках, ілюстрована 48 таблицями (52 с.) та 75 рисунками (40 с.).

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Ботанічна характеристика, хімічний склад і фармакотерапевтичні властивості рослин роду Лілійник (*Heimerocallis* L.) (огляд літератури). В огляді літератури наведено ботанічну характеристику, дані про хімічний склад, застосування у медицині та народному господарстві рослин роду Лілійник. Проведений аналіз даних літератури за темою дисертаційної роботи показав, що лілійник буро-жовтий та лілійник гібридний сорту “*Stella De Oro*” широко культивуються на території України як декоративно-квіткові рослини, лілійник буро-жовтий росте також у природних умовах; у країнах Далекого Сходу та Північної Америки, де лілійники поширені в дикорослому вигляді, деякі види використовуються в медицині. Рослини роду Лілійник мають різноманітний хімічний склад, знаходять широке застосування у народній медицині та мають багату сировину базу. Частково вивченою сировиною лілійників є квітки. Хімічний склад листя, кореневих бульб і квіток лілійника буро-жовтого та лілійника гібридний сорту “*Stella De Oro*” вивчено недостатньо, висвітлені в джерелах літератури фармакологічні дослідження є неповними, що створює передумови для їх комплексного фармакогностичного дослідження та поглибленого вивчення біологічно активних ре-

човин з метою подальшого створенням на їх основі нових безпечних та ефективних лікарських рослинних препаратів.

Дослідження якісного складу і кількісного вмісту біологічно активних речовин квіток, листків і кореневих бульб рослин роду *Hemerocallis* L. Об'єктами для досліджень були квітки, листки та кореневі бульби двох видів лілійників – лілійника бур-жовтого (*Hemerocallis fulva* L.) та лілійника гібридного (*Hemerocallis hybrida* var. "Stella De Oro") (далі: ЛБЖК, ЛБЖЛ, ЛБЖБ та ЛГК, ЛГЛ, ЛГБ відповідно). Квітки і листки заготовляли в період масового цвітіння (в кінці червня – на початку липня), а підземні органи – восени, після завершення періоду вегетації (у жовтні). Заготівлю проводили на дослідних ділянках відділу квітничково-декоративних рослин Національного ботанічного саду імені М. М. Гришка НАН України в м. Києві. Сушіння проводили в тепло-конвекційній сушарці при температурі 40 °С. При проведенні попереднього якісного фітохімічного аналізу досліджуваної сировини встановлено наявність полісахаридів (у кореневих бульбах – інуліну), кумаринів, флавоноїдів, дубильних речовин, кислот органічних, зокрема – гідроксикоричних і амінокислот.

Визначення вмісту кислоти аскорбінової у сировині рослин роду Лілійник. Проведено кількісне визначення кислоти аскорбінової у сировині двох видів лілійників титриметричним методом. ЛБЖБ вміщують (0,06±0,05) % кислоти аскорбінової, ЛБЖК – (0,05±0,01) %, ЛБЖЛ – (0,06±0,02) % у перерахунку на суху сировину. ЛГБ містять (0,05±0,02) % кислоти аскорбінової, ЛГК – (0,11±0,01) %, ЛГЛ – (0,06±0,02) % у перерахунку на суху сировину. Найбільшу кількість кислоти аскорбінової серед досліджуваних об'єктів містять квітки лілійника гібридного сорту "Stella De Oro".

Дослідження кислот органічних та жирних у сировині рослин роду Лілійник. Визначення кількісного вмісту суми вільних кислот органічних проводили титриметричним методом у перерахунку на кислоту левулінову. Вміст вільних кислот органічних становив у ЛБЖБ, ЛБЖК і ЛБЖЛ (1,42±0,15) %, (2,66±0,18) % і (0,89±0,08) % відповідно; у ЛГБ, ЛГК і ЛГЛ – (1,67±0,22) %, (3,28±0,14) % та (1,11±0,15) % відповідно. Найбільший кількісний вміст кислот органічних характерний для квіток лілійника гібридного сорту "Stella De Oro" і становить (3,28±0,14) %.

Аналіз якісного складу і кількісного вмісту кислот органічних у досліджуваній сировині проводили методом газової хроматографії з мас-спектрометрією. У досліджуваних об'єктах встановлено наявність кислот насичених та ненасичених жирних і низькомолекулярних органічних, високомолекулярних вищих алканів, фітостеролів, α-токоферолу та заміщених аренів і їх функціональних похідних (толуен, ксилен, етилбензен, бензальдегід). В усіх досліджуваних об'єктах виявлено кислоту левулінову (γ-кетовалеріанову). З кислот дикарбонових ідентифіковано щавлеву у ЛГЛ, ЛБЖЛ, ЛГБ, ЛБЖБ; малонову у ЛГК, ЛГЛ, ЛБЖЛ; фумарову, бурштинову у ЛГК, яблучну у ЛГК, ЛБЖК, ЛБЖЛ; з монокарбонових – бензойну у ЛГК, ЛБЖК; та трикарбонову – лимонну у всіх досліджуваних об'єктах, окрім ЛБЖК. У досліджуваних об'єктах ідентифіковано 3 кислоти жирні ненасичені: пальмітолеїнова, лінолева, ліноленова. Встановлено, що вміст кислот ненасичених жирних (ліноленова, лінолева) у сировині ЛГ та ЛБЖ домінує над насиченими, окрім ЛБЖЛ, де переважають кислоти насичені жирні (пальмітинова, стеаринова та ін.).

Визначення вуглеводів у сировині рослин роду Лілійник. Кількісний вміст водорозчинних полісахаридів (ВРПС) та пектинових речовин (ПР) у досліджуваній сировині визначали гравіметричним методом. Результати визначення кількісного вмісту полісахаридів у сировині рослин роду Лілійник наведено на рисунку 1.

Найбільшим вмістом ВРПС характеризується сировина лілійника гібридного “Stella De Oro” кореневі бульби (22,78 %), ПР – лілійника гібридного “Stella De Oro” листки (7,22 %).

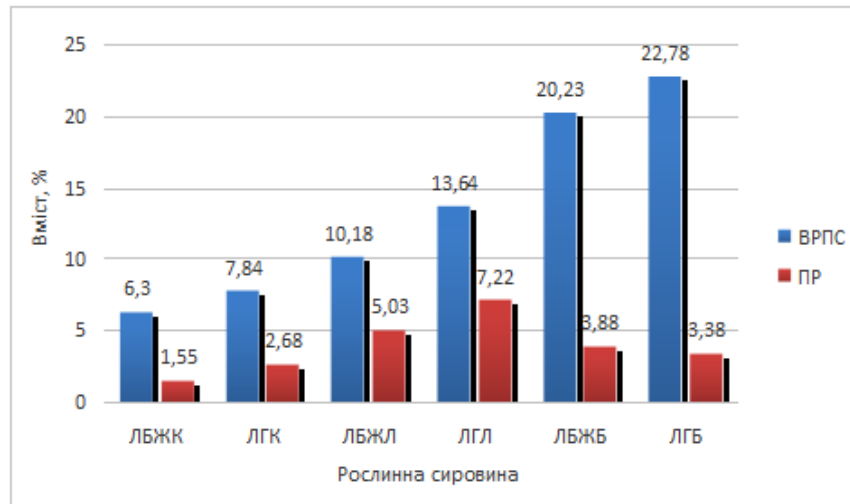


Рис. 1 Діаграма вмісту полісахаридів у сировині лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту “Stella De Oro”

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту моносахаридів, сахарози та інуліну проводили методом газо-рідинної хромато-мас спектрометрії. У складі полісахаридного комплексу досліджуваних видів сировини встановлено наявність та визначено кількісний вміст сахарози та моносахаридів (таблиця 1).

Таблиця 1

Вміст цукрів у сировині рослин роду *Heimerocallis* L. (мг/кг)

Цукри	Вміст у рослинній сировині, мг/кг					
	ЛБЖК	ЛГК	ЛБЖЛ	ЛГЛ	ЛБЖБ	ЛГБ
Сахароза	61,58	38,13	2,09	250,00	110,59	95,27
Глюкоза	24,94	15,53	25,11	4,22	1,60	1,97
Фруктоза	78,29	53,74	6,73	46,01	24,42	19,89
Галактоза	-	1,30	1,97	0,29	-	-
Маноза	-	0,29	0,56	0,17	4,73	0,37
Рамноза	-	0,23	-	-	-	-
Арабіноза	0,09	0,51	0,23	0,09	-	-
Рибоза	-	-	0,41	0,06	-	-
Ксилоза	-	-	0,24	-	-	-
Інозитол	-	-	2,34	0,36	-	-

Олігосахарид, фруктан інулін визначали в кореневих бульбах двох видів лілійників. Кількісний вміст інуліну визначено методом газо-рідинної хромато-мас спектрометрії. Встановлено, що ЛБЖБ містили 24,21 г/кг вільної фруктози, 29,07 г/кг

фруктози, отриманої із сахарози, та 188,81 г/кг інуліну; ЛГБ – 26,38 г/кг, 28,59 г/кг та 108,40 г/кг відповідно.

Дослідження ліпофільної фракції сировини рослин роду Лілійник. Ліпофільні фракції досліджуваних видів сировини лілійника буро-жовтого і лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*” одержували вичерпним екстрагуванням сировини хлороформом в апараті Сокслета. Результати визначення виходу ліпофільної фракції відображено на рисунку 2. Ліпофільні фракції, одержані із сировини, були використані для встановлення кількісного вмісту каротиноїдів і хлорофілів спектрофотометричним методом. Найбільший вміст каротиноїдів виявлено у ЛГК ($11,65 \pm 0,05$ %), хлорофілів – у ЛБЖЛ ($16,69 \pm 0,10$ %).

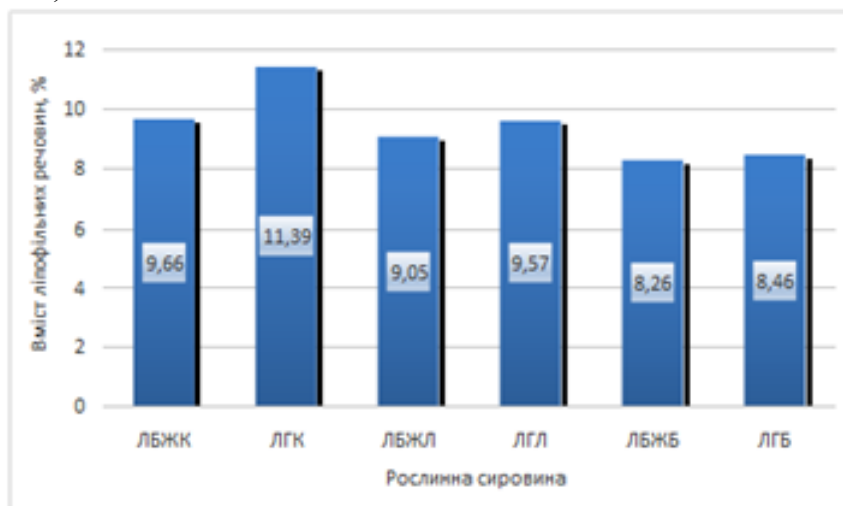


Рис. 2 Діаграма виходу ліпофільної фракції сировини рослин роду Лілійник

Дослідження летких сполук сировини рослин роду Лілійник. Леткі сполуки з ЛБЖБ, ЛБЖК, ЛБЖЛ, ЛГБ, ЛГК і ЛГЛ одержували з повітряно-сухої та свіжої сировини методом перегонки з водяною парою на апараті Клевенджерера. Результати визначення кількісного їх вмісту у досліджуваній сировині наведено у таблиці 2.

Таблиця 2

Вміст ефірної олії у сировині рослин роду Лілійник, %

Вид сировини	Вміст летких сполук у сировині, %					
	Квітки		Листки		Кореневі бульби	
	<i>H. fulva</i>	<i>H. hybrida</i>	<i>H. fulva</i>	<i>H. hybrida</i>	<i>H. fulva</i>	<i>H. hybrida</i>
Свіжа сировина	0,55	0,52	0,12	0,16	0,61	0,54
Повітряно-суха сировина	0,24	0,29	0,08	0,09	0,49	0,46

Вміст летких сполук був найбільший у свіжій сировині корневих бульбах лілійника буро-жовтого і становив 0,61 %. Із повітряно-сухої сировини найбільший вміст летких сполук отримано також із ЛБЖБ – 0,49 %.

Компонентний склад летких сполук досліджували методом ГХ/МС на хромато-мас-спектрометричній системі *Agilent 6890N/5973 inert (Agilent Technologies, USA)*. У ле-

тких сполуках ЛБЖК ідентифіковано 36 компонентів, у ЛГК – 18, у ЛБЖЛ – 43, у ЛГЛ – 61, у ЛБЖБ – 32, у ЛГБ – 33. Отримані дані свідчили про переважаючий вміст вуглеводнів у складі летких сполук досліджуваних видів лілійників. Спільними компонентами летких сполук для усіх досліджуваних зразків сировини є ейкозан і трикозан. У суміші летких сполук ЛБЖК ідентифіковано терпеноїди бергамотол та каріофілен, у ЛГК – нітрогенвмісну сполуку гідропіридин. Листки досліджуваних видів лілійників містили одонасичений дитерпен фітол.

Дослідження фенольних сполук сировини рослин роду Лілійник. Встановлено якісний склад і кількісний вміст кислот гідроксикоричних, флавоноїдів, похідних фенолів, кумаринів, окиснюваних фенолів та дубильних речовин у досліджуваній сировині. Визначення кількісного вмісту суми зазначених речовин проводили спектрофотометричним методом, вміст окиснюваних фенолів визначали перманганатометричним методом, дубильних речовин – комплексонометричним методом. Якісний склад і кількісний вміст індивідуальних фенольних сполук визначали методом ВЕРХ.

Дані з визначення вмісту суми кислот гідроксикоричних у ЛБЖБ, ЛБЖК, ЛБЖЛ, ЛГБ, ЛГК і ЛГЛ у перерахунку на кислоту хлорогенову спектрофотометричним методом наведено на рисунку 3.

Методом ВЕРХ в усіх досліджуваних об'єктах встановлено наявність кислоти хлорогенової, найбільша її кількість спостерігалась у ЛБЖК, (0,64 %). У ЛБЖЛ встановлено наявність та визначено кількісний вміст кислот розмаринової (0,005 %), ферулової (0,003 %) і *n*-кумарової (0,002 %); у ЛГЛ – кофейної (0,003 %) та *n*-кумарової (0,004 %). Кислоти кофейна (0,008 %) та *n*-кумарова (0,102 %) також містяться у ЛГК.

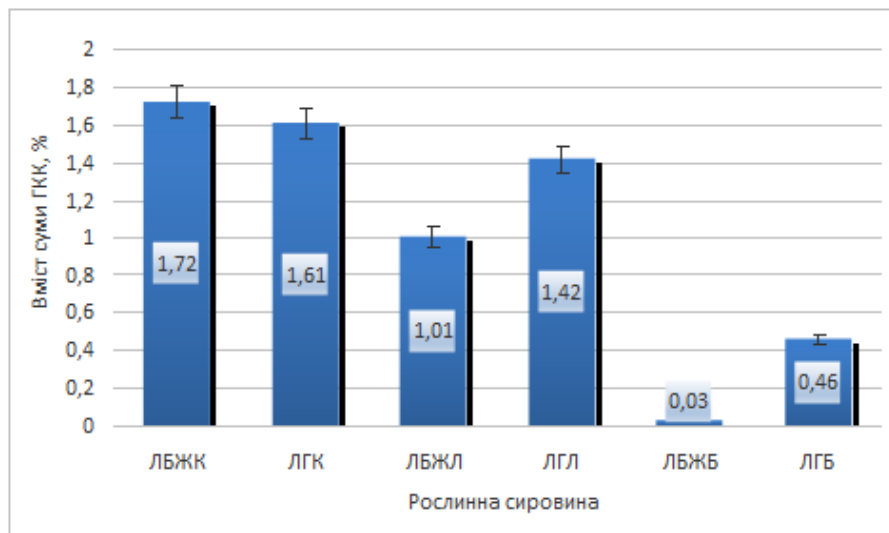


Рис. 3 Діаграма вмісту кислот гідроксикоричних у сировині рослин роду Лілійник

Спектрофотометричним методом у досліджуваній сировині визначено загальний кількісний вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин. Найбільшу кількість флавоноїдів виявлено у ЛГК і ЛБЖК – $(1,97 \pm 0,003) \%$ і $(1,92 \pm 0,004) \%$ відповідно.

Методом ВЕРХ у надземних органах лілійників ідентифіковано на встановлено кількісний вміст гіперозиду, рутину, ізокверцитрину, лютеоліну та апігеніну. У ЛГЛ

не виявлено лютеоліну. Рутин домінує в усіх досліджуваних зразках листків і квіток. Квітки обох видів лілійника містять значну кількість рутину (0,26 % і 0,16 %) (табл. 3).

Визначення кількісного вмісту суми фенольних сполук у досліджуваних об'єктах проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на кислоту елагову. Встановлено, що ЛБЖК містять (4,46±0,006) %, ЛГК – (3,95±0,005) %, ЛБЖЛ – (1,29±0,008) %, ЛГЛ – (1,68±0,02) %, ЛБЖБ – (1,46±0,006) %, ЛГБ – (1,24±0,002) % фенольних сполук. Найбільший вміст окиснюваних фенолів міститься у ЛБЖК (6,48 %), найменший – у ЛБЖБ (0,76 %). Вміст дубильних речовин, визначених комплексонометричним методом, був також найвищий у ЛБЖК (0,72 %).

Таблиця 3

**Якісний склад та кількісний вміст флавоноїдів у сировині рослин
роду Лілійник (ВЕРХ)**

Назва сполуки	Вміст флавоноїдів у рослинній сировині, %			
	Листки		Квітки	
	<i>H. fulva</i>	<i>H. hybrida</i>	<i>H. fulva</i>	<i>H. hybrida</i>
Гіперозид	0,02	0,008	0,01	0,007
Рутин	0,20	0,08	0,26	0,16
Ізокверцитрин	0,13	0,06	0,02	0,06
Лютеолін	0,02	–	0,04	0,01
Апігенін	0,01	0,01	0,01	0,02

Результати ВЕРХ аналізу компонентів дубильних речовин показали, що в усіх досліджуваних зразках ідентифіковано кислоту елагову та епікатехін-галат, у листках і коренебульбах домінувала кислота елагова, у квітках – епігалокатехін, який не виявлено у ЛБЖЛ і ЛГБ та ЛБЖБ. Надземні органи лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного містили катехін та галокатехін (табл. 4).

Таблиця 4

Якісний склад та кількісний вміст компонентів дубильних речовин у сировині рослин роду Лілійник (ВЕРХ)

Назва сполуки	Кількісний вміст в перерахунку на суху сировину, %					
	Квітки		Листки		Кореневі бульби	
	<i>H. fulva</i>	<i>H. hybrida</i>	<i>H. fulva</i>	<i>H. hybrida</i>	<i>H. fulva</i>	<i>H. hybrida</i>
Кислота галова	0,06	0,08	0,03	0,08	-	0,004
Епігалокатехін	1,28	1,18	-	0,19	-	-
Галокатехін	0,23	1,51	0,18	0,09	-	-
Катехін	0,05	0,23	0,05	0,04	-	-
Епікатехін	0,05	0,06	0,04	0,08	-	0,19
Епікатехін-галат	0,15	0,28	0,05	0,07	0,72	0,24
Кислота елагова	0,62	0,29	0,21	0,48	0,37	0,47

Методом ВЕРХ у сировині досліджуваних видів лілійників проведено визначення якісного складу та кількісного вмісту простих кумаринів: кумарину та умбеліферону (7-гідроксикумарину). У ЛБЖБ та ЛГБ кумарини не виявлено. У квітках і листках досліджуваних видів лілійників домінував умбеліферон, зокрема, у квітках двох видів лілійників його кількість становила 0,02 %. ЛБЖЛ містять 0,005 % кумарину і 0,02 % умбеліферону, ЛБЖК – 0,004 % і 0,02 % відповідно. ЛГЛ не містили кумарину; вміст умбеліферону в даному виді сировини становив 0,02 %. У ЛГК виявлено кумарин (0,01 %) та умбеліферон (0,02 %).

Визначення амінокислот у сировині рослин роду Лілійник. Методом ВЕРХ на приладі *Agilent 1200* (США) встановлено загальний вміст амінокислот у досліджуваній сировині та вміст вільних амінокислот; визначено їх кількісний вміст. У ЛБЖБ ідентифіковано 8 вільних незамінних амінокислот та 7 вільних замісних; у ЛГБ – 9 і 7 відповідно. У обох зразках квіток виявлено 9 вільних незамінних та 8 вільних замісних амінокислот. У ЛБЖЛ ідентифіковано 9 вільних незамінних амінокислот та 8 вільних замісних; у ЛГЛ – 8 і 7 відповідно.

Досліджувані об'єкти в значній кількості вміщували замісні амінокислоти: кислоту глютамінову та аспарагінову, аланін; незамінні – аргінін, лейцин і лізин. Найвищим загальним вмістом амінокислот і вмістом вільних амінокислот характеризується сировина ЛБЖЛ (11576 мг/100 г і 2120 мг/100 г відповідно), найнижчим – ЛГБ (3171 мг/100 г і 468 мг/100 г відповідно).

Визначення елементного складу сировини рослин роду Лілійник. З використанням методу атомно-абсорбційної спектроскопії з атомізацією в повітряно-ацетиленовому полум'ї встановлено наявність та визначено кількісний у досліджуваних зразках двох видів лілійників вміст макро- і мікроелементів: по 12 елементів (Калій, Фосфор, Кальцій, Магній, Натрій, Купрум, Ферум, Цинк, Манган, Селен, незначний вміст Нікелю та Кадмію) у кореневих бульбах та по 11 (за виключенням Нікелю) у квітках та листках обох досліджуваних видів лілійників. Домінуючим у всіх зразках сировини був Калій (найбільша кількість – у ЛГЛ (15597 мг/кг)), причому кількість його суттєво перевищувала кількість Натрію в усіх видах сировини, що досліджувались.

Морфолого-анатомічний аналіз сировини лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*”. Основні морфологічні ознаки лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*” представлено на рисунках 4 та 5 відповідно.

Характерними діагностичними ознаками квітки ЛБЖ є: симетрична зигоморфна (неправильна) форма, діаметр 8-12 см, вільнопелюстковий віночок з 6 пелюстками із злегка хвилястими краями оранжево-жовтогарячого кольору з густою буруватою сіткою жилок, по центральній частині пелюстки поздовжньо проходить світла жовто-біла лінія. Квітка ЛГ відрізняється асиметричною формою, меншим діаметром (6-7 см), забарвленням пелюсток (золотаво-жовтогаряче).

При мікроскопічному дослідженні квіток обох видів лілійників встановлено їх подібну анатомічну будову: на верхівці пелюстки спостерігалися бахромчасті, дещо видовжені волоски; клітини зовнішньої та внутрішньої епідерми мають сосочкоподібні волоски; клітини внутрішньої (верхньої) епідерми паренхімні, багатокутні, прямостінні або з ледь помітною звивистістю, з тонкими, рівномірно

потовщеними оболонками; зустрічаються клітини-ідіобласти з рафідами; продиховий апарат аномоцитного типу. В епідермі пелюстки лілійника буро-жовтого наявні членисті, нерозгалужені молочники із цегляно-бурим вмістом (рис. 6).

Листки ЛБЖ і ЛГ розеткові (безчерешкові сидячі, з піхвою), у ЛБЖ до 100 см довжиною і до 3,5 см шириною, у ЛГ – до 35 см, до 1,5 см відповідно, неопушені, цілісні прості, у ЛГ – жорсткі, лінійні, у ЛБЖ зеленого кольору, у ЛГ – темно зеленого кольору. Верхівка гостра, край суцільний (листок цілокрай); жилкування паралельне.

За основними мікро-діагностичними ознаками листки досліджуваних видів суттєво не відрізнялися: продиховий апарат тетрацитного типу, велика кількість ідіобластів з рафідами, виражені сосочкоподібні вирости по краю листка. Для листка ЛБЖ характерна наявність вздовж жилок і між жилками клітин з бурим секретом (рис. 7).

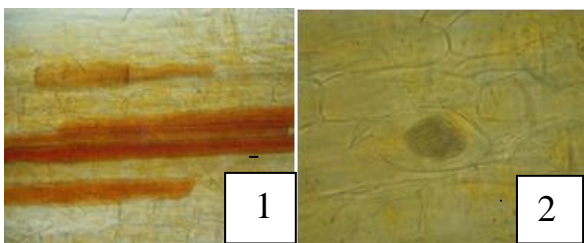
Кореневі бульби досліджуваних видів лілійників мали подібну будову. Коренева бульба ЛБЖ крупніша (довжиною до 3,5 і діаметром до 2,5 см,) у ЛГ – дещо менша (довжиною до 2,5 і діаметром до 1 см). Мікродіагностичні ознаки корневих бульб досліджуваних видів лілійників представлені на рис. 8.



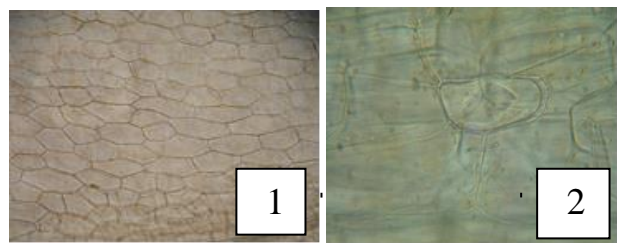
Рис. 4 Лілійник буро-жовтий
(*Hemerocallis fulva* L.)



Рис. 5 Лілійник гібридний
(*Hemerocallis hybrida* var.
"Stella De Oro")



A



B

Рис. 6 Фрагмент внутрішньої (верхньої) епідерми пелюстки квітки (з поверхні): A – лілійника буро-жовтого (1 – молочники з цегляно-бурим вмістом, 2 – клітина-ідіобласт з рафідами), B – лілійника гібридного сорту "Stella De Oro" (1 – паренхімні клітини на периферії пелюстки, 2 – клітина-ідіобласт з рафідами).

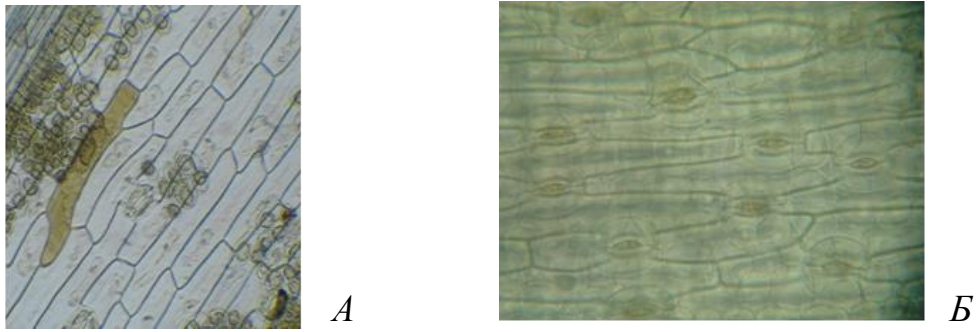


Рис. 7 Фрагмент нижньої епідерми листка (загальний вигляд з поверхні): А – лілійника буро-жовтого, Б – лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*”.



Рис. 8 Фрагмент поперечного зрізу кореневої бульби: А – лілійника буро-жовтого, Б – лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*”.

Отримання біологічно активних субстанцій з квіток і кореневих бульб лілійника буро-жовтого і лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*” та вивчення їх фармакологічної активності. З метою одержання сумарних рослинних екстрактів з квіток та кореневих бульб двох видів лілійників з максимальним вмістом біологічно активних речовин визначено оптимальні умови екстрагування рослинної сировини.

Для отримання густих екстрактів з квіток лілійників з максимальним вмістом кислот карбонових, в тому числі аскорбінової, аміно-, гідроксикоричних, флавоноїдів, полісахаридів доцільним є використання 55 % спирту етилового як екстрагенту та гарячої води очищеної (двохступінчаста екстракція). Настоювання зі спиртом етиловим здійснювали при кімнатній температурі, з водою – на водній бані; витяги об’єднували, згущували та упарювали у роторному вакуумному випарнику при температурі 60-70 °С до отримання густого екстракту. Вихід ЛБЖК густого екстракту склав 49,28 %, ЛГК – 41,68 %.

Для отримання сумарної екстракційної субстанції з кореневих бульб двох видів лілійників, що планується до застосування як перспективний гіпоглікемічний засіб, було вивчено вплив природи екстрагента на повноту вилучення БАР, а саме інуліну, із досліджуваної рослинної сировини. Встановлено, що максимальний вміст інуліну, суми полісахаридів і фенольних сполук у перерахунку на кислоту елагову спостерігався у сухому екстракті з кореневих бульб лілійника буро-жовтого,

одержаного екстракцією гарячою водою очищеною на водяній бані зі зворотним холодильником при повільному кип'ятінні протягом 2 год з екстрагуванням шроту водою очищеною після попередньої обробки сировини 96 % спиртом етиловим для набування. Вихід сухого екстракту склав 41,06 %.

При вивченні гострої токсичності одержаних екстрактів їх віднесено до V класу токсичності сполук за класифікацією *Hodge* та *Sternier* (практично нетоксичні речовини – $LD_{50} > 5000$ мг/кг).

Густий екстракт квіток ЛБЖ у дозі 100 мг/кг виявив виразну збуджувальну (стимулюючу) дію у тесті «відкритого поля»; густий екстракт ЛГ у дозі 250 мг/кг – виразну седативну дію. За умов іммобілізаційного тесту поведінкового відчаю встановлено виразні антидепресивні властивості густого екстракту квіток ЛГ у дозі 250 мг/кг. У дослідженні антиконвульсивної активності на моделі «коразолових» судом екстракт квіток ЛГ у дозі 100 мг/кг виявив достовірне зниження летальності на 33% відносно контролю (вальпроат натрію – на 67%), та достовірну редукцію тонічного компоненту пароксизмів та тенденційне подовження латентного періоду судом.

Гіпоглікемічну активність сухого екстракту ЛБЖБ досліджували на лінійних білих щурах популяції *Wistar* на моделі хронічної гіперглікемії, викликаній тривалим введенням високої дози дексаметазону. Встановлено ефективну дозу – 150 мг/кг сухого екстракту, яку використовувати для подальших досліджень. Показано, що введення сухого екстракту ЛБЖБ достовірно сприяло зменшенню середньої втрати маси тіла тварин відносно групи контрольної патології; достовірному підвищенню толерантності до глюкози (на 24,1 % зменшувалося зростання глікемії на 14-ту добу експерименту у щурів, що додатково отримували досліджувану субстанцію, у порівнянні з контролем – щурами, яким вводили виключно розчин дексаметазону). Застосування сухого екстракту ЛБЖБ на фоні введення дексаметазону сприяло збереженню нормальних показників глікемії щурів протягом проведення експерименту.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та вирішення наукових завдань, що виявляється у комплексному фармакогностичному дослідженні квіток, листків та кореневих бульб рослин роду Лілійник (*Heimerocallis* L.): лілійника буро-жовтого (*Heimerocallis fulva* L.) та лілійника гібридного (*Heimerocallis hybrida* var. “*Stella De Oro*”).

1. Фітохімічними та хроматографічними методами дослідження встановлено наявність у квітках, листках та кореневих бульбах лілійника буро-жовтого і лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*” дубильних речовин, флавоноїдів, кислот гідроксикоричних, полісахаридів, кислот органічних, амінокислот, які забезпечують їх фармакологічну активність.

2. Титриметричним методом визначено кількісний вміст вільних кислот органічних та аскорбінової у лілійника буро-жовтого і лілійника гібридного квітках, листках і кореневих бульбах: 2,66 % і 0,05 %; 3,28 % і 0,11 %; 0,89 % і 0,06 %; 1,10 % і 0,06 %;

1,42 % і 0,06 %; 0,67 % і 0,05 % відповідно. Методом ГХ/МС у сировині досліджено якісний склад і кількісний вміст кислот органічних, в тому числі – жирних. В усіх досліджуваних зразках з кислот органічних домінувала левулінова (γ -кетовалеріанова). З кислот жирних у досліджуваних зразках вміст кислот ненасичених переважав над насичених, окрім лілійника буро-жовтого листків, де домінували кислоти насичені жирні. Найбільшим кількісним вмістом серед кислот ненасичених жирних характеризується лінолева та ліноленова. У листках обох видів лілійників ідентифіковано стерини.

3. Досліджено полісахаридні комплекси лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*” квіток, листків і кореневих бульб, виділено фракції водорозчинних полісахаридів і пектинових речовин, кількісний вміст яких становив: водорозчинні полісахариди у лілійника буро-жовтого – квітки – 6,30 %, листки – 10,18 %, кореневі бульби – 20,23 %; у лілійника гібридного – квітки – 7,84 %, листки – 13,64 %, кореневі бульби – 22,78 %; пектинові речовини у лілійника буро-жовтого – квітки – 1,55 %, листки – 5,03 %, кореневі бульби – 3,88 %; у лілійника гібридного – квітки – 2,68 %, листки – 7,22 %, кореневі бульби – 3,38 % відповідно. Методом ГХ/МС визначено якісний склад і кількісний вміст моносахаридів та сахарози; в кореневих бульбах досліджуваних видів лілійників встановлено наявність і визначено кількісний вміст інуліну, найбільший вміст якого серед досліджуваних зразків спостерігався у лілійника буро-жовтого кореневих бульбах – 188,81 г/кг. Встановлено амінокислотний склад сировини лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*”. У лілійника буро-жовтого квітках і лілійника гібридного бульбах визначено по 17 амінокислот у зв’язаному стані і по 16 у вільному; у лілійника гібридного квітках і лілійника буро-жовтого листках – по 17 амінокислот у зв’язаному і вільному стані; у лілійника гібридного листках і лілійника буро-жовтого бульбах – по 17 і 15 амінокислот відповідно. Домінуючими були кислоти глутамінова та аспарагінова.

4. У лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*” квітках, листках і кореневих бульбах визначено кількісний вміст сполук фенольної природи: суми фенольних сполук, суми кислот гідроксикоричних, суми флавоноїдів, окиснюваних фенолів та дубильних речовин. Найбільший вміст суми фенольних сполук, суми кислот гідроксикоричних, дубильних речовин та окиснюваних фенолів виявлено у лілійника буро-жовтого квітках (4,46 %, 1,72 %, 0,72 % та 6,50 % відповідно), флавоноїдів – у лілійника гібридного квітках – 1,97 %.

Методом ВЕРХ визначено якісний склад і кількісний вміст індивідуальних фенольних сполук: компонентів дубильних речовин (кислоти галової, епігалокатехіну, галокатехіну, катехіну, епікатехіну, епікатехін-галату, кислоти елагової), кислот гідроксикоричних (хлорогенової, розмаринової, кофейної, ферулової, *n*-кумарової), флавоноїдів (гіперозиду, рутину, ізокверцитрину, лютеоліну, апігеніну). У лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*” кореневих бульбах методом ВЕРХ не виявлено флавоноїдів. У найбільшій кількості у сировині містяться кислота елагова, рутин, кислота хлорогенова.

5. Методом перегонки з водяною парою визначено кількісний вміст летких сполук у повітряно-сухій та свіжій сировині двох видів лілійників; найбільшим вмістом летких сполук характеризуються кореневі бульби лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного (0,61 % у свіжій сировині та 0,49 % – в повітряно-сухій, 0,54 % та 0,46 %

відповідно). Методом хромато-мас-спектрометрії визначено якісний склад та кількісний вміст компонентів летких сполук квіток, листків та коренебульб лілійника бурожовтого та лілійника гібридного, у квітках лілійника бурожовтого ідентифіковано 36 компонентів, у квітках лілійника гібридного – 18, у листках лілійника бурожовтого – 43, у листках лілійника гібридного – 61, у кореневих бульбах лілійника бурожовтого і лілійника гібридного 32 і 33 відповідно.

6. Одержано ліпофільні фракції із досліджуваної сировини двох видів лілійників, встановлено їх кількісний вміст: з квіток лілійника бурожовтого і лілійника гібридного 9,65 % і 11,39 %; з листків 9,05 % і 9,57 %; з кореневих бульб – 8,26 % і 8,46 % відповідно. Визначено в них кількісний вміст хлорофілів, каротиноїдів.

Досліджено елементний склад видів рослин роду Лілійник методом атомно-абсорбційної спектроскопії. В усіх досліджуваних зразках встановлено значний вміст Калію, з мікроелементів – Цинку, Феруму та Селену.

7. Досліджено морфолого-анатомічні особливості будови квітки, листя, кореневища, кореневої бульби і кореня лілійника бурожовтого та лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*”, визначено основні діагностичні ознаки морфологічної та анатомічної будови, що можуть бути використані для ідентифікації та стандартизації даних видів рослинної сировини. Розроблено проекти МКЯ «Лілійника бурожовтого кореневі бульби» та «Лілійника гібридного квітки».

8. Розроблено технологію одержання густого екстракту з квіток, сухого екстракту з кореневих бульб лілійника бурожовтого та лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*» та проекти МКЯ «Лілійника бурожовтого кореневих бульб екстракт сухий» і «Лілійника гібридного квіток екстракт густий». У отриманих екстрактах визначено кількісний вміст основних БАР.

Досліджено фармакологічну дію густих екстрактів лілійника бурожовтого та лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*» та сухого екстракту кореневих бульб лілійника бурожовтого, визначено їх гостру токсичність. Усі досліджувані екстракти віднесено до класу практично нетоксичних речовин (V клас за класифікацією *Hodge and Sterner*, $LD_{50} > 5000$ мг/кг). Визначено ефективну дозу сухого екстракту кореневих бульб лілійника бурожовтого (150 мг/кг) та встановлено його гіпоглікемічну активність на моделі дексаметазонової гіперглікемії. Встановлено нейротропну дію густих екстрактів з квіток лілійника бурожовтого та лілійника гібридного: стимулюючу активність густого екстракту квіток лілійника бурожовтого в дозі 100 мг/кг та седативну дію густого екстракту квіток лілійника гібридного у дозі 250 мг/кг; антидепресивну (у дозі 250 мг/кг) та антиконвульсивну (у дозі 100 мг/кг) дії густого екстракту квіток лілійника гібридного.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Марчишин С. М. Вміст амінокислот у підземних і надземних органах лілійника бурожовтого (*Heimerocallis fulva* L.) та лілійника гібридного (*Heimerocallis hybrida* var. “*Stella De Oro*”) / С. М. Марчишин, О. В. Зарічанська // Фармацевтичний часопис. – 2015. – №1(33). – С. 11-14. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробка результатів та написання статті).

2. Марчишин С. М. Вміст карбонових кислот у підземних і надземних органах лілійника буро-жовтого (*Hemerocallis fulva* L.) та лілійника гібридного (*Hemerocallis hybrida* var. “*Stella De Oro*”) / С. М. Марчишин, С. С. Козачок, О. В. Зарічанська // Фармацевтичний журнал. – 2015. – №2. – С. 53-57. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробка результатів та написання статті).

3. Марчишин С. М. Дослідження флавоноїдів надземних органів лілійника буро-жовтого (*Hemerocallis fulva* L.) та лілійника гібридного (*Hemerocallis hybrida* var. “*Stella De Oro*”) / С. М. Марчишин, О. В. Зарічанська, М. С. Гарник // Фітотерапія. Часопис. – 2015. – №3. – С. 52-55. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробка результатів та написання статті).

4. Марчишин С. М. Визначення якісного складу та кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у сировині рослин роду Лілійник (*Hemerocallis* L.) / С. М. Марчишин, О. В. Зарічанська, Т. О. Щербакова // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2015. – №2, 3. – С. 101-103. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробка результатів та написання статті).

5. Марчишин С. М. Исследование углеводов подземных органов лилейника буро-желтого (*Hemerocallis fulva* L.) и лилейника гибридного (*Hemerocallis hybrida* var. “*Stella De Oro*”) / С. М. Марчишин, Е. В. Заричанская, М. С. Гарнык, Т. И. Ющенко // сетевое научное издание: Медицина и образование в Сибири. – 2015. – №6. Режим доступа: www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=2006. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробка результатів та написання статті).

6. Марчишин С. М. Визначення діагностичних анатомічних ознак кореневища, коренебульби та кореня лілійника буро-жовтого (*Hemerocallis fulva* L.) / С. М. Марчишин, Т. М. Гонтова, О. В. Зарічанська // Фітотерапія. Часопис. – 2015. – №4. – С. 37-41. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробка результатів та написання статті).

7. Марчишин С.М. Дослідження гострої токсичності та нейротропних властивостей густих екстрактів квіток лілійника буро-жовтого (*Hemerocallis fulva* L.) та лілійника гібридного (*Hemerocallis hybrida* var. “*Stella De Oro*”) / С.М. Марчишин, О.В. Зарічанська, С.Ю. Чолач // Фармацевтичний часопис. – 2016. – №1 (37). – С. 79-84. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробка результатів та написання статті).

8. Марчишин С.М. Скринінгове дослідження антиконвульсивної активності густих екстрактів квіток лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту «*Stella De Oro*» / С.М. Марчишин, О.В. Зарічанська // Фітотерапія. Часопис. – 2016. - № 2. – С. 64-66. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробка результатів та написання статті).

9. Anatomy investigation of the flower and the leaf of hybrid daylily (*Hemerocallis hybrida* var. “*Stella De Oro*”) / O.V. Zarichanska, S.M. Marchyshyn, V.P. Rudenko, O.V. Gamulya // Український біофармацевтичний журнал. – 2016. – № 3. – С. 46-52. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробка результатів та написання статті).

10. Фітохімічне та морфолого-анатомічне дослідження рослин роду Лілійник (*Hemerocallis* L.). Методичні рекомендації / С. М. Марчишин, О. В. Зарічанська // Тернопіль: Укрмедкнига. – 2016 р. – 37 с.

11. Пат. №109917 Україна, МПК А61К 36/00, А61К 9/08. Спосіб отримання рослинної субстанції з гіпоглікемічною активністю / Марчишин С. М., Зарічанська О. В., Волощук Н. І., Козир Г. Р., Рудник А. М.: заявник і патентовл. Марчишин С. М., Зарічанська О. В., Волощук Н. І., Козир Г. Р., Рудник А. М.; заявл. 13.04.2016; опубл. 12.09.2016, Бюл. №7. (Особистий внесок – здійснення патентного пошуку, обробка первинної інформації, участь у розробці фармацевтичної субстанції, участь у проведенні фармакологічних досліджень одержаної фітосубстанції; систематизація отриманих результатів, формулювання винаходу, участь у підготовці матеріалів для оформлення патентної заявки).

12. Зарічанська О. В. Якісний склад сировини та перспективи використання в медицині рослин роду Лілійник (*Hemerocallis* L.) / О. В. Зарічанська // Матеріали 5-ї науково-практичної конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів», м. Тернопіль, 27-28 вересня 2013 р. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2013. – С. 39-41.

13. Зарічанська Олена. Визначення вмісту фенольних сполук у коренебульбах лілійників буро-жовтого і гібридного / Олена Зарічанська, Соломія Козачок // Матеріали XVIII міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених, м. Тернопіль, 28-30 квітня 2014 р. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2013. – С. 258.

14. Мікроскопічний аналіз підземних органів лілійника буро-жовтого (*Hemerocallis fulva* L.) / С. М. Марчишин, С. С. Козачок, О. В. Зарічанська, Т. О. Щербакова // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції молодих науковців «Проблеми та перспективи досліджень рослинного світу», м. Ялта, 13-16 травня 2014 р. – С. 118.

15. Kozachok S. Determination of the constituents of tannins in *Hemerocallis* species by HPLC in modified roots / S. Kozachok, S. Marchyshyn, O. Zarichanska // Book of abstracts of the 9th international symposium on chromatography of natural products.– Lublin (Poland), May 26-29, 2014. – P. 128.

16. Дослідження низькомолекулярних органічних кислот квіток, листків і коренебульб лілійника буро-жовтого (*Hemerocallis fulva* L.) та лілійника гібридного (*Hemerocallis hybrida* var. “*Stella De Oro*”) / С. М. Марчишин, С. С. Козачок, О. В. Зарічанська, Т. І. Ющенко // Тези матеріалів всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні питання експериментальної і клінічної біохімії та фармакології», м. Тернопіль, 9-10 жовтня 2014 р. – Медична хімія. 3(36), том 16, 2014. – С. 132.

17. Zarichanska O. V. Qualitative composition and quantitative content of macro- and microelements in plant raw materials of plants of *Hemerocallis* L. genus / O. V. Zarichanska // Topical issues of new drugs development. International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Students, Kharkiv, April 23, 2015. – Kharkiv: NUPh, 2015. – P.111-112.

18. Зарічанська Олена. Визначення моносахаридного складу та кількісного вмісту полісахаридів у листках лілійника буро-жовтого (*Hemerocallis fulva* L.) та

лілійника гібридного (*Hemerocallis hybrida* var. “*Stella De Oro*”) / Олена Зарічанська // Тези матеріалів XIX Міжнародного медичного конгресу студентів і молодих вчених, присвячений пам’яті ректора, члена-кореспондента НАМН України, професора Леоніда Якимовича Ковальчука, м. Тернопіль, 27-29 квітня 2015 р. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2015. – С. 351.

19. Марчишин С. М. Визначення вмісту вільних органічних та аскорбінової кислот у вегетативних і генеративних органах лілійника буро-жовтого (*Hemerocallis fulva* L.) та лілійника гібридного (*Hemerocallis hybrida* var. “*Stella De Oro*”) / С. М. Марчишин, О. В. Зарічанська // Матеріали підсумкової науково-практичної конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (присвячена пам’яті ректора, члена-кореспондента НАМН України, професора Леоніда Якимовича Ковальчука), м. Тернопіль, 17 червня 2015 р. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2015. – С. 205-206.

20. Zarichanska Olena. Investigation of the volatile oil in modified roots, flowers and leaves of *Hemerocallis* species / Olena Zarichanska, Svitlana Marchyshyn, Myroslava Garnyk // 46th International Symposium on Essential Oils 2015 Abstracts. Natural Volatiles and Essential Oils, Lublin (Poland), September 13-16, 2015. – Lublin: 2015. – №2(3). – P. 99.

21. Zarichanska O. Determination of inulin and free fructose content in modified roots of *Hemerocallis* species / O. Zarichanska, S. Marchyshyn, T. Yuschenko // 4th International conference and workshop “Plant – the source of research material”, Lublin (Poland), September 20-23, 2015. – P. 224.

22. Марчишин С. М. Дослідження ліпофільної фракції лілійника буро-жовтого (*Hemerocallis fulva* L.) та лілійника гібридного (*Hemerocallis hybrida* var. “*Stella De Oro*”) / С. М. Марчишин, О. В. Зарічанська, І. В. Юрчак // Матеріали II міжнародної науково-практичної internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин», м. Харків, 21-23 березня 2016 р. – Харків: НФаУ, 2016. – С. 165-167.

23. Марчишин С. М. Дослідження кумаринів сировини рослин роду Лілійник (*Hemerocallis* L.) / С. М. Марчишин, О. В. Зарічанська, М. С. Гарник // Матеріали IV Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Хімія природних сполук», м. Тернопіль, 21-21 квітня 2016 р. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2016. – С. 37.

24. Інуліновмісні лікарські рослини / С. М. Марчишин, Г. Р. Козир, О. В. Зарічанська, Л. В. Гусак, Н. А. Гудзь, Л. Т. Міщенко // Матеріали VIII Національного з’їзду фармацевтів України, м. Харків, 13-16 вересня 2016 р. – Харків: 2016. – С. 111.

25. Одержання сухого екстракту з кореневих бульб лілійника буро-жовтого та дослідження його фармакологічної активності / О. В. Зарічанська, С. М. Марчишин, Н. І. Волощук, Г. Р. Козир // Матеріали VIII Національного з’їзду фармацевтів України, м. Харків, 13-16 вересня 2016 р. – Харків: 2016. – С. 80.

26. Марчишин С. М. Лікувальні властивості декоративних рослин роду Лілійник (*Hemerocallis* L.) / С. М. Марчишин, О. В. Зарічанська, Н. І. Волощук // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасні теоретичні та

практичні аспекти щодо стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини», м. Київ, 28-29 жовтня 2016 р. – Київ: 2016. С. 93-95.

АНОТАЦІЯ

Зарічанська О. В. Фармакогностичне дослідження рослин роду Лілійник (*Heimerocallis* L.). – 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, 2016.

Вперше проведено комплексне фармакогностичне дослідження квіток, листків і кореневих бульб рослин роду Лілійник (*Heimerocallis* L.) – лілійника буро-жовтого (*Heimerocallis fulva* L.) та лілійника гібридного (*Heimerocallis hybrida* var. "*Stella De Oro*"). У досліджуваній сировині встановлено якісний склад і кількісний вміст амінокислот, вуглеводів, у тому числі – інуліну, кислот органічних, ліпофільних сполук (хлорофілів і каротиноїдів, кислот жирних), летких сполук, фенольних речовин (кислот гідроксикоричних, флавоноїдів, простих фенолів, кумаринів, окиснюваних фенолів і дубильних речовин), а також макро- і мікроелементів.

Вперше проведено системне морфолого-анатомічне дослідження квіток, листків і кореневих бульб лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту "*Stella De Oro*" і встановлено їх макро- і мікродіагностичні ознаки. Розроблено оптимальну технологію одержання субстанцій: густих екстрактів з квіток двох видів лілійників і сухого екстракту з кореневих бульб лілійника буро-жовтого. За дослідженням гострої токсичності їх віднесено до V класу токсичності за класифікацією *Hodge* та *Stern* (практично нетоксичні речовини – $LD_{50} > 5000$ мг/кг). Визначено стимулюючу активність густого екстракту квіток лілійника буро-жовтого в дозі 100 мг/кг та седативну дію густого екстракту квіток лілійника гібридного у дозі 250 мг/кг; антидепресивну та антиконвульсивну дію густого екстракту квіток лілійника гібридного. Встановлено виразну гіпоглікемічну активність сухого екстракту кореневих бульб лілійника буро-жовтого у дозі 150 мг/кг.

Розроблено проекти МКЯ «Лілійника гібридного квітки» та «Лілійника гібридного квіток екстракт густий», «Лілійника буро-жовтого кореневі бульби» та «Лілійника буро-жовтого кореневих бульб екстракт сухий».

Ключові слова: лілійник буро-жовтий, лілійник гібридний, фармакогностичне дослідження, морфолого-анатомічне дослідження, екстракт, фармакологічна активність.

АННОТАЦИЯ

Заричанская Е. В. Фармакогностическое исследование растений рода Лилейник (*Heimerocallis* L.). – 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, 2016.

Впервые проведено комплексное фармакогностическое исследование цветков, листьев и корневых клубней растений рода Лилейник (*Heimerocallis* L.) – лилейника буро-желтого (*Heimerocallis fulva* L.) и лилейника гибридного (*Heimerocallis hybrida* var. "Stella De Oro"). В исследуемой сырье химическими, физическими и физико-химическими методами установлен качественный состав и определено количественное содержание аминокислот, углеводов, кислот органических в том числе аскорбиновой, липофильной фракции (хлорофиллов, каротиноидов и кислот жирных), летучих веществ, фенольных соединений (гидроксикоричных кислот, флавоноидов, простых фенолов, кумаринов, окисляемых фенолов и дубильных веществ), а также макро- и микроэлементов. В корневых клубнях исследуемых видов лилейников идентифицировано и определено количественное содержание инулина. Спектрофотометрическим методом анализа определено суммарное содержание фенольных соединений (цветки лилейника буро-желтого – 4,46 %, гибридного – 3,95 %; листья лилейника буро-желтого – 1,29 %, гибридного – 1,68 %; корнеклубни лилейника буро-желтого – 1,46 %, гибридного – 1,24 %); кислот гидроксикоричных (цветки лилейника буро-желтого – 1,72 %, гибридного – 1,61 %; листья лилейника буро-желтого – 1,01 %, гибридного – 1,42 %; корнеклубни лилейника буро-желтого – 0,03 %, гибридного – 0,46 %), флавоноидов (цветки лилейника буро-желтого – 1,92 %, гибридного – 1,97 %; листья лилейника буро-желтого – 0,96 %, гибридного – 0,84 %; корнеклубни лилейника буро-желтого – 0,17 %, гибридного – 0,27 %).

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в исследуемом сырье выявлено, идентифицировано и определено количественное содержание кислот хлорогеновой (максимальное количество – в цветках лилейника буро-желтого (0,64 %)), розмариновой (в листьях лилейника буро-желтого 0,005 %), *n*-кумаровой (максимальное количество – в цветках лилейника гибридного (0,10 %)), кофейной (в листьях и цветках лилейника гибридного – 0,003 % и 0,008 % соответственно), феруловой (в листьях лилейника буро-желтого – 0,003 %); в цветках и листьях – 1 агликона флавоноидов – лютеолина (максимальное количество – в цветках лилейника буро-желтого (0,04 %)) и 2 гликозидов флавоноидов – рутин (максимальное количество – в цветках лилейника буро-желтого (0,25 %)) и изокверцитрина (максимальное количество – в листьях лилейника буро-желтого (0,13 %)), гиперозида, апигенина и компонентов полифенолов (кислоты эллаговой, галловой и катехинов). Установлены основные числовые показатели – потеря в массе при высушивании, содержание общей золы и золы, нерастворимой в 10% кислоте хлоридной.

Впервые проведено системное морфолого-анатомическое исследование цветков, листьев и корневых клубней лилейника буро-желтого и лилейника гибридного сорта "Stella De Oro" и установлены их макро- и микродиагностические признаки.

Разработана оптимальная технология получения суммарных экстракционных препаратов на основе исследуемого растительного сырья, а именно – густых экстрактов из цветков двух видов лилейников и сухого экстракта из корневых клубней лилейника буро-желтого. Установлена безопасность данных экстрактов: по исследованиям острой токсичности они отнесены к V классу токсичности соединений

по классификации *Hodge* и *Sterner* (практически нетоксичные вещества - $LD_{50} > 5000$ мг/кг). Фармакологические исследования проведены на базе научно-исследовательской лаборатории доклинического изучения фармакологических веществ Винницкого национального медицинского университета имени Н.И. Пирогова под руководством проф. Волощук Н.И.

В тестах на лабораторных животных (мышах – для густых экстрактов цветков, крысах – для сухого экстракта корневых клубней) установлена статистически достоверная стимулирующая активность густого экстракта цветков лилейника буро-желтого в дозе 100 мг/кг и седативная густого экстракта цветков лилейника гибридного сорта "*Stella De Oro*" в дозе 250 мг/кг в исследовании «открытого поля»; антидепрессивная активность (в исследовании в иммобилизационном тесте поведенческого отчаяния) в дозе 250 мг/кг и противосудорожная (в исследовании на модели «коразоловых судорог») в дозе 100 мг/кг густого экстракта цветков лилейника гибридного сорта "*Stella De Oro*". Доказана статистически достоверная выразительная гипогликемическая активность сухого экстракта корневых клубней лилейника буро-желтого в дозе 150 мг/кг в исследовании с «глюкозной нагрузкой» и на модели дексаметазон-индуцированной гипергликемии.

Разработаны проекты методик контроля качества «Лилейника гибридного цветки» и «Лилейника гибридного цветков экстракт густой», «Лилейника буро-желтого корневые клубни» и «Лилейника буро-желтого корневых клубней экстракт сухой».

Ключевые слова: лилейник буро-желтый, лилейник гибридный, фармакогностическое исследование, морфолого-анатомическое исследование, экстракт, фармакологическая активность.

ANNOTATION

Zarichanska O. V. The pharmacognostic investigation of the plants of *Hemerocallis* L. genus. – The Manuscript.

Thesis for scientific degree of candidate of pharmaceutical science on specialty 15.00.02 – pharmaceutical chemistry and pharmacognosy. – Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Lviv, 2016.

The complete pharmacognostic investigation of flowers, leaves and modified roots of plants of the *Hemerocallis* L. genus – tawny daylily (*Hemerocallis fulva* L.) and hybrid daylily (*Hemerocallis hybrida* var. "*Stella De Oro*") has been performed for the first time. In the investigated plant raw materials qualitative composition and qualitative content of the following substances have been determined: amino acids, carbohydrates including inulin, carboxylic acids, lipophyllic portion, chlorophylls and carotenoids, volatile oil, macro- and microelements, phenolic substances (hydroxycinnamic acids, flavonoids, polyphenolics, coumarines, oxidized phenols and tannins).

Complete morphological and anatomical investigation of flowers, leaves and modified roots of tawny daylily and hybrid daylily of "*Stella De Oro*" variant have been performed for the first time and their macro and micro diagnostic features have been elucidated. The optimal technology of the obtaining of aggregated extractive preparations – thick extracts

from flowers of both daylilies' species and dry extract from tawny daylily's modified roots. After the acute toxicity investigation they have been referred to the V class of the substances' toxicity according to Hodge and Sterner classification (practically non toxic substances – $LD_{50} > 5000$ mg/kg). The stimulatory activity of thick extract of tawny daylily at the dose 100 mg/kg and sedative activity of hybrid daylily's of "*Stella De Oro*" variant flowers' thick extract at the dose 250 mg/kg have been determined; thick extract of hybrid daylily's of "*Stella De Oro*" variant flowers at dose 250 mg/kg shown antidepressant properties and anticonvulsant activity at dose 100 mg/kg. Dry extract from tawny daylily's modified roots at dose 150 mg/kg.

The projects of quality control methods on "Hybrid daylily's of "*Stella De Oro*" variant flowers" and "Hybrid daylily's of "*Stella De Oro*" variant flowers' thick extract", "Tawny daylily's modified roots" and "Tawny daylily's modified roots' dry extract".

Keywords: *Hemerocallis fulva* L., *Hemerocallis hybrida* var. "*Stella De Oro*", pharmacognostic study, morphological and anatomical study, extract, pharmacological activity.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- БАР – біологічно активні речовини;
ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;
ВРПС – водорозчинні полісахариди;
ГРХ – газорідинна хроматографія;
ГХ/МС – газо-рідинна хроматографія з мас-спектрометрією;
ЛБЖ – лілійник буро-жовтий;
ЛБЖБ – лілійника буро-жовтого кореневі бульби;
ЛБЖК – лілійника буро-жовтого квітки;
ЛБЖЛ – лілійника буро-жовтого листки;
ЛГ – лілійник гібридний сорту “*Stella De Oro*”;
ЛГБ – лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*” кореневі бульби;
ЛГК – лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*” квітки;
ЛГЛ – лілійника гібридного сорту “*Stella De Oro*” листки;
МКЯ – методики контролю якості;
ПР – пектинові речовини;
ПС – полісахариди;
ПХ – хроматографія на папері;
ТШХ – тонкошарова хроматографія.