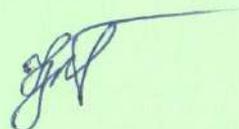


Міністерство охорони здоров'я України
Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького

ШАНАЙДА МАРІЯ ІВАНІВНА



УДК 615.014.07:582.943

**ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРЕДСТАВНИКІВ
ПІДРОДИНИ *NERETOIDEAE* BURNETT. РОДИНИ *LAMIACEAE*
MARTINOV ЯК ДЖЕРЕЛА ОДЕРЖАННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора фармацевтичних наук

Львів – 2021

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Тернопільському національному медичному університеті імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України.

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
АНТОНЮК ВОЛОДИМИР ОЛЕКСАНДРОВИЧ,
Львівський національний медичний університет імені
Данила Галицького, професор кафедри
фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії

доктор фармацевтичних наук, професор
ГОНТОВА ТЕТЯНА МИКОЛАЇВНА,
Національний фармацевтичний університет,
завідувач кафедри ботаніки

доктор фармацевтичних наук, професор
МАЗУЛІН ОЛЕКСАНДР ВЛАДИЛЕНОВИЧ,
Запорізький державний медичний університет,
професор кафедри клінічної фармації, фармакотерапії,
фармакогнозії та фармацевтичної хімії

Захист відбудеться «12» березня 2021 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 ознайомитись у науковій бібліотеці Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (79000, м. Львів, вул. Січових Стрільців, 6).

Автореферат розісланий «18» лютого 2021 року.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
доктор фармацевтичних наук



І. В. Драпак

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Науково-технічний прогрес у створенні синтетичних ліків не зменшує важливості і не звужує сфери застосування лікарських рослинних засобів (ЛРЗ). Більшість із них практично не мають побічних ефектів, є безпечними та економічно доступними.

У науковій та народній медицині для лікування і профілактики багатьох захворювань досить широко використовують сировину ефіроолійних рослин родини Глухокропівові (*Lamiaceae* Martinov). В аптеках України реалізують сировину і ЛРЗ, отримані на основі офіційних видів рослин підродини Котовникові (*Nepetoideae* Burnett.) цієї родини, а саме: материнки звичайної, меліси лікарської, м'яти перцевої, лаванди колоскової, шавлії лікарської, чебрецю звичайного та чебрецю повзучого. З метою розширення сировинної бази вітчизняної фармацевтичної промисловості та номенклатури ЛРЗ, актуальним є використання нових, альтернативних рослинних джерел ефірних олій та інших груп біологічно активних речовин (БАР) на підґрунті фармакогностичного вивчення неофіційних видів підродини Котовникові.

У роботах О. М. Кошового та співавт., 2011, 2013, 2016, 2020; М. Ламріні, 2008; А. С. Нікітіної, 2008; Н. В. Попової, 2013; Ю. С. Прокопенко та співавт., 2012, 2018; Т. Г. Стасів, 2015; Л. А. Фуклевої та О. В. Мазуліна, 2009; В. В. Чумакової, 2013; А. Аprotosoae та співавт., 2014; D. Benedec та співавт., 2009, 2014, 2015; I. Cosan та співавт., 2018; N. Gavaric та співавт., 2015; I. Jasicka-Misiak та співавт., 2018; A. Kakasy, 2008; S. Khomdram та співавт., 2011; D. Staszek та співавт., 2013, K. Veres, 2007; S. Zielinska and A. Matkowski, 2014 і багатьох інших науковців доведено перспективність фармакогностичних досліджень представників підродини Котовникові для створення нових ЛРЗ. У надземних органах цих рослин синтезується комплекс БАР, основними з яких є ефірні олії та різноманітні класи фенольних сполук. Ці групи БАР викликають значний інтерес у напрямі створення на їх основі нових фітозасобів з антимікробними, антиоксидантними, протизапальними та ноотропними властивостями.

Важливе наукове і практичне значення мають неофіційні види родів Монарда, Лофант, Змієголовник, Гісоп, Чабер і Васильки підродини Котовникові. Їх здавна використовують у народній медицині різних країн для лікування застудних захворювань, дерматитів, порушень травлення, як седативні засоби тощо. У науковій літературі наведено результати досліджень окремих аспектів їх хімічного складу та біологічної активності, які вказують на актуальність і перспективність їх поглибленого фармакогностичного вивчення.

Враховуючи те, що багато представників цих родів за останні роки успішно інтродуковані в Україні і поступово набувають поширення як культивовані рослини, а на фармацевтичному ринку відсутні вітчизняні ЛРЗ на їх основі, очевидною є доцільність їх комплексного фітохімічного, морфолого-анатомічного і фармакологічного дослідження. Поглибленого аналізу заслуговує, насамперед, хімічний склад рослин із вказаних родів як потенційних джерел БАР з доведеною терапевтичною активністю: розмаринової кислоти,

флавоноїдів, ефірних олій з такими домінуючими компонентами як тимол, карвакрол, ліналоол тощо. Визначення показників якості сировини найбільш перспективних представників цих родів та розробка ЛРЗ на їх основі забезпечить можливість отримання нових фітопрепаратів антибактеріальної, антигрибкової, антиоксидантної, протизапальної, знеболповальної та седативної дії.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.

Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідних програм (тем) кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського (ТНМУ) та є їх фрагментом: «Фармакогностичний аналіз та вивчення фармакологічної дії біологічно активних речовин лікарських рослин в експерименті» (номер державної реєстрації 0108U001695); «Фармакоекономічне обґрунтування створення, отримання, розробки субстанцій лікарських речовин і лікарських засобів на основі продуктів хімічного синтезу й біологічно активних речовин рослинного походження, їх стандартизація та фармакологічне вивчення» (номер державної реєстрації 0111U003756); «Фармакогностичне вивчення культивованих і дикорослих лікарських рослин; фізико-хімічні дослідження продуктів перетворення 1,3-диметилксантину та стандартизація, фармакологічні і фармакотехнологічні випробування лікарських засобів» (номер державної реєстрації 0115U003359); «Пошук нових видів лікарських рослин, фармакогностичне та фармакологічне обґрунтування ефективності їх біологічно активних речовин» (номер державної реєстрації 0118U004982).

Тему дисертації затверджено Вченою радою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (протокол № 7 від 28.12.2010 р.). Робота виконана у відповідності до плану роботи проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України (протокол № 68 від 20.04.2011 р.).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи є комплексне фармакогностичне дослідження сировини 10 неофіціальних видів родів Васильки, Змієголовник, Гісоп, Лофант, Монарда та Чабер підродина Котовникові родини Глухокропівові; визначення параметрів стандартизації сировини перспективних видів та ЛРЗ, розроблених на їх основі; скринінгові дослідження фармакологічної активності отриманих ЛРЗ та обґрунтування її можливого взаємозв'язку із вмістом основних БАР.

Для досягнення цієї мети були поставлені такі завдання:

- здійснити аналіз джерел наукової літератури щодо ботанічної характеристики, поширення, хімічного складу, біологічної активності і лікувальних властивостей представників родини Глухокропівові та узагальнити отримані дані для визначення перспективних для фармації і медицини родів та видів як джерел БАР із доведеною терапевтичною активністю для подальших фармакогностичних досліджень;

- ідентифікувати і встановити вміст основних груп БАР первинного та вторинного синтезу, макро- і мікроелементів у сировині досліджуваних об'єктів;

- з'ясувати особливості накопичення ефірних олій у надземних органах досліджуваних видів та здійснити їх хромато-мас-спектрометричний аналіз;

- проаналізувати вихід ліпофільних фракцій та вміст у них хлорофілів і каротиноїдів; здійснити фракційний аналіз полісахаридів;
- визначити склад і вміст тритерпеноїдів та основних груп фенольних сполук; провести ізолювання індивідуальних сполук із сировини найбільш перспективного виду і встановити їх структуру;
- здійснити макро- і мікроскопічний аналіз сировини рослин та визначити параметри їх стандартизації;
- розробити технологію одержання нових ЛРЗ на основі сировини досліджуваних видів, провести хімічний аналіз основних груп БАР у їх складі та визначити параметри їх стандартизації;
- розробити проекти методів контролю якості (МКЯ) сировини перспективних видів і отриманих ЛРЗ;
- провести фармакологічні дослідження отриманих ЛРЗ в умовах *in vitro*, *in vivo* та вивчити їх безпечність; підтвердити перспективність їх практичного застосування на основі виявленої біологічної активності; навести теоретичне обґрунтування можливих взаємозв'язків між вмістом основних БАР у розроблених ЛРЗ і їх фармакологічною активністю.

Об'єкт дослідження – комплексне фармакогностичне вивчення сировини рослин з родів Васильки (*Ocimum L.*), Гісоп (*Hyssopus L.*), Змієголовник (*Dracocephalum L.*), Лофант, або Багатоколосник (*Lophanthus Adans.*, або *Agastache Gronov*), Монарда (*Monarda L.*), Чабер (*Satureja L.*) підродина Котовникові родини Глухокропикові; розробка та дослідження ЛРЗ на їх основі.

Предмет дослідження – ідентифікація та встановлення кількісного вмісту БАР (фенольних сполук, ефірних олій, тритерпеноїдів, карбонових, у тому числі жирних, кислот, амінокислот та вуглеводів), ліпофільної фракції, макро- та мікроелементів у траві досліджуваних видів рослин підродина Котовникові; морфолого-анатомічне дослідження сировини; виділення індивідуальних компонентів із сировини найбільш перспективного виду і встановлення їх структури; розробка технології отримання ЛРЗ та визначення їх фармакологічної активності; розробка проектів МКЯ на сировину та одержані ЛРЗ.

Методи дослідження. Ідентифікацію та визначення вмісту БАР у сировині досліджуваних видів проводили з використанням якісних реакцій, паперової хроматографії (ПХ), тонкошарової хроматографії (ТШХ), вискоефективної тонкошарової хроматографії (ВЕТШХ), газової хроматографії з мас-спектрометричним детектуванням (ГХ/МС), вискоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), атомно-абсорбційної спектрометрії, спектрофотометрії в ультрафіолетовій (УФ) та видимій ділянках спектра, гравіметрії та титриметрії. Використовували ТШХ-пластинки марки Silicagel 60 F₂₅₄. Для виділення індивідуальних речовин використано колонкову адсорбційну хроматографію та препаративну хроматографію в тонкому шарі сорбенту. Структуру виділених речовин встановлено на основі особливостей їх температури плавлення, даних спектрального аналізу в УФ області, спектроскопії ядерно-магнітного резонансу (ЯМР) на ядрах ¹H та ¹³C і мас-спектрометрії. Мікроскопічний аналіз сировини здійснювали методом світлової мікроскопії з фотофіксацією. Вивчення показників якості та технологічних параметрів сировини проводили у

відповідності до методик Державної Фармакопеї України (ДФУ). Фармакологічні дослідження проводили за стандартними методиками: вивчення гострої токсичності, протизапальної, анальгетичної, гепатопротекторної та седативної дії проводили в експерименті на тваринах (*in vivo*); антимікробну та антиоксидантну дію вивчали на моделях *in vitro*. Статистичну обробку результатів експериментальних досліджень проводили згідно вимог ДФУ.

Наукова новизна отриманих результатів. Теоретична значущість роботи полягає у вирішенні проблеми комплексного фармакогностичного дослідження сировини неофіціальних видів родів Васильки, Гісоп, Змієголовник, Лофант, Монарда та Чабер підродина Котовникові родини Глухокропівові.

Основними теоретичними здобутками дисертації є нові методологічні підходи до вивчення неофіціальних видів підродина Котовникові, в основу яких покладено результати критичного аналізу наукових першоджерел, скринінгові фітохімічні дослідження інтродукованих в Україні видів, визначення особливостей накопичення ефірних олій та інших груп БАР. Крім того, наведено моделі хроматографічних профілів трави досліджуваних об'єктів; обґрунтовано визначення вмісту розмаринової кислоти як основного аналітичного та біологічно активного маркера досліджуваних видів; встановлено передумови для подальшого хемотаксономічного дослідження рослин; доведено ефективність комплексного підходу до переробки ефіроолійної сировини, при якому, поряд із отриманням ефірної олії, використовують післядистиляційний витяг і шрот.

У досліджуваних об'єктах вперше ідентифіковано 239 сполук, які належать до різних класів БАР. Вперше встановлено якісний склад та кількісний вміст фенольних сполук у сировині досліджуваних видів. Визначено ароматичні кислоти: бензойну, фенілоцтову, фенолкарбонові та гідроксикоричні – саліцилову, ванілінову, бузкову, галову, елагову, *n*-гідроксикоричну, кофейну, ферулову, розмаринову, хлорогенову та неохлорогенову; серед кумаринів – кумарин та скополетин; серед флавоноїдів – похідні флаван-3-олу – катехін, епікатехін, епікатехіну галат, галокатехін, епігалокатехін, похідні флавону – апігенін, лотеолін, акацетин та їх глікозиди; похідні флавонолу – кверцетин, гіперозид, ізокверцитрин та рутин.

У досліджуваних об'єктах вперше встановлено вміст 6 тритерпенових сполук, серед яких були похідні α -амірину – урсолова, торментинова та еускафова кислоти, β -амірину – олеанолова кислота, лупану – бетулін та лупеол. Отримано нові дані щодо компонентного складу ефірних олій досліджуваних видів; загальна кількість ідентифікованих в ефірних оліях компонентів – 134. У різних об'єктах визначено від 21 до 53 компонентів ефірних олій. В аналізованих ефірних оліях визначено домінуючі та видоспецифічні компоненти. На основі цих даних визначено хемотипові особливості об'єктів дослідження.

Вперше отримано ліпофільні фракції із сировини досліджуваних видів та проведено аналіз вмісту хлорофілів і каротиноїдів у їх складі. Серед БАР первинного синтезу у траві рослин вперше визначено компонентний вміст 21 карбонової кислоти, 25 жирних кислот та 22 амінокислот.

Методами ТПХ та ВЕТПХ вперше встановлено наявність та специфічне розташування на хроматограмах основних БАР вторинного синтезу (так звані

«хроматографічні відбитки») у траві та ЛРЗ, які отримано на основі 5 найбільш перспективних серед досліджуваних видів – монарди трубчастої, чаберу садового, васильків американських, змієголовника молдавського і лофанту анісового. Вперше обґрунтовано визначення розмаринової кислоти як спільної домінуючої сполуки сировини цих видів.

Шляхом використання комплексу методів досліджень – рідинно-рідинної екстракції, колонкової адсорбційної хроматографії, препаративної ТШХ та кристалізації – з трави монарди трубчастої вперше виділено 6 індивідуальних сполук. Структуру 4 з них – розмаринової кислоти, кофейної кислоти, рутину і β -ситостеролу – доведено за їх фізико-хімічними властивостями, даними УФ-спектрофотометрії, ^1H та ^{13}C ЯМР спектроскопії, мас-спектрометрії та порівнянням із стандартними зразками (СЗ) сполук.

На основі макро- і мікроскопічного аналізу листків, стебел, квіток і суцвіть досліджуваних видів отримано нові дані, які дали змогу встановити комплекс їх морфолого-анатомічних діагностичних ознак. Ці результати використано для розробки проєктів МКЯ «Лофанту анісового (фіолетовоквіткової форми) трава», «Монарди трубчастої трава», «Васильків американських трава», «Чаберу садового трава» та «Змієголовника молдавського (фіолетовоквіткової форми) трава».

Вперше встановлено антиоксидантну активність настоїв та ефірних олій із трави досліджуваних рослин на основі їх взаємодії з активним вільним радикалом 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразилом (ДФПГ). Розширено поняття про антимікробну і антигрибкову активності ефірних олій васильків американських, лофанту анісового, монарди трубчастої, змієголовника молдавського та чаберу садового щодо стандартних штамів патогенних мікроорганізмів *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* і *Candida albicans*. Вперше запропоновано параметри стандартизації ефірних олій досліджуваних видів як перспективних ЛРЗ.

Вперше розроблено технологію одержання настоек з трави васильків американських та змієголовника молдавського; рідкого і густого екстрактів із трави чаберу садового; сухих екстрактів з трави лофанту анісового, монарди трубчастої та васильків американських. В експерименті на тваринах доведено безпечність отриманих ЛРЗ. Вперше визначено протизапальну активність (ПЗА) густого екстракту з трави чаберу садового, сухих екстрактів з трави лофанту анісового, монарди трубчастої та васильків американських; анальгетичну активність густого екстракту із трави чаберу садового та сухого екстракту із трави монарди трубчастої; гепатопротекторну дію рідкого екстракту із трави чаберу садового. Вперше встановлено седативний ефект ефірних олій та настоек із трави васильків американських та змієголовника молдавського. Здійснено всебічний аналіз та теоретичне обґрунтування можливих взаємозв'язків між вмістом основних БАР у розроблених ЛРЗ та їх біологічною активністю.

Наукову новизну проведених досліджень підтверджено 6 патентами України, з яких 2 – на винахід (№ 120826 від 10.02.2020 р.; № 120827 від

10.02.2020 р.) та 4 – на корисну модель (№ 125006 від 25.04.2018 р., № 126437 від 25.06.2018 р.; № 126513 від 25.06.2018 р.; № 141723 від 27.04.2020 р.).

Практичне значення отриманих результатів. Експериментально підтверджено перспективність створення ЛРЗ із трави 5 видів підродини Котовникові: васильків американських, змієголовника молдавського, лофанту анісового, монарди трубчастої та чаберу садового. Обґрунтовано раціональність використання всієї надземної частини досліджуваних об'єктів, яку слід заготовляти у період цвітіння.

Валідовано методику визначення вмісту розмаринової кислоти у траві рослин методом ВЕТШХ денситометрії. Виявлено значний вміст розмаринової кислоти у сировині досліджуваних видів, особливо у траві змієголовника молдавського, який можна рекомендувати як джерело отримання СЗ цієї сполуки. Отримані «хроматографічні відбитки» фенольних сполук та терпеноїдів у сировині досліджуваних рослин і одержаних ЛРЗ можна використовувати для їх експрес-аналізу методами ТПХ чи ВЕТПХ.

Розроблено комплексний підхід до використання водного витягу та шроту сировини васильків американських і монарди трубчастої після вилучення ефірної олії, на основі чого отримано сухі екстракти, які можна розглядати як потенційне джерело поліфенолів. Технологічну схему одержання та проєкт МКЯ сухого екстракту з трави васильків американських апробовано в умовах виробництва товариства з обмеженою відповідальністю «Тернофарм»; технологічну схему виробництва густого екстракту з трави чаберу садового під умовною назвою «Сатурин» перевірено на відтворюваність в промислових умовах хіміко-фармацевтичного заводу «Червона зірка». Запропонований проєкт МКЯ ефірної олії з трави чаберу садового апробовано в умовах виробництва товариства з обмеженою відповідальністю «Косметико-фармацевтична компанія «Грін Фарм Косметик»». Розроблено та впроваджено у галузь охорони здоров'я інформаційний лист № 179-2016 «Макро- та мікроскопічні ознаки трави васильків американських (*Ocimum americanum* L.)».

За результатами проведених досліджень здійснено теоретичне і експериментальне обґрунтування параметрів стандартизації та розроблено проєкти МКЯ на нові ЛРЗ: «Змієголовника молдавського настійку», «Чаберу садового густий екстракт», «Лофанту анісового сухий екстракт», «Монарди трубчастої сухий екстракт», «Васильків американських сухий екстракт», «Змієголовника молдавського ефірну олію», «Чаберу садового ефірну олію», «Монарди трубчастої ефірну олію», «Васильків американських ефірну олію» та «Лофанту анісового ефірну олію».

Результати фармакогностичного аналізу сировини досліджуваних видів підродини Котовникові родини Глухокропивові і розроблених на їх основі ЛРЗ впроваджено в навчальний процес та наукову роботу таких кафедр закладів вищої освіти та науково-дослідних установ: кафедр ботаніки і фармакогнозії Національного фармацевтичного університету; кафедри якості, стандартизації та сертифікації ліків Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету; фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О. О. Богомольця; кафедри

фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет»; кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету; кафедри фармацевтичної ботаніки та фармакогнозії Буковинського державного медичного університету; кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету; кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ТНМУ; кафедри аналітичної та екологічної хімії Опольського університету (Ополе, Польща), кафедри фармацевтичної біології і ботаніки Вроцлавського медичного університету (Вроцлав, Польща), Інституту фармацевтичних технологій Литовського університету наук про здоров'я (Каунас, Литва), Державної служби з лікарських засобів та контролю за наркотиками у Тернопільській обл. та Державної лабораторії з контролю якості лікарських засобів ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України».

Особистий внесок здобувача. Дисертація є самостійною завершеною науковою працею. Автором особисто визначено об'єкти дослідження, здійснено аналіз наукових джерел щодо поширення, хімічного складу і використання лікарських рослин родини Глухокропівові у народній і науковій медицині, визначено мету дослідження та шляхи її реалізації; здійснено планування та виконання експериментальної частини роботи, інтерпретацію та узагальнення отриманих результатів, формулювання основних положень та висновків, представлених до захисту.

Розділи 3 та 4 роботи виконані за часткової консультативної допомоги проф. Марчишин С. М. (завідувач кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ТНМУ), розділ 5 – доц. Сірої Л. М. (доцент кафедри ботаніки Національного фармацевтичного університету); розділ 6 – доц. Гудзь Н. І. (доцент кафедри технології ліків та біофармації Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького), розділ 7 – проф. Олещук О. М. (завідувач кафедри фармакології з клінічною фармакологією ТНМУ).

У наукових публікаціях, опублікованих у співавторстві, особистий внесок дисертанта наведено в списку опублікованих праць за темою дисертаційної роботи. У цих працях дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок. Співавтором наукових праць дисертанта Голембіовською О. І. захищено кандидатську дисертацію: «Фармакогностичне дослідження суховершків звичайних (*Prunella vulgaris* L.)» (2014 р.).

Усі результати, узагальнення та висновки, викладені в дисертації, отримані та встановлені автором особисто.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи оприлюднено та обговорено на з'їздах і науково-практичних конференціях різного рівня: Національному з'їзді фармацевтів України (Харків, 28–30.09.2005 р., 15–17.09.2010 р.), XII з'їзді українського ботанічного товариства (Одеса, 15–18.05.2006 р.), I науковій конференції молодих вчених з міжнародною участю (Вінниця, 19–20.05.2010 р.), Науковій конференції «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2011» (Запоріжжя, 12–13.05.2011 р.), XIII з'їзді українського ботанічного товариства (Львів, 19–23.09.2011 р.), IV Національному з'їзді фармакологів України (Київ, 10–12.10.2011 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Довкілля і здоров'я»

(Тернопіль, 27–28.04.2012 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 30–31.10.2012 р., 21–22.04.2016 р.), I Міжнародній науково-практичній конференції «Функціональні харчові продукти – дієтичні добавки – як дієвий засіб різнопланової профілактики захворювань» (Харків, 11–12.04.2013 р.), I Международной научной конференции «Лекарственные растения: фундаментальные и прикладные аспекты» (Новосибирск, Россия, 21–22.05.2013 р.), International Conference and Workshop «Plant – the source of research material» (Lublin, Poland, 16–18.09.2013 у., 21–24.06.2017 у.), Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 27–28.09.2013 р., 27–28.09.2018 р.), II Міжнародній науковій конференції «Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень» (Березоточа, Полтавська обл., 4–5.06.2014 р.), Підсумковій науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (Тернопіль, 17.06.2015 р., 07.06.2018 р.), 2nd International Scientific Conference «Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality» (Nitra, Slovakia, 20–22.08.2015 у.), Міжнародній науково-практичній Internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 21–23.03.2016 р.), 2nd International symposium «Plants in pharmacy and nutrition» (Wroclaw, Poland, 15–17.09.2016 у.), XI міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні аспекти збереження здоров'я людини» (Ужгород, 13–14.04.2018 р.), Науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 20 річниці заснування дня фармацевтичного працівника України «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку» (Харків, 19–20.09.2019 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання фармакології та фармакотерапії» (Тернопіль, 26–27.09.2019 р.), 10th International Pharmaceutical Conference «Science and Practice» (Kaunas, Lithuania, 15.11.2019 у.), Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій пам'яті доктора хімічних наук, професора Н. П. Максютіної (до 95-річчя від дня народження) «Planta+. Досягнення та перспективи» (Київ, 20–21.02.2020 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 65 наукових праць (з них 18 одноосібних), у тому числі 30 статей у фахових журналах (22 у вітчизняних та 8 – у виданнях іноземних держав, з яких 5 індексуються в наукометричній базі *Scopus*), 1 інформаційний лист, 28 тез доповідей і матеріалів наукових конференцій, отримано 6 патентів України (з них 2 – на винахід).

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 569 сторінках машинописного тексту, вона складається з анотації, вступу, семи розділів, загальних висновків, списку використаних джерел літератури та 9 додатків. Обсяг основного тексту становить 309 сторінок. Роботу ілюстровано 173 рисунками і 91 таблицею. Перелік використаних джерел містить 402 найменування, з них 175 кирилицею та 227 латиною.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Розділ 1. Сучасний стан фармакогностичного вивчення представників родини Глухокропівові (Огляд літератури). На основі аналізу та узагальнення даних наукової літератури визначено, що розширення асортименту фітозасобів офіційної медицини шляхом всебічного фармакогностичного вивчення неофіціальних видів підродина Котовникові родини Глухокропівові є важливим напрямом розвитку вітчизняної фармацевтичної галузі.

У народній медицині різних країн використовують види родів Васильки, Гісоп, Змієголовник, Лофант, Монарда та Чабер підродина Котовникові. Значна частина представників цих родів успішно інтродуковані в ґрунтово-кліматичних умовах лісостепової зони України, що забезпечує належні передумови їх подальшого культивування, дослідження та застосування у фармації. У зв'язку з тим, що офіційна медицина України та країн Євросоюзу види цих родів не використовує, у ДФУ та основних світових Фармакопеях відсутні монографії на їх сировину, актуальності набуває вивчення їх БАР та біологічної активності з метою подальшого використання у фармації. Перспективним є пошук альтернативних джерел розмаринової кислоти, похідних флавону, ефірних олій з такими домінуючими компонентами як тимол, карвакрол, ліналоол серед маловивчених видів рослин підродина Котовникові. Наявність у складі цих видів різних ботанічних і селекційних форм та хемотипів має істотний вплив на їх хімічний склад і, відповідно, біологічну активність, тому важливе значення має визначення показників якості їх сировини.

Для реалізації важливого науково-дослідного завдання фармацевтичної галузі щодо створення нових безпечних і ефективних ЛРЗ антимікробної, антиоксидантної, седативної, протизапальної, анальгетичної дії та розширення сировинної бази фармацевтичної промисловості, визначено актуальність проведення комплексного фармакогностичного дослідження інтродукованих в Україні видів із родів Васильки, Змієголовник, Гісоп, Лофант, Монарда, Чабер і теоретичного обґрунтування їх подальшого застосування у фармації.

Розділ 2. Об'єкти та методи досліджень. На основі критичного аналізу джерел наукової літератури визначено об'єкти та методологію проведення фармакогностичних досліджень. Об'єктами дослідження стали 10 видів (у тому числі 4 форми) рослин, які належать до підродина Котовникові родини Глухокропівові: 4 види роду Васильки (*Ocimum*) – в. справжній (*O. basilicum* L.), в. американський (*O. americanum* L.), в. лимонний (*Ocimum* × *citriodorum*, гібрид *O. americanum* × *O. basilicum*), в. священний (*O. sanctum* L.); 2 види роду Змієголовник (*Dracocephalum*) – з. молдавський (*D. moldavica* L.) та з. великоквітковий (*D. grandiflorum* L.); 1 вид роду Гісоп (*Hyssopus*) – г. лікарський (*H. officinalis* L.) з білим віночком квіток; 1 вид роду Лофант (*Lophanthus*) – л. анісовий (*L. anisatus anisatus* (Nutt.) Benth., син. *Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze); 1 вид роду Монарда (*Monarda*) – м. трубчаста (*M. fistulosa* L.) та 1 вид роду Чабер (*Satureja*) – ч. садовий (*S. hortensis* L.). Використовували дві форми змієголовника молдавського і лофанту анісового – білоквіткову (БК) та фіолетовоквіткову (ФК). Для досліджень використовували

надземну частину рослин, яку заготовляли на початку масового цвітіння впродовж 2005–2019 рр. Рослини вирощували на території Тернопільської обл. із насіння, отриманого із колекції відділу нових технічних культур Національного ботанічного саду ім. М. М. Гришка НАН України, відповідно до рекомендацій «WHO Guidelines on Good Agricultural and Collection Practices (GACP) for Medicinal Plants». У цьому розділі дисертації наведено перелік використаних приладів, реактивів та характеристику методів досліджень.

Розділ 3. Експериментальні дослідження амінокислот, карбонових кислот, вуглеводів та елементного складу сировини досліджуваних рослин. У траві досліджуваних видів методом ГХ/МС визначено компонентний вміст 21 карбонової кислоти. Встановлено, що в усіх видів аліфатичні карбонові кислоти переважали над ароматичними як кількісно, так і за різноманітністю складу. Серед аліфатичних кислот домінували лимонна, яблучна та павлева кислоти у різних співвідношеннях; серед ароматичних – *m*-гідроксикорична та ферулова кислоти. Максимальний вміст ароматичної саліцилової кислоти, яка має доведені антисептичні властивості, спостерігали у траві васильків американських (118 мг/кг). Найбільший сумарний вміст вільних органічних кислот, визначений титриметричним методом, встановлено у траві гісопу лікарського ($1,04 \pm 0,02$ %) та змієголовника молдавського ($0,96 \pm 0,03$ %).

Методом ГХ/МС у сировині досліджуваних видів проаналізовано компонентний вміст 25 жирних кислот, сукупний вміст яких був найвищим у траві чаберу садового – 8007 мг/кг. У траві більшості видів домінували ненасичені жирні кислоти – ліноленова та лінолева. Максимальний вміст ліноленової кислоти встановлено у надземній частині чаберу садового – 3373 мг/кг та васильків лимонних – 3033 мг/кг, лінолевої – у траві чаберу садового – 1028 мг/кг. Серед насичених жирних кислот переважала пальмітинова кислота, вміст якої у різних видів знаходився у межах 1400–2512 мг/кг.

На основі проведеного ВЕРХ-аналізу у траві досліджуваних об'єктів встановлено компонентний вміст 22 амінокислот: 19 протеїногенних, серед яких 10 заміних і 9 незамінних, і 3 непротеїногенних. Як приклад наведено ВЕРХ хроматограму вільних амінокислот трави васильків американських (рис. 1).

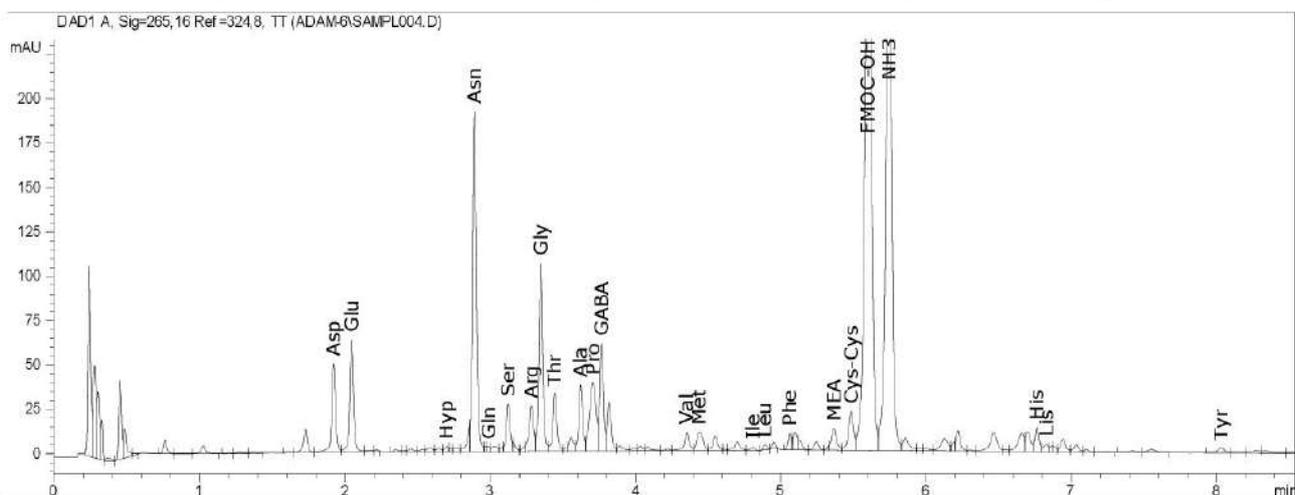


Рис. 1. ВЕРХ хроматограма амінокислот трави васильків американських

Найвищий сумарний вміст амінокислот визначено у траві видів роду Васильки – у межах від 1112,1 до 1319,0 мг/100 г. Серед замісних амінокислот у сировині усіх видів домінували аспарагін, пролін, аспарагінова і глутамінова кислоти; серед незамінних – аргінін та треонін. Максимальний вміст гліцину, який має доведені седативні властивості, виявлено у васильків американських – 98,7 мг/100 г. Фармакологічно активними є також глутамінова та γ -аміномасляна кислоти; їх найбільший вміст визначено у сировині васильків американських – 121,7 мг/100 г та 84,0 мг/100 г, відповідно.

Встановлено вміст фракцій полісахаридного комплексу у сировині досліджуваних об'єктів. У траві лофанту анісового виявлено найвищий вміст таких фракцій як водорозчинні полісахариди – $4,08 \pm 0,05$ %, пектинові речовини – $9,03 \pm 0,04$ % та геміцелюлоза А – $1,29 \pm 0,01$ %. За допомогою ТПХ-аналізу ідентифіковано мономерний склад полісахаридних фракцій трави рослин; методом ГХ/МС у траві васильків американських, монарди трубчастої, лофанту анісового та чаберу садового визначено вміст 8 вільних цукрів.

Методом атомно-абсорбційної спектрометрії встановлено особливості накопичення 13 елементів (Ca, K, Na, Mg, P, Fe, Mn, Cu, Zn, Cr, Ni, Cd і Pb) у траві 10 досліджуваних видів. Серед макроелементів у сировині усіх рослин домінував кальцій; його найвищий вміст спостерігали у траві гісопу лікарського – 58813 мг/кг. Найбільший вміст калію виявлено у траві васильків американських (26420 мг/кг) і монарди трубчастої (25140 мг/кг), магнію – у траві видів роду Васильки (8280–8930 мг/кг). Найвищий вміст заліза встановлено у сировині чаберу садового (326 мг/кг), марганцю – у видів роду Васильки (106–135 мг/кг), цинку – у монарди трубчастої (61,0 мг/кг). Кадмій та свинець, які належать до токсичних мікроелементів, у сировині досліджуваних рослин виявлено у слідових кількостях або вони взагалі були відсутні.

Отже, на основі використання сучасних інструментальних методів досліджень вперше встановлено компонентний склад і вміст основних груп БАР первинного синтезу, ароматичних кислот, макро- та мікроелементів у траві досліджуваних об'єктів.

Розділ 4. Експериментальні дослідження сполук вторинного синтезу у сировині досліджуваних рослин. На основі проведених скринінгових досліджень різних груп БАР вторинного синтезу у траві досліджуваних рослин ідентифіковано фенолкарбонові кислоти, ГКК, кумарини, флавоноїди, дубильні речовини, тритерпеноїди та ефірні олії.

Виявлено особливості накопичення ефірних олій залежно від періоду вегетації та використаної для досліджень частини рослин. З метою раціонального і комплексного використання надземної частини рослин визначено, що доцільними є використання як сировини їх трави, заготівлю якої слід проводити у період цвітіння. Серед досліджуваних 10 видів, у тому числі 4 форм рослин, найбільший вміст ефірної олії виявлено у траві монарди трубчастої – $1,87 \pm 0,05$ %, найменший – у траві змієголовника великоквіткового – $0,12 \pm 0,01$ % (рис. 2).

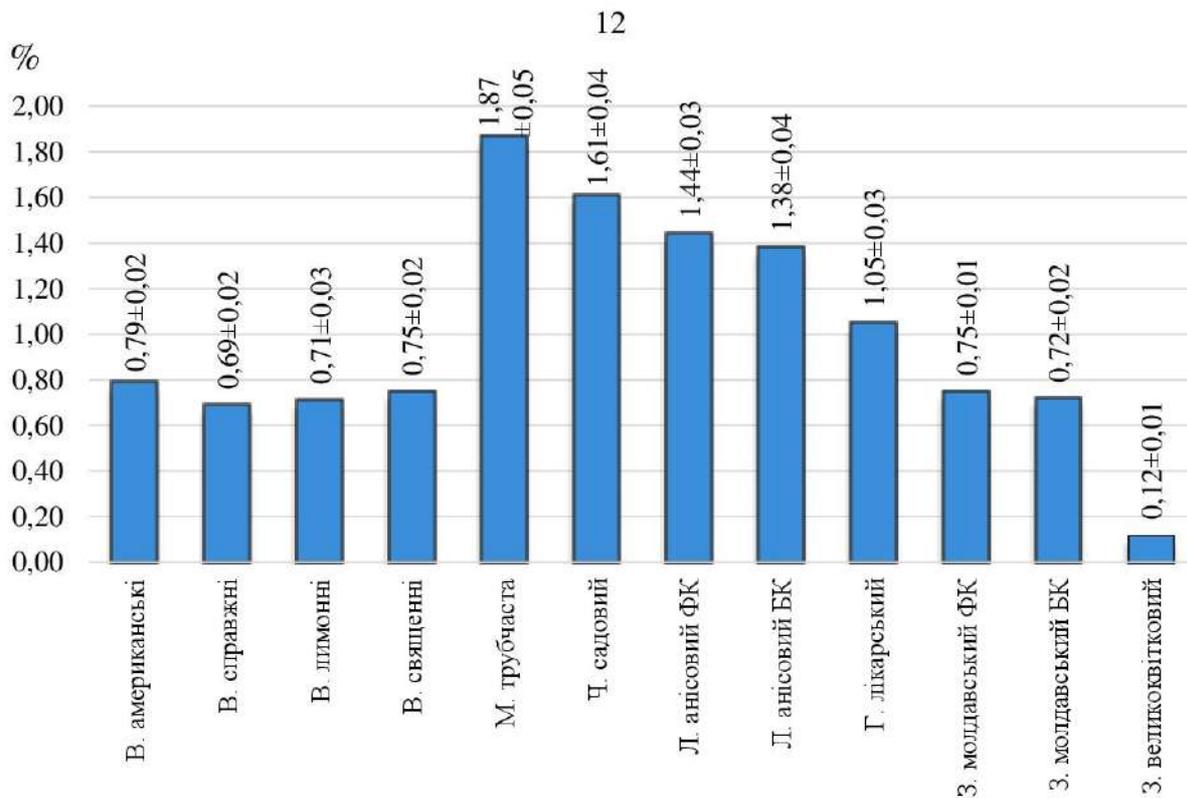


Рис. 2. Вміст ефірних олій у траві досліджуваних видів

У складі ефірних олій досліджуваних об'єктів методом ГХ/МС ідентифіковано від 21 (лофант анісовий БК) до 53 (васильки лимонні) сполук. В ефірних оліях двох форм (БК та ФК) лофанту анісового встановлено домінування ароматичної сполуки естраголу – 35,19 % і 32,16 %, відповідно, а також монотерпеноїдів пулегону – 21,76 % і 20,43 %, ізоментону – 16,98 % і 17,65 %, лимонену – 14,6 % і 11,95 %, відповідно. У БК та ФК форм змієголовника молдавського домінували монотерпеноїди: гераніацетат – 31,36 % і 41,08 %, гераніаль – 27,02 % і 18,25 %, нераль – 20,05 % і 18,85 %, відповідно. Варто відзначити, що гераніаль і нераль є ізомерами, у вигляді яких в ефірних оліях існує цитраль. Серед домінуючих сполук ефірної олії чаберу садового виявлено ароматичний спирт карвакрол – 76,16 % та монотерпеноїд γ -терпінен – 10,16 %; монарди трубчастої – ароматичні сполуки тимол – 42,01 % і *n*-цимен – 15,45 %; змієголовника великоквіткового – сесквітерпени β -бурбонен – 25,89 % і β -каріофілен – 10,57 % та ароматичний спирт карвакрол – 14,72 %; гісопа лікарського – монотерпеноїди ізопінокамфон – 34,16 %, пінокамфон – 16,96 % і β -пінен – 13,57 %. Ациклический монотерпеноїд ліналоол домінував у ефірній олії васильків американських – 49,84 %, васильків справжніх – 58,41 % і васильків лимонних – 39,49 %. В ефірній олії васильків священних переважали ароматичні монотерпеноїди еugenol 26,54 % і естрагол 13,02 %, а також сесквітерпен β -бісаболен 17,24 %.

Типову ГХ/МС хроматограму ефірної олії на прикладі чаберу садового представлено на рис. 3. Для кожного об'єкту встановлено характерний хроматографічний профіль та відстежено домінуючі і видоспецифічні сполуки, на основі чого визначено його хемотипові особливості. Всього в ефірних оліях

досліджуваних видів ідентифіковано 134 компоненти, більшість із яких є біологічно активними сполуками.

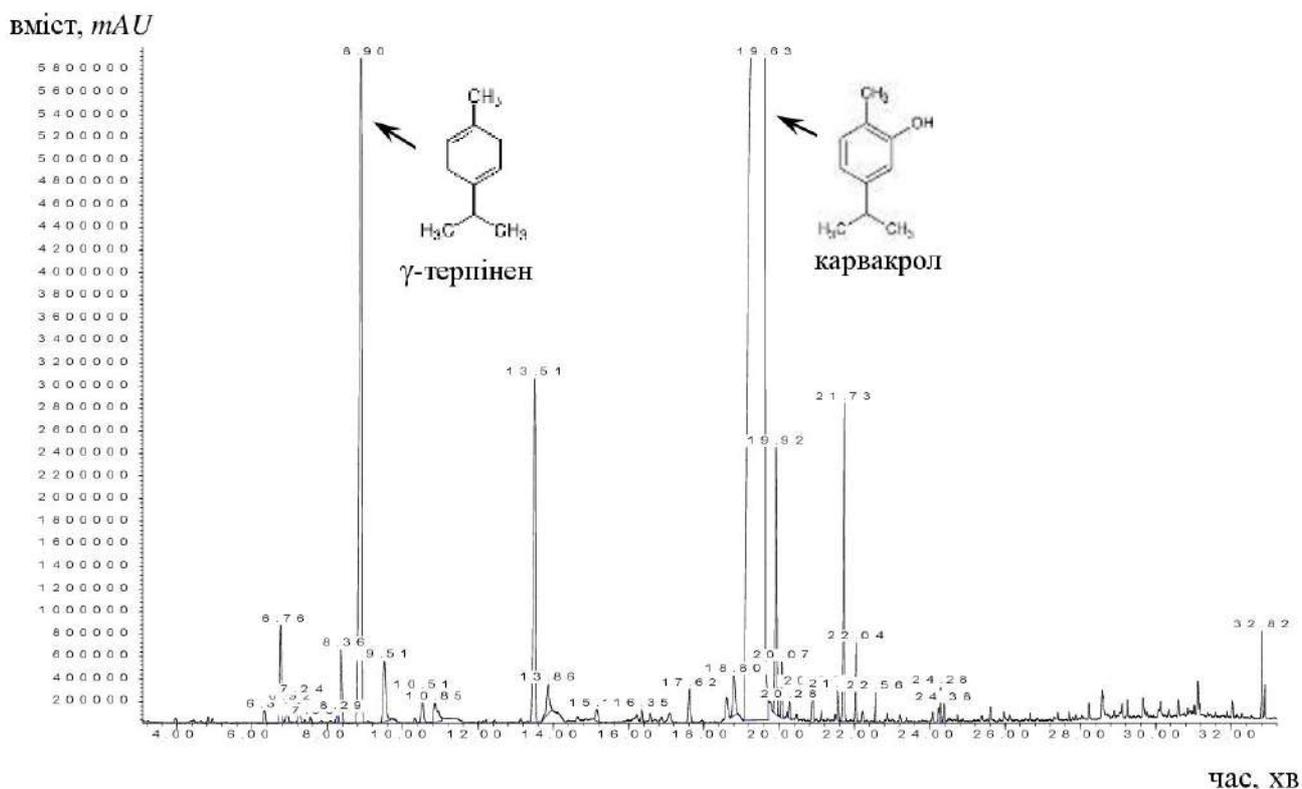


Рис. 3. ГХ/МС хроматограма ефірної олії чаберу садового

На основі аналізу отриманих результатів для подальшого аоглибленого фармакогностичного аналізу було визначено сировину п'яти найбільш перспективних видів підродини Котовникові: васильків американських, змієголовника молдавського (ФК), лофанту анісового (ФК), монарди трубчастої і чаберу садового. Вибір об'єктів здійснено на підставі аналізу вмісту і компонентного складу ефірної олії цих видів, окремих БАР вторинного й первинного синтезу, елементного складу сировини.

Визначено фізико-хімічні та органолептичні показники ефірних олій, отриманих із трави цих 5 видів. На основі ТПХ-аналізу ідентифіковано їх домінуючі компоненти та сукупність специфічних зон, характерних для сполук терпенової природи (рис. 4).

Методом ВЕРХ вперше визначено вміст 6 тритерпеноїдів у сировині досліджуваних видів (табл. 1; відносна похибка вимірювань не перевищувала 3,80 %). Як приклад наведено хроматограму ВЕРХ-аналізу тритерпеноїдів трави змієголовника молдавського (рис. 5). Встановлено, що домінуючими тритерпеновими сполуками сировини досліджуваних видів є урсолова та еускафова кислоти. Вміст суми тритерпеноїдів у сировині рослин, який було визначено спектрофотометрично у перерахунку на урсолову кислоту, знижувався у такій послідовності: лофант анісовий – $1,67 \pm 0,04$ % > монарда трубчаста – $1,42 \pm 0,04$ % > чабер садовий – $1,26 \pm 0,03$ % > змієголовник молдавський – $1,05 \pm 0,03$ % > васильки американські – $0,92 \pm 0,02$ %.

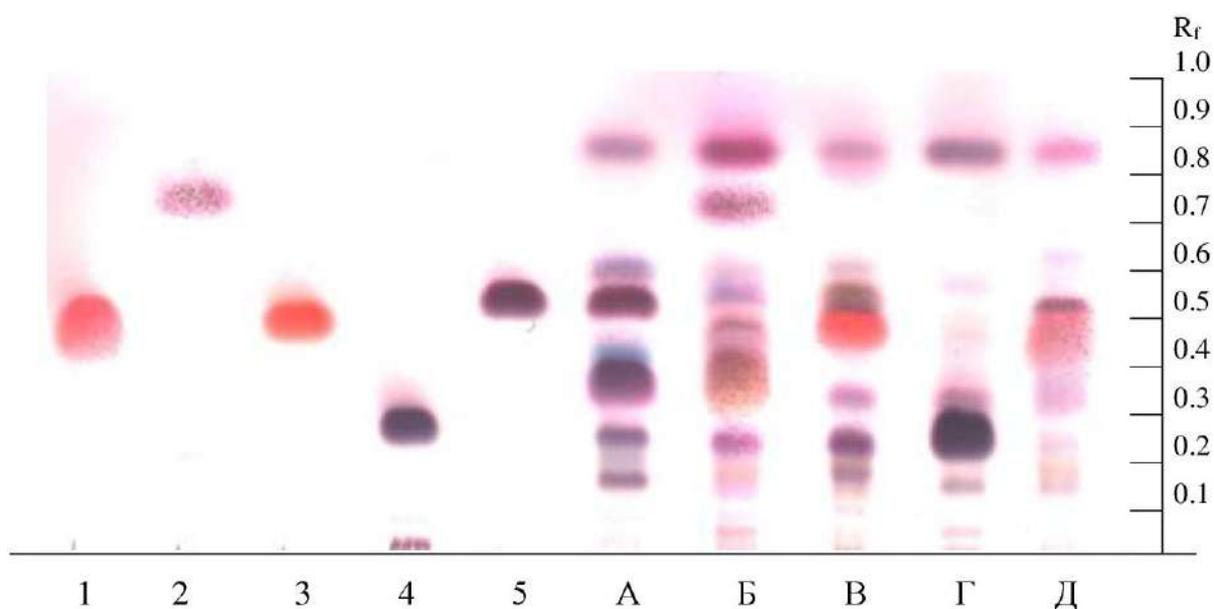


Рис. 4. ТЛХ хроматограми ефірних олій досліджуваних видів та СЗ терпеноїдів після дериватизації *анісового альдегіду розчином Р* при денному світлі: 1 – карвакрол, 2 – естрагол, 3 – тимол, 4 – ліналоол, 5 – геранілацетат; А – змієголовник молдавський, Б – лофант анісовий, В – монарда трубчаста, Г – васильки американські, Д – чабер садовий. Рухома фаза: *метиленхлорид Р*

Таблиця 1

Результати ВЕРХ-аналізу тритерпеноїдів у траві досліджуваних видів

Вид рослини	Концентрація етанолу (%)	Вміст сполуки, %					
		Урсолова кислота	Еускафова кислота	Торментинова кислота	Олеанолова кислота	Бетулін	Лулеол
Змієголовник молдавський	96	0,36	0,16	0,01	0,15	0,12	0,04
	70	0,14	0,26	0,02	0,14	0,13	<0,01
	50	0,03	0,07	<0,01	0,02	0,07	<0,01
Лофант анісовий	96	0,32	0,44	0,01	0,16	0,11	0,04
	70	0,21	0,39	0,03	0,13	0,12	<0,01
	50	0,02	0,08	0,01	0,02	0,09	<0,01
Монарда трубчаста	96	0,22	0,31	0,03	0,13	0,09	<0,01
	70	0,11	0,32	0,04	0,08	0,11	<0,01
	50	0,02	0,12	<0,01	0,01	0,05	<0,01
Васильки американські	96	0,19	0,21	0,03	0,14	0,06	0,05
	70	0,12	0,31	0,06	0,15	0,1	<0,01
	50	<0,01	0,06	0,01	<0,01	0,03	<0,01
Чабер садовий	96	0,14	0,49	0,03	0,05	0,06	0,01
	70	0,13	0,56	0,04	0,04	0,07	<0,01
	50	0,03	0,22	0,01	<0,01	0,02	<0,01

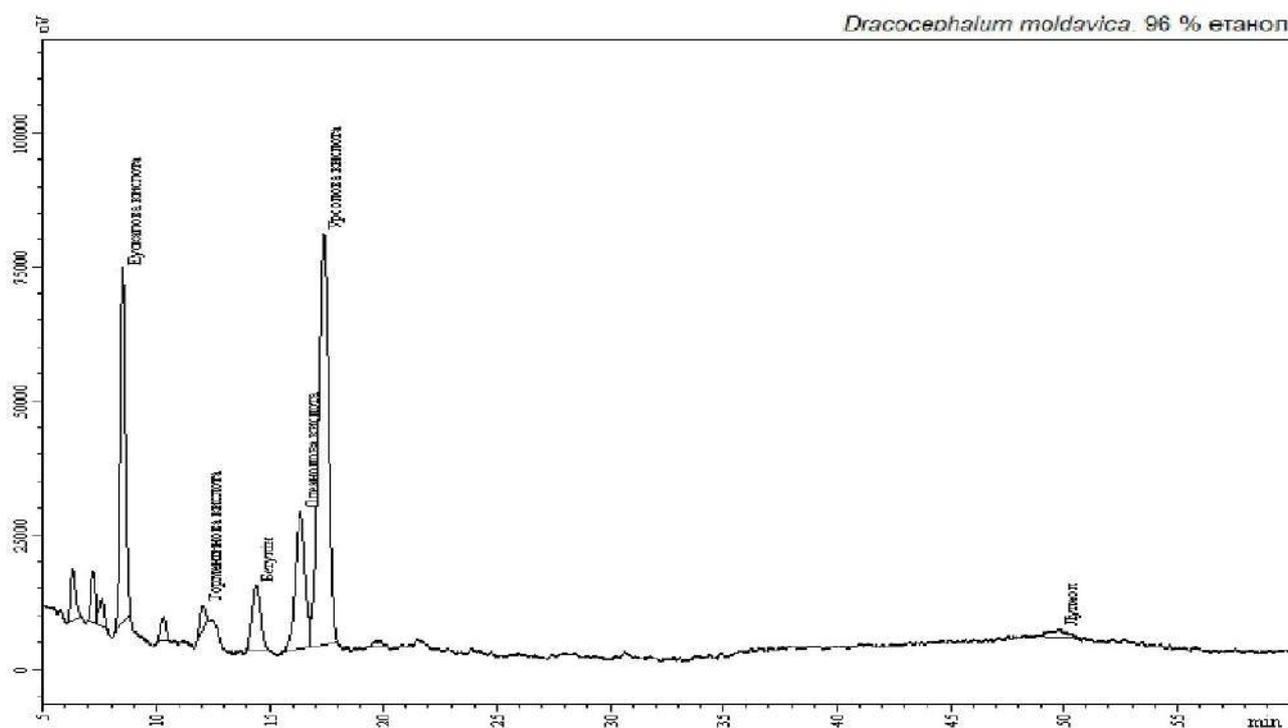


Рис. 5. ВЕРХ хроматограма тритерпеноїдів трави змієголовника молдавського; екстрагент – 96 % етанол

Ідентифікацію фенольних сполук здійснювали за допомогою якісних реакцій, ПХ, ТШХ, ВЕТШХ та ВЕРХ. При використанні автоматизованого обладнання ВЕТШХ визначено специфічне для сировини кожного із досліджуваних видів поєднання зон фенольних сполук – так звані «хроматографічні відбитки» (рис. 6). Наявність світло-блакитних смуг розмаринової кислоти встановлено на ВЕТШХ-хроматограмах усіх досліджуваних видів з використанням різних рухомих фаз; крім того, ідентифіковано менш видимі світло-блакитні зони кофейної кислоти. Слабко помітні блакитні зони хлорогенової кислоти виявлено лише на хроматограмах витягів трави лофанту анісового та монарди трубчастої. Характерні для флавоноїдів смуги із жовтою флуоресценцією були виявлені у різних ділянках хроматограм усіх досліджуваних видів.

На ВЕТШХ хроматограмі трави монарди трубчастої було виявлено найбільшу кількість неідентифікованих фенольних сполук (див. рис. 6), зокрема: насиченої блакитної, декількох світло-блакитних і жовтих флуоресцентних зон. У зв'язку з цим, її сировину визначено як найбільш перспективну щодо подальшого ізолювання індивідуальних компонентів фенольної природи і встановлення їх структури.

Для фракційного розділення та виділення індивідуальних компонентів використано 70 % етанольний витяг трави монарди трубчастої, з якого за допомогою рідинно-рідинної екстракції отримано хлороформну, етилацетатну, бутанольну і водну фракції. Методом колонкової адсорбційної хроматографії на силікагелі отримані фракції розділяли на ряд підфракцій, склад яких аналізували методом ВЕТШХ (рис. 7).

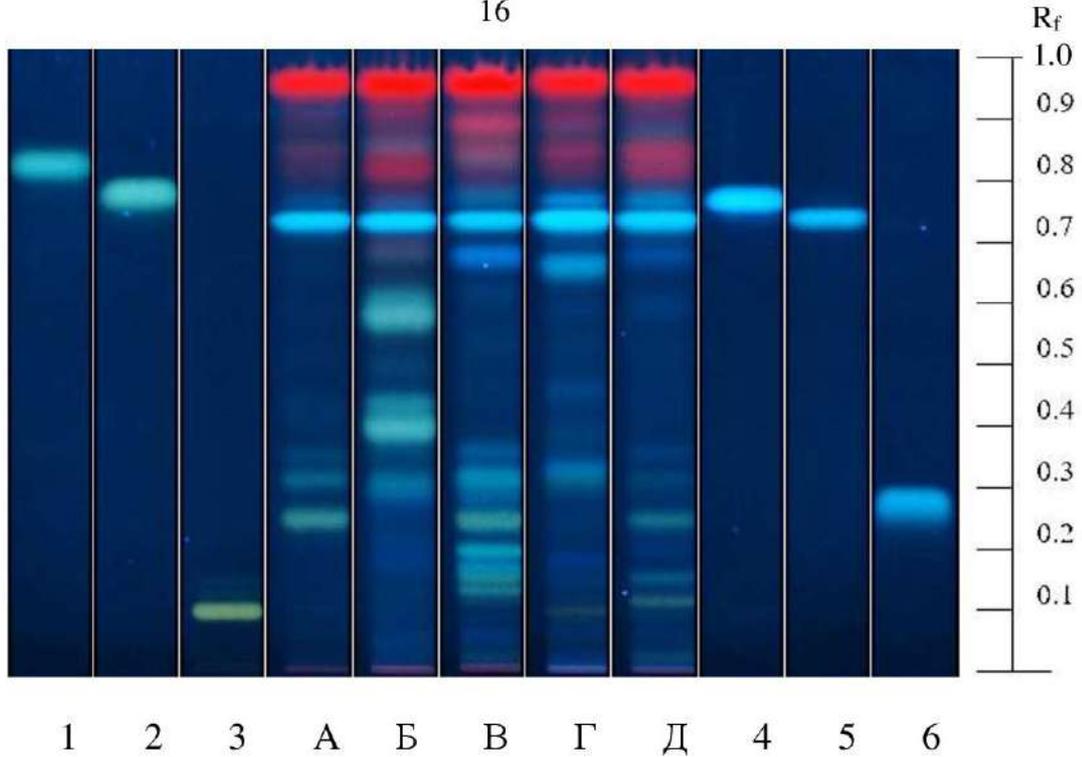


Рис. 6. ВЕТШХ хроматограми метанольних витягів трави досліджуваних видів та СЗ фенольних сполук після дериватизації 1 % AlCl_3 : 1 – апігенін, 2 – лютеолін, 3 – рутин, 4 – кофейна кислота, 5 – розмаринова кислота, 6 – хлорогенова кислота; А – з. молдавський, Б – л. анісовий, В – м. трубчаста, Г – в. американські, Д – ч. садовий; УФ-світло, $\lambda=366$ нм. Рухома фаза: *етилацетат P – мурашина кислота P – вода P* (15:1:1)

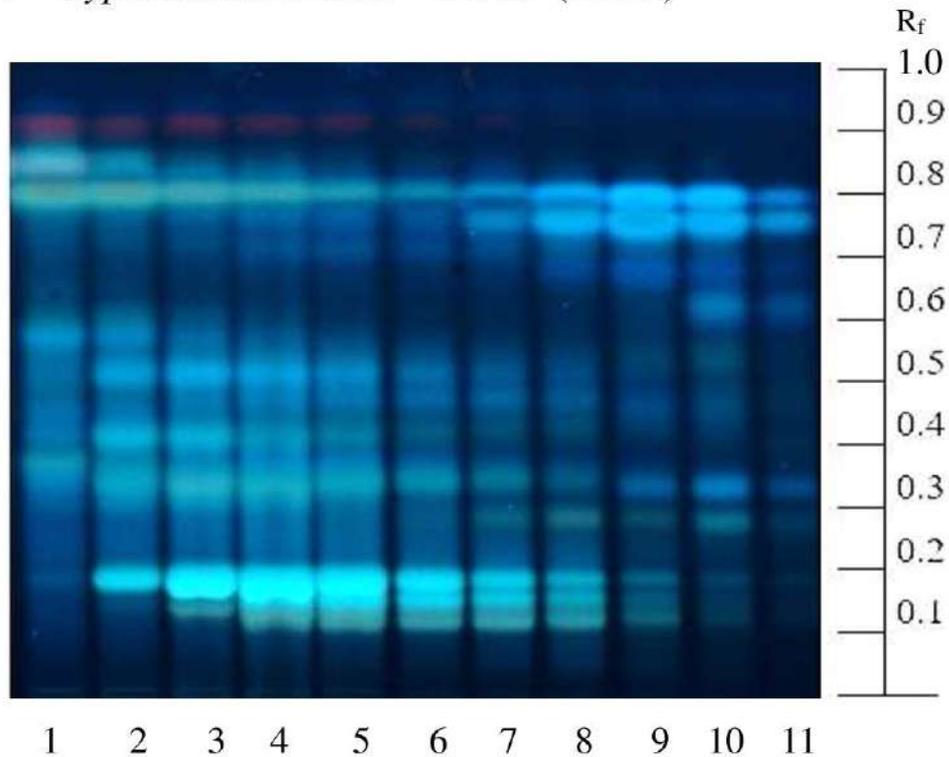


Рис. 7. ВЕТШХ хроматограми окремих підфракцій етилацетатної фракції 70 % етанольного витягу трави монарди трубчастої після дериватизації 1 % розчином AlCl_3 : 1 – № 37; 2 – № 38; 3 – № 39; 4 – № 40; 5 – № 41; 6 – № 42; 7 – № 43; 8 – № 44; 9 – № 45; 10 – № 46; 11 – № 47; УФ-світло, $\lambda=366$ нм. Рухома фаза: *етилацетат P – мурашина кислота P – вода P* (15:1:1)

Шляхом застосування препаративної ВЕТШХ і кристалізації з окремих підфракцій отриманих фракцій витягу трави монарди трубчастої вперше виділено 6 індивідуальних сполук (дослідження проведені у лабораторіях кафедри аналітичної та екологічної хімії Опольського університету, Польща). Структуру 4 із виділених сполук – розмаринової та кофейної кислот, рутину і β -ситостеролу – доведено за даними УФ-спектрофотометрії, ^1H і ^{13}C ЯМР спектроскопії, мас-спектрометрії, температури плавлення та порівнянням із відповідними СЗ сполук (результати наведені у п. 4.5 та додатку В дисертації).

Вперше розроблено ВЕТШХ методикау денситометричного аналізу вмісту розмаринової кислоти у метанольних витягах трави досліджуваних об'єктів, яку валідовано за показниками лінійності, точності, меж виявлення і кількісного визначення. Встановлено, що вміст розмаринової кислоти у траві рослин знижувався у такій послідовності: змієголовник молдавський – $24,83 \pm 0,78$ мг/г > монарда трубчаста – $20,32 \pm 0,64$ мг/г > васильки американські – $19,59 \pm 0,61$ мг/г > чабер садовий – $18,77 \pm 0,52$ мг/г > лофанг анісовий – $12,61 \pm 0,43$ мг/г.

У результаті ВЕРХ-аналізу флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у 70 % етанольних витягах сировини усіх досліджуваних видів встановлено домінування розмаринової кислоти; серед флавоноїдів переважали похідні флавону – апігенін, лютеолін та їх глюкозиди (табл. 2; відносна похибка вимірювань не перевищувала 4,12 %). Як приклад наведено ВЕРХ хроматограму фенольних сполук трави монарди трубчастої (рис. 8).

Таблиця 2

Результати ВЕРХ-аналізу флавоноїдів і гідроксикоричних кислот

Назва сполуки	Час утримання, хв	Вміст, %				
		Змієголовник молдавський	Чабер садовий	Васильки американські	Лофанг анісовий	Монарда трубчаста
Флавоноїди						
Рутин	30,9	0,05	0,02	0,29	0,03	0,07
Гіперозид	31,6	0,12	0,09	0,18	0,11	0,05
Лютеолін-7-О-глюкозид	33,1	0,13	0,34	0,48	0,31	1,89
Апігенін-7-О-глюкозид	36,8	0,67	0,56	0,13	0,71	0,18
Акацетин-7-О-глюкозид	45,8	0,05	0,08	0,09	0,01	0,31
Кверцетин	46,6	0,03	0,06	0,08	0,06	<0,01
Лютеолін	47,0	0,06	0,11	0,21	0,12	0,28
Апігенін	52,4	0,29	0,19	0,06	0,22	0,14
Гідроксикоричні кислоти						
Неохлорогенова	14,8	0,05	0,03	<0,01	0,09	0,16
Хлорогенова	20,4	0,08	0,06	0,02	0,19	0,32
Кофейна	21,6	0,28	0,21	0,12	0,36	0,49
Ферулова	32,3	0,09	0,11	0,28	0,06	0,01
Розмаринова	37,8	3,01	2,14	2,23	1,79	2,28

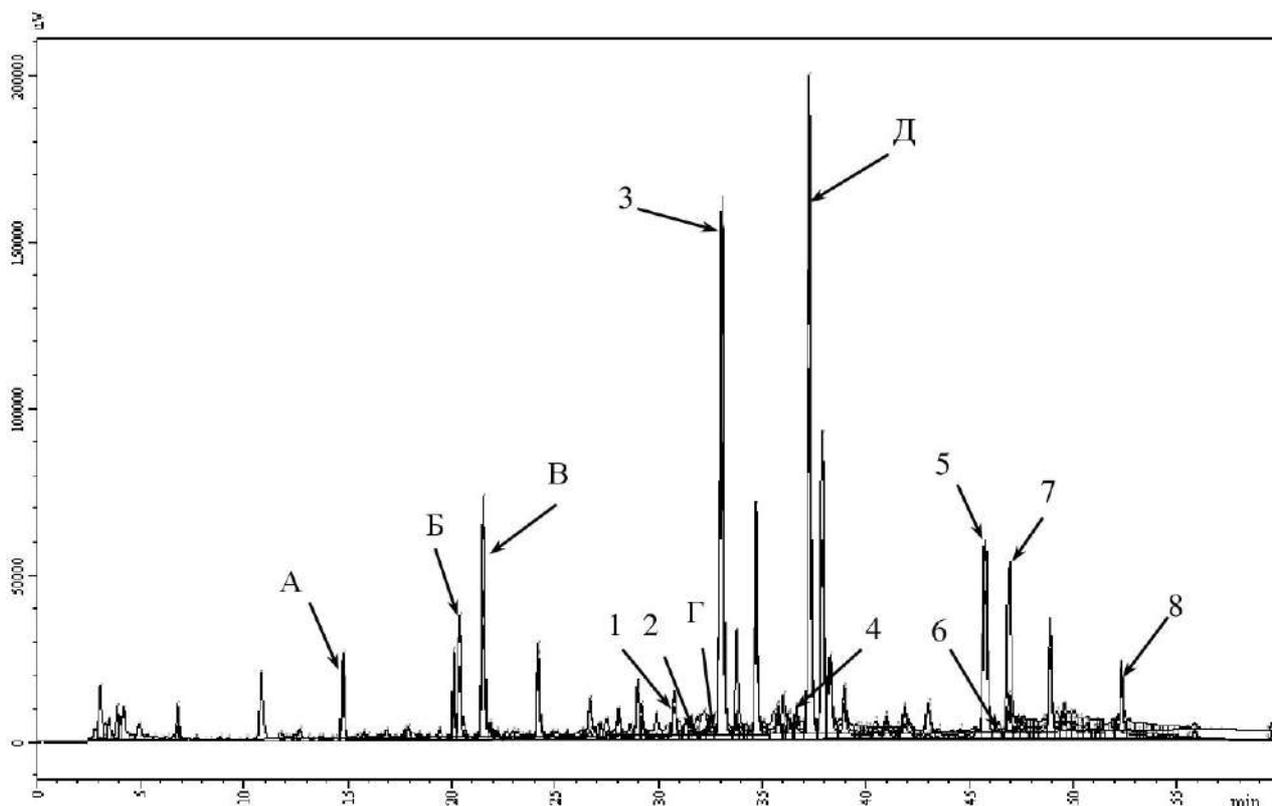


Рис. 8. ВЕРХ хроматограма фенольних сполук 70 % етанольного витягу трави монарди трубчастої: А – неохлорогенова кислота; Б – хлорогенова кислота; В – кофейна кислота; Г – ферулова кислота; Д – розмаринова кислота; 1 – рутин; 2 – гіперозид; 3 – лютеолін-7-*O*-глюкозид; 4 – апігенін-7-*O*-глюкозид; 5 – акацетин-7-*O*-глюкозид; 6 – кверцетин; 7 – лютеолін; 8 – апігенін

Методом ВЕРХ у 60 % метанольних витягах трави васильків американських, лофанту анісового та чаберу садового виявлено незначний вміст кумаринових сполук – скополетину (0,03, 0,02 і 0,19 %, відповідно) та кумарину (0,04, 0,04 і 0,01 %, відповідно).

Визначення сумарного вмісту ГКК проводили спектрофотометрично, у перерахунку на розмаринову кислоту; їх вміст при аналізі 50 % етанольних витягів трави рослин знижувався в такому порядку: монарда трубчаста – $3,63 \pm 0,05$ % > зміголовник молдавський – $3,57 \pm 0,07$ % > чабер садовий – $3,49 \pm 0,06$ % > васильки американські – $2,96 \pm 0,05$ % > лофант анісовий – $2,17 \pm 0,04$ %. Дослідження сумарного вмісту флавоноїдів здійснювали методом спектрофотометрії з використанням 70 % етанольних витягів сировини після кислотного гідролізу. Сумарний вміст флавоноїдів, у перерахунку на апігенін, у траві чаберу садового становив $1,98 \pm 0,05$ %, зміголовника молдавського – $1,87 \pm 0,04$ %, лофанту анісового – $1,34 \pm 0,03$ %. Для трави монарди трубчастої і васильків американських він склав $2,87 \pm 0,06$ % та $1,45 \pm 0,03$ %, відповідно (у перерахунку на лютеолін).

Компонентний склад дубильних речовин досліджено на основі ВЕРХ-аналізу водних витягів трави васильків американських, лофанту анісового і чаберу садового. Визначено похідні флаван-3-олу; найбільший вміст цих сполук виявлено у траві чаберу садового, а саме: 1,31 % епігалокатехіну, 0,74 %

галокатехіну, 0,47 % епікатехіну, 0,35 % катехіну та 0,31 % епікатехіну галату. Аналіз вмісту суми поліфенолів у водних витягах сировини, який визначали у перерахунку на пірогалол, знижувався у такій послідовності: змієголовник молдавський – $7,96 \pm 0,06$ % > чабер садовий – $6,99 \pm 0,11$ % > монарда трубчаста – $5,97 \pm 0,09$ % > васильки американські – $3,89 \pm 0,1$ % > лофант анісовий – $3,61 \pm 0,08$ %.

Максимальний вихід ліпофільної фракції, отриманої із сировини досліджуваних видів вичерпною екстракцією хлороформом в апараті Сокслета, встановлено для трави монарди трубчастої – $8,78 \pm 0,21$ %, далі він знижувався у такій послідовності: змієголовник молдавський – $7,62 \pm 0,18$ % > чабер садовий – $7,12 \pm 0,15$ % > васильки американські – $7,05 \pm 0,16$ % > лофант анісовий – $5,36 \pm 0,09$ %. Методом спектрофотометрії проаналізовано вміст хлорофілів та каротиноїдів у одержаних ліпофільних фракціях; найвищим він був у змієголовника молдавського – $1,08 \pm 0,05$ % і $0,51 \pm 0,01$ %, відповідно.

Отримані результати фітохімічного аналізу дали змогу теоретично узагальнити та науково обґрунтувати необхідність стандартизації сировини перспективних видів підродина Котовникові – васильків американських, змієголовника молдавського, лофанту анісового, монарди трубчастої і чаберу садового, розробки на їх основі ЛРЗ і вивчення їх фармакологічної активності.

Розділ 5. Морфолого-анатомічна характеристика сировини досліджуваних видів та розробка нормативної документації на сировину. На основі проведеного макро- і мікроскопічного аналізу визначено комплекс діагностичних морфолого-анатомічних ознак трави (стебел, листків, квіток і суцвіть) досліджуваних видів. Як приклад проілюстровано особливості морфолого-анатомічної будови сировини монарди трубчастої та васильків американських (рис. 9, 10). Встановлено, що відмінними ознаками сировини кожного із досліджуваних видів є особливості форми стебел на поперечному перерізі та розташування у них провідних і механічних тканин; будова і розміщення трихом епідерми; локалізація продихів; структура мезофілу листка; форма, забарвлення, характер опушення частин квітки тощо. Отримані дані рекомендовано враховувати у ході ідентифікації та стандартизації сировини досліджуваних видів.

З'ясовано, що чотиригранні стебла, які є характерною ознакою Глухокропивових, у досліджуваних видів відрізняються за особливостями форми на поперечному перерізі. У лофанту анісового стебла з більш-менш рельєфними широкими ребрами і заглибленими міжреберними ділянками, особливо в ділянці суцвіть; у монарди трубчастої у верхній частині стебел помітні виступаючі ребра і виїмчасті міжреберні ділянки, тоді як у їх нижній частині ребра поступово згладжуються і стебла стають майже округлими. Стебла васильків американських мають найбільш виражені вузькі булавоподібні виступаючі ребра, тоді як у чаберу садового стебла по всій довжині на поперечних зрізах майже округлі або з малопомітними реберними виступами.

Листкова пластинка монарди трубчастої має дорзовентральну будову; у лофанту анісового у центральній частині листок дорзовентральний, а ближче до краю пластинки він поступово змінюється на ізолатеральний. Анатомічна будова

листяної пластинки васильків американських ізолатеральна або невиразно диференційована; мезофіл, в основному, гомогенний, складається з великих округлих клітин, заповнених хлоропластами.

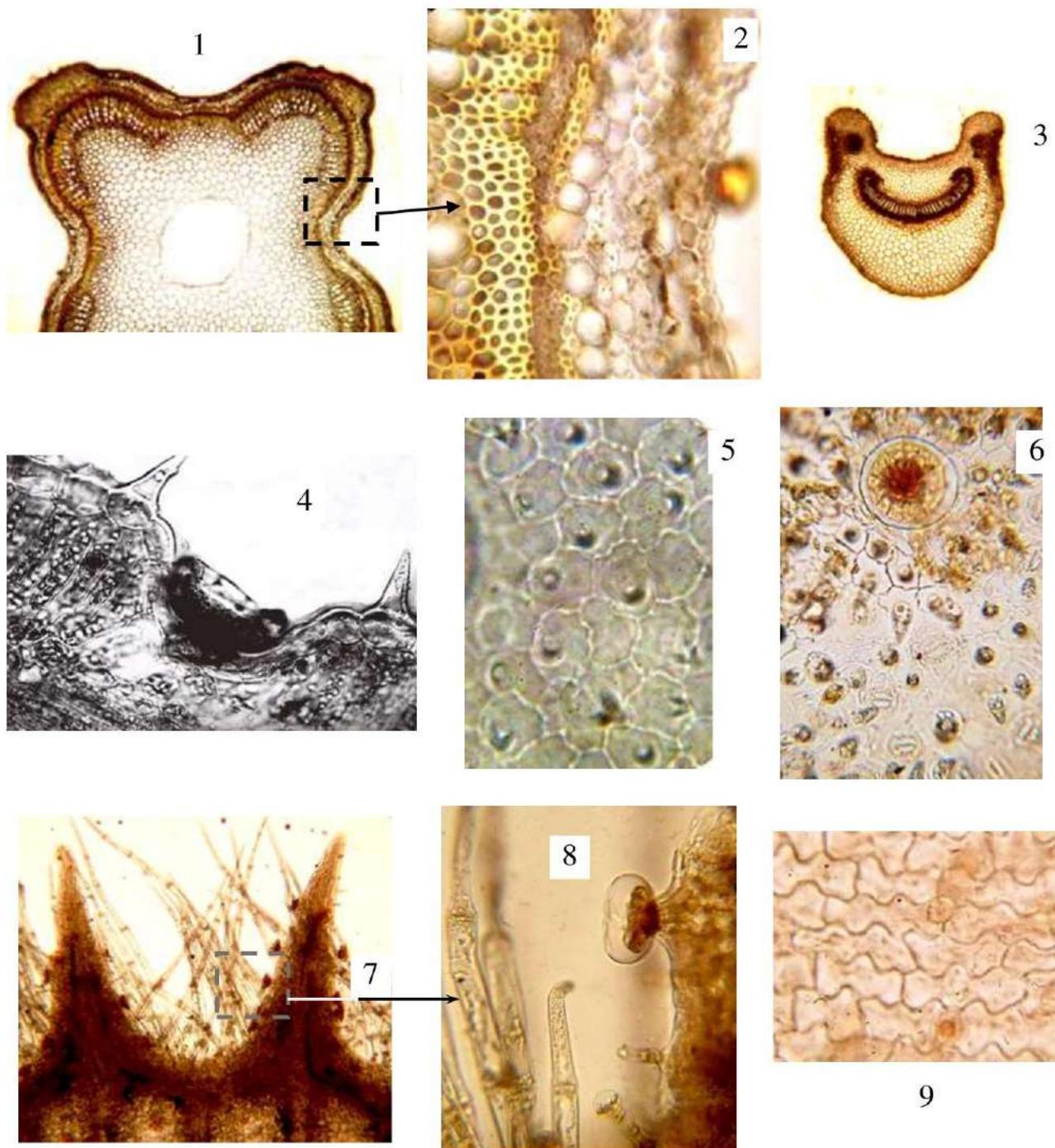


Рис. 9. Морфолого-анатомічні ознаки трави монарди трубчастої (збільшення 40×–400×): 1 – поперечний зріз стебла та його фрагмент (2); 3 – поперечний зріз черешка листка; 4 – фрагмент поперечного зрізу листкової пластинки; 5 – поверхневий препарат верхньої епідерми листка; 6 – поверхневий препарат нижньої епідерми листка; 7 – зубці чашечки квітки; 8 – фрагмент чашечки з криючими та залозистими трихомами, 9 – епідерма трубки віночка (з поверхні)

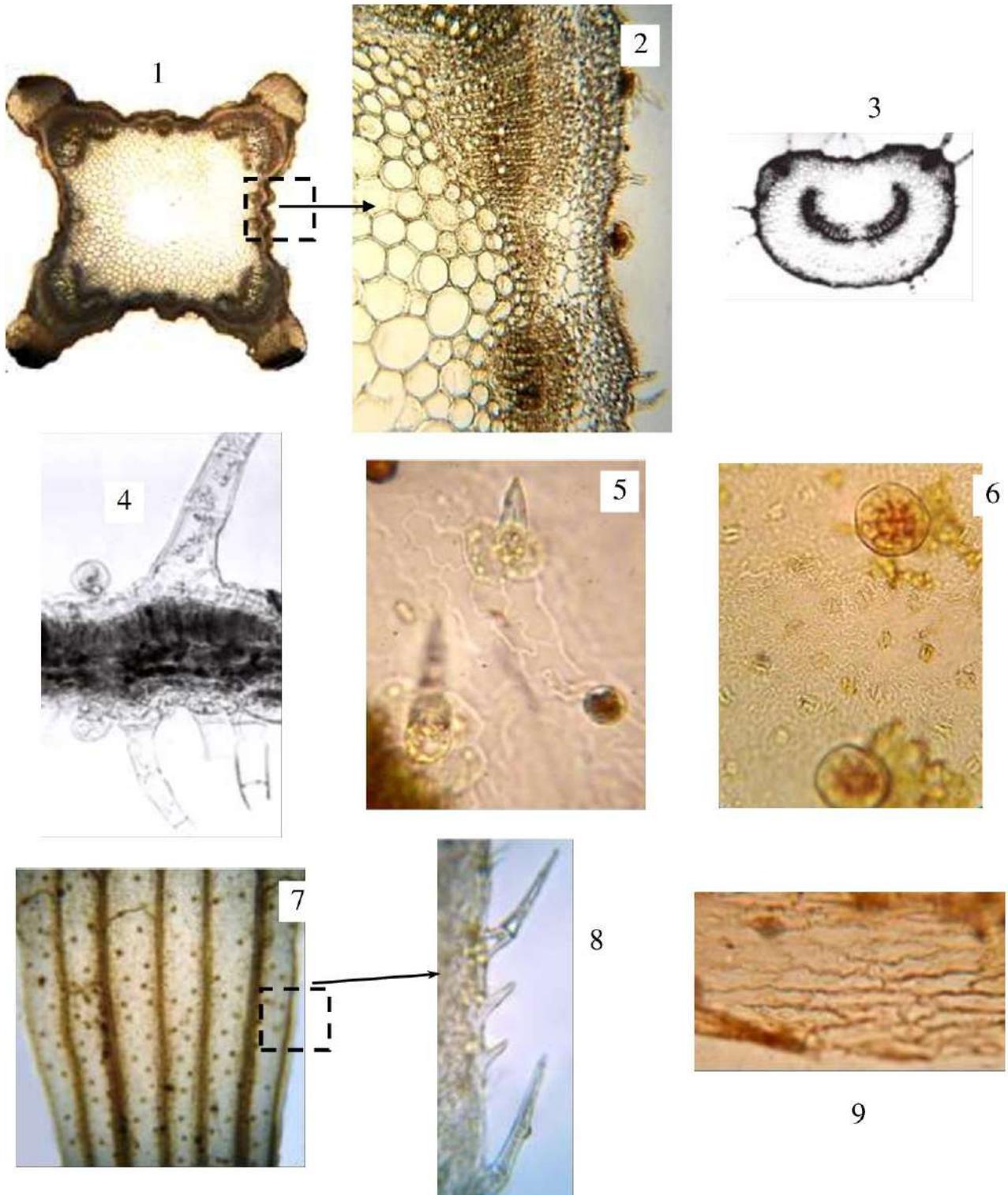


Рис. 10. Морфолого-анатомічні ознаки трави васильків американських (збільшення 40×–400×): 1 – поперечний зріз стебла та його фрагмент (2); 3 – поперечний зріз черешка листка; 4 – поперечний зріз листкової пластинки; 5 – верхня епідерма листка з криючими трихомами; 6 – нижня епідерма листка із залозками; 7 – трубка чашечки квітки з трихомами; 8 – фрагмент краю чашечки з криючими трихомами; 9 – епідерма трубки віночка (з поверхні)

Листок чаберу садового має ізолатеральну будову: стовпчаста паренхіма розташована переважно одним шаром під верхньою і нижньою епідермою листкової пластинки, а губчаста локалізована у центральній частині мезофілу. Продихи у досліджуваних видів діацитного типу, розташовані в епідермі обох сторін листкової пластинки (крім монарди трубчастої, в якій продихи у верхній епідермі відсутні), проте кількісно переважають знизу. Спільною ознакою об'єктів досліджень є те, що базисні клітини нижньої епідерми листків мають тонші та більш звивисті стінки, ніж верхньої.

Встановлено, що обидві сторони листкової пластинки досліджуваних видів, її край та черешки листків опушені простими і залозистими волосками; в епідермі наявні ефіроолійні залозки радіального типу. Ефіроолійні залозки епідерми лофанту анісового великі, з 8 секреторними клітинами голівки, які заповнені жовтувато-бурым вмістом; вони густіше локалізовані у нижній епідермі, ніж у верхній. Характерною особливістю залозок монарди трубчастої є їхня заглибленість відносно поверхні листка та специфічна будова голівки, що складається із 14–18 вузьких радіально розміщених клітин з оранжево-бурым секретом. Залозки чаберу садового заповнені жовтувато-бурым вмістом, дещо занурені у листкову пластинку, мають голівку з товстою кутикулою, у якій розміщені 4 дрібні клітини у центрі і 8 більших на периферії. У васильків американських залозки локалізовані на одному рівні з епідермальними клітинами або злегка занурені, з бурувато-жовтою кулястою 8-клітинною голівкою і короткою ніжкою. Відрізняються досліджувані види також особливостями будови і локалізації простих та залозистих волосків епідерми.

При розробці параметрів стандартизації сировини досліджуваних видів визначено їх діагностичні морфолого-анатомічні ознаки, здійснено ідентифікацію і аналіз вмісту основних БАР, визначення втрати в масі при висушуванні, вміст загальної золи і золи, нерозчинної в кислоті хлористоводневій. Визначені показники доброякісності сировини досліджуваних об'єктів внесено до відповідних проєктів МКЯ: «Лофанту анісового (фіолетовоквіткова форма) трава», «Монарди трубчастої трава», «Васильків американських трава», «Чаберу садового трава» та «Змієголовника молдавського (фіолетовоквіткова форма) трава». Вивчено основні технологічні параметри вищенаведеної сировини.

Розділ 6. Розробка та стандартизація лікарських засобів на основі сировини досліджуваних рослин. Визначено оптимальні параметри екстрагування сировини досліджуваних видів з метою максимального вилучення БАР із доведеною терапевтичною активністю. Ефективність екстракції БАР встановлювали у залежності від вибору екстрагенту (вода або різні концентрації етанолу); тривалості та кратності процесу екстракції; співвідношення сировини та екстрагенту; температурного режиму тощо.

На основі цих досліджень вперше запропоновано технологічні схеми отримання нових ЛРЗ: настоек із трави змієголовника молдавського та васильків американських – з додаванням 0,5 % ефірної олії цих рослин (ЗНЕО та

ВНЕО, відповідно); густого екстракту з трави чаберу садового; сухих екстрактів з трави лофанту анісового, монарди трубчастої та васильків американських.

Реалізовано комплексний підхід до переробки сировини васильків американських і монарди трубчастої шляхом використання витягу та шроту сировини після гідродистиляції. Це дало змогу після вилучення ефірної олії з трави цих рослин отримати сухі екстракти із значним вмістом поліфенолів.

Методом ВЕРХ визначено компонентний вміст флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у розроблених ЛРЗ (табл. 3; відносна похибка вимірювань – не більше 3,95 %). Встановлено, що розмаринова кислота була домінуючим компонентом усіх отриманих екстрактів – так само, як і сировини досліджуваних рослин (див. табл. 2). Серед флавоноїдів у отриманих екстрактах переважали похідні флавону – лютеолін-7-О-глюкозид і апігенін-7-О-глюкозид. У настойках із трави змієголовника молдавського (ЗН) та васильків американських (ВН) також встановлено переважання розмаринової кислоти, вміст якої склав 0,31 % та 0,22 %, відповідно.

Таблиця 3

Результати ВЕРХ-аналізу флавоноїдів і гідроксикоричних кислот у екстрактах з трави досліджуваних видів

Назва сполуки	Час утримання, хв	Вміст у екстракті, %			
		чаберу садового (густий)	васильків американськ их (сухий)	лофанту анісового (сухий)	монарди трубчастої (сухий)
Флавоноїди					
Рутин	30,9	0,07	1,12	0,14	0,21
Гіперозид	31,6	0,32	0,63	0,32	0,19
Лютеолін-7-О-глюкозид	33,1	1,19	1,72	1,37	7,63
Апігенін-7-О-глюкозид	36,8	1,98	0,56	2,92	0,69
Акацетин-7-О-глюкозид	45,8	1,14	0,35	0,05	0,99
Кверцетин	46,6	0,16	0,22	0,23	<0,01
Лютеолін	47,0	0,40	0,78	0,39	0,95
Апігенін	52,4	0,72	0,19	0,81	0,51
Гідроксикоричні кислоти					
Неохлорогенова	14,8	0,13	0,03	0,24	0,56
Хлорогенова	20,4	0,22	0,09	0,19	1,13
Кофейна	21,6	0,82	0,41	0,95	2,16
Ферулова	32,3	0,46	0,82	0,17	0,05
Розмаринова	37,8	8,68	7,87	7,32	9,12

Проведено спектрофотометричний аналіз сумарного вмісту ГКК в отриманих екстрактах та настойках – у перерахунку на розмаринову кислоту як домінуючу сполуку. У густому екстракті з трави чаберу садового вміст суми ГКК

склав $10,75 \pm 0,17$ %, сухому екстракті з трави васильків американських – $8,35 \pm 0,19$ %, сухому екстракті з трави лофанту анісового – $9,02 \pm 0,23$ %, сухому екстракті з трави монарди трубчастої – $13,62 \pm 0,22$ %. Останній визначено як найбільш оптимальне джерело отримання ГКК.

З метою вивчення перспективності застосування трави досліджуваних рослин для приготування настоїв (чаїв) здійснено визначення у них вмісту суми поліфенолів, у перерахунку на галової кислоти еквівалент (ГКЕ), який знижувався у такій послідовності (ГКЕ/мл): змієголовник молдавський – $1,63 \pm 0,05$ > чабер садовий – $1,11 \pm 0,03$ > монарда трубчаста – $1,0 \pm 0,05$ > васильки американські – $0,73 \pm 0,01$ > лофант анісовий – $0,69 \pm 0,02$.

За результатами проведених досліджень визначено параметри стандартизації та розроблено проекти МКЯ нових ЛРЗ: «Змієголовника молдавського настойки», «Чаберу садового екстракту густого», «Лофанту анісового екстракту сухого», «Монарди трубчастої екстракту сухого» і «Васильків американських екстракту сухого». Запропоновано параметри стандартизації ефірних олій досліджуваних рослин та розроблено відповідні проекти МКЯ. Як приклад, наведено ВЕТШХ хроматограми зразків ефірної олії (рис. 11) і сухого екстракту з трави монарди трубчастої (рис. 12), які використано для їх ідентифікації при визначенні показників їх якості.

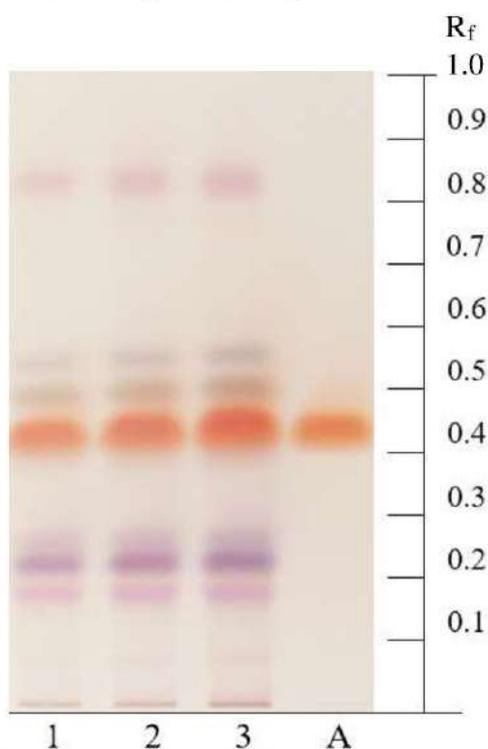


Рис. 11. ВЕТШХ хроматограма зразків ефірної олії монарди трубчастої (1–3) та СЗ тимолу (А) після дериватизації анісового альдегіду розчином *P* при денному світлі. Рухома фаза: *толуол P* – *етилацетат P* (95:5)

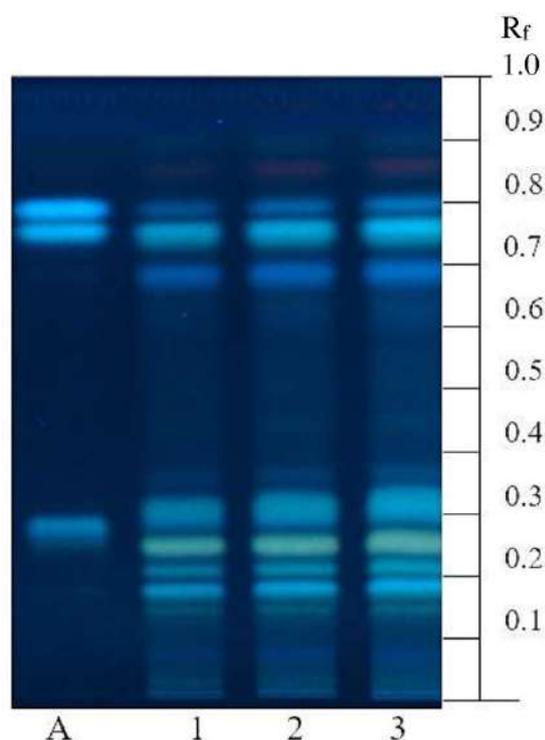


Рис. 12. ВЕТШХ хроматограма зразків сухого екстракту з трави монарди трубчастої (1–3) та СЗ хлорогенової, розмаринової та кофейної кислот (А, перелічені у напрямі зростання значень R_f) після дериватизації 1% $AlCl_3$; УФ світло ($\lambda=366$ нм). Рухома фаза: *етилацетат P* – *мурашина кислота P* – *вода P* (15:1:1)

Проект МКЯ «Чаберу садового ефірна олія» апробовано в умовах виробництва товариства з обмеженою відповідальністю «Косметико-фармацевтична компанія «Грін Фарм Косметик»». Розроблену технологічну схему виробництва густого екстракту із трави чаберу садового перевірено на відтворюваність в промислових умовах хіміко-фармацевтичного заводу «Червона зірка», сухого екстракту з трави васильків американських – в умовах виробництва товариства з обмеженою відповідальністю «Тернофарм».

Розділ 7. Дослідження фармакологічної активності лікарських засобів, одержаних на основі сировини досліджуваних рослин. В умовах *in vitro* встановлено антибактеріальну та антигрибкову активність ефірних олій досліджуваних видів щодо стандартних штампів хвороботворних мікроорганізмів із американської колекції типових культур (АТСС). Використано методи «колодязів» (табл. 4) та серійних розведень. Встановлено, що ефірні олії усіх досліджуваних видів мали інгібуючий вплив, у першу чергу, на життєдіяльність *Staphylococcus aureus* та *Candida albicans*. Найбільш виражений антимікробний ефект виявили ефірні олії монарди трубчастої, чаберу садового та лофанту анісового, у складі яких домінували ароматичні монотерпеноїди – тимол, карвакрол і естрагол, відповідно.

Таблиця 4

Результати вивчення антибактеріальної та антигрибкової активностей ефірних олій (10 мг/мл) досліджуваних видів методом «колодязів»

Вид рослини	Діаметр затримки росту мікроорганізму, мм				
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC9027	<i>Candida albicans</i> ATCC885-653
Змієголовник молдавський	–	–	18,3±0,23	–	16,4±0,32
Лофант анісовий	12,3±0,19	–	28,8±0,31	11,6±0,11	24,1±0,31
Монарда трубчаста	21,2±0,22	14,3±0,14	32,6±0,52	10,7±0,22	18,2±0,33
Васильки американські	9,5±0,23	–	18,3±0,31	–	19,2±0,42
Чабер садовий	–	22,4±0,55	21,1±0,34	18,8±0,23	15,3±0,32
Гентаміцин	16,8±0,21	23,5±0,14	20,4±0,23	19,1±0,22	–
Флуконазол	–	–	–	–	26,3±0,21
ДМСО	–	–	–	–	–

Примітка. "–" – не було затримки росту мікроорганізму

У результаті вивчення антиоксидантної активності настоїв із сировини досліджуваних рослин в умовах *in vitro* встановлено (рис. 13), що вона знижувалась у такому порядку, відповідно до здатності інгібувати активний вільний радикалДФПГ на 50% (IC₅₀, мг/мл): змієголовник молдавський – 0,64±0,01 > чабер садовий – 0,89±0,03 > монарда трубчаста – 0,92±0,02 > васильки американські – 0,96±0,02 > лофант анісовий – 1,0±0,03. Встановлено

кореляційні взаємозв'язки між вмістом суми фенольних сполук у досліджуваних настоях і їх антиоксидантною активністю. Ефірні олії досліджуваних рослин виявили порівняно невисоку антиоксидантну активність.

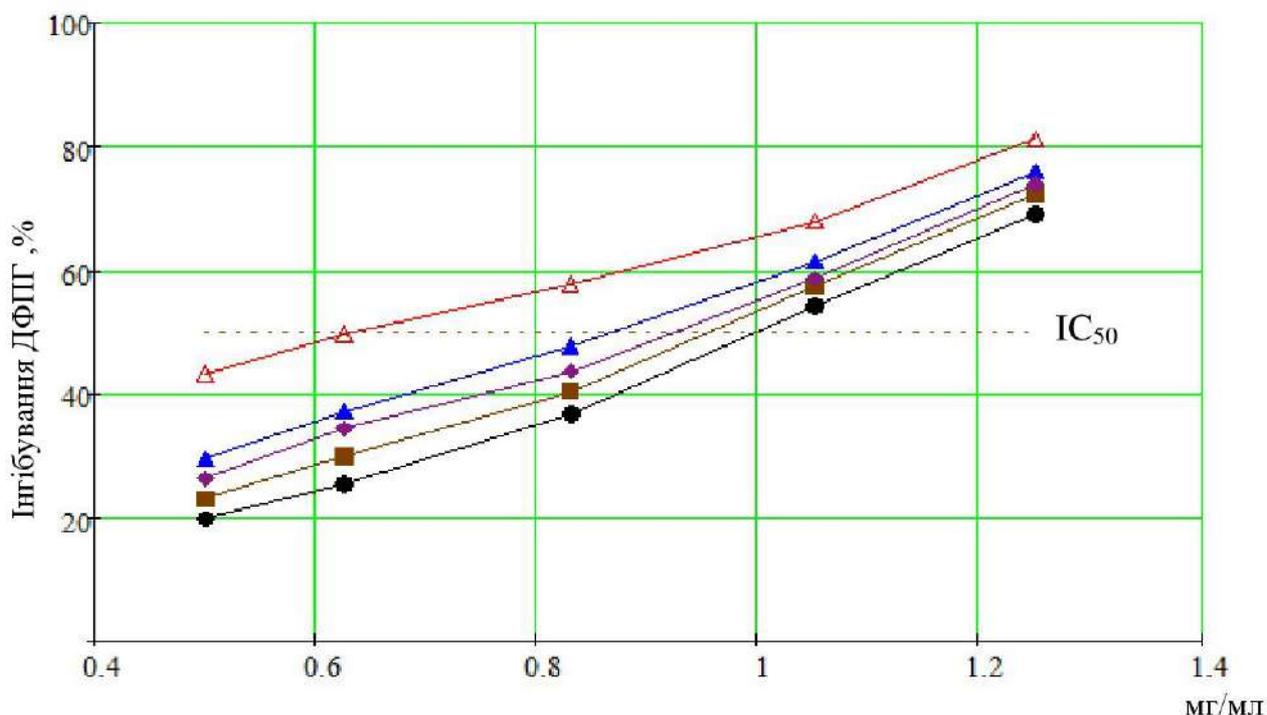


Рис. 13. Антиоксидантна активність настоїв із трави досліджуваних рослин в умовах *in vitro*: Δ – змієголовника молдавського; ▲ – чаберу садового; ◆ – монарди трубчастої; ■ – васильків американських; ● – лофанту анісового

В експериментах на тваринах вивчено гостру токсичність ЛРЗ, отриманих із трави досліджуваних рослин. На основі цього їх було віднесено до V класу безпечності згідно класифікації К. К. Сидорова. Експериментальні дослідження в умовах *in vivo* проводили з дотриманням правил біоетики відповідно до «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Strasbourg, ETS 123, 18.III.1986).

Експериментально доведено ПЗА густого екстракту з трави чаберу садового та сухих екстрактів з трави лофанту анісового, монарди трубчастої та васильків американських. Максимальний фармакологічний ефект простежено при застосуванні екстрактів у дозах 100 мг/кг та 200 мг/кг. Як приклад наведено результати дослідження протизапальної активності густого екстракту з трави чаберу садового (табл. 5). Як видно з таблиці 5, екстракт у дозі 200 мг/кг виявив значну ПЗА, подібну до дії препарату порівняння.

Встановлено анальгетичний ефект густого екстракту із трави чаберу садового (табл. 6) та сухого екстракту із трави монарди трубчастої. Густий екстракт із трави чаберу садового в усіх проаналізованих дозах достовірно зменшував кількість «корчів» у піддослідних тварин у порівнянні з групою контрольної патології. В цілому, за величиною анальгетичного ефекту у дозі 100 мг/кг він дещо поступався препарату порівняння, а у дозі 200 мг/кг достовірно його перевищував.

Таблиця 5

Результати дослідження протизапальної активності густого екстракту з трави чаберу садового на моделі карагенінового набряку ($M \pm m$; $n = 6$)

Групи тварин	Доза, мг/кг	Динаміка розвитку запалення та ПЗА на певний час спостереження					
		1 год		3 год		6 год	
		ΔV , ум. од	ПЗА, %	ΔV , ум. од	ПЗА, %	ΔV , ум. од	ПЗА, %
Контрольна патологія	Вода очищена	0,41±0,02	–	0,63±0,03	–	0,56±0,01	–
Екстракт	50	0,37±0,03 ²	9,76	0,45±0,02 ^{1,2}	28,57	0,45±0,02 ¹	19,64
	100	0,32±0,01 ^{1,2}	21,95	0,37±0,04 ¹	41,26	0,42±0,01 ¹	25,0
	200	0,30±0,04 ¹	26,83	0,33±0,01 ¹	47,62	0,40±0,01 ^{1,2}	28,57
Диклофенак	8	0,24±0,01 ¹	41,46	0,32±0,02 ¹	49,21	0,46±0,02 ¹	17,85

Примітки: ¹ – відмінності статистично достовірні щодо значень групи контрольної патології ($p \leq 0,05$); ² – відмінності статистично достовірні щодо значень групи препарату порівняння ($p \leq 0,05$).

Таблиця 6

Результати дослідження анальгетичної активності густого екстракту з трави чаберу садового на моделі «оцтовокислих корчів» у мишей ($M \pm m$; $n = 6$)

Групи тварин	Доза, мг/кг	Кількість корчів (за 20 хв)	Анальгетична активність, %
Контрольна патологія	Вода очищена	58,83±2,92	–
Екстракт	50	44,67±2,15 ^{1,2}	23,50
	100	31,19±1,92 ¹	46,94
	200	23,65±1,79 ¹	59,80
Анальгін	55	27,42±1,25 ¹	53,39

Примітки: ¹ – відмінності статистично достовірні щодо значень групи контрольної патології ($p \leq 0,05$); ² – відмінності статистично достовірні щодо значень групи препарату порівняння ($p \leq 0,05$).

При вивченні гепатопротекторної активності рідкого екстракту із трави чаберу садового встановлено, що введення ураженим тетрахлорметаном піддослідним тваринам різних доз екстракту (50–200 мг/кг) і «Силібору» зумовлювало покращення більшості біохімічних показників сироватки крові та гомогенату печінки, що свідчить про поступовий процес відновлення фізіологічного стану гепатоцитів. Максимальне відновлення більшості досліджуваних біохімічних показників встановлено при застосуванні досліджуваного екстракту в дозі 200 мг/кг.

В умовах тесту «відкрите поле» виявлено седативні властивості настоїв із трави досліджуваних рослин. Максимальний седативний вплив на поведінку щурів при курсовому вживанні впродовж 7 діб відмічено для настоїв із трави двох видів – васильків американських і змієголовника молдавського. У зв'язку з цим, було проведено скринінгове дослідження седативної дії ефірних олій та настоек, отриманих із сировини цих видів.

Встановлено заспокійливий вплив ефірних олій (інгаляції) і настоек (пероральне введення) із трави васильків американських (ВН) і змієголовника молдавського (ЗН). Настойки вводили внутрішньошлунково через зонд, у дозі 100 мг/кг, в перерахунку на сухий залишок. Найбільш помітний заспокійливий ефект відмічено для настоек, виготовлених з додаванням 0,5 % ефірних олій цих рослин – ВНЕО та ЗНЕО, відповідно (табл. 7).

Таблиця 7

Результати дослідження седативної дії настоек з трави васильків американських та змієголовника молдавського ($M \pm m$; $n = 6$)

Групи тварин	Кількість перетнутих квадратів	Орієнтовно-дослідницька активність		Показники тривожності (емоційні реакції)		
		вертикальні стійки	обстежені отвори	боллоси	уринації	грумінг
Інтактний контроль	32,61±2,29	9,52±0,89	5,21±0,47	1,03±0,1	0,51±0,05	2,32±0,21
ЗН	27,67±1,82	8,16±0,72	4,89±0,32	0,42±0,05 ¹	0,45±0,04	2,39±0,22
ЗНЕО	23,53±1,17 ¹	7,02±0,53 ¹	3,92±0,29 ^{1,2}	0,0 ^{1,2}	0,41±0,03 ^{1,2}	2,17±0,18
ВН	29,17±1,09	8,83±0,28	4,83±0,35	0,67±0,09 ¹	0,50±0,05	2,33±0,24
ВНЕО	26,0±1,02 ¹	8,0±0,42 ¹	4,50±0,21	0,50±0,05 ^{1,2}	0,33±0,02 ^{1,2}	2,17±0,19
Настойка пустирника	24,0±2,07 ¹	8,0±0,68	4,96±0,38	0,58±0,03 ¹	0,58±0,03	1,98±0,09 ¹

Примітки: ¹ – відмінності статистично достовірні щодо значень групи інтактного контролю ($p \leq 0,05$); ² – відмінності статистично достовірні щодо значень групи препарату порівняння ($p \leq 0,05$)

Як видно із табл. 7, при застосуванні ВНЕО та ЗНЕО достовірно знижувався рівень тривожності щурів, зменшувалась кількість їх переміщень та стійок. За більшістю показників поведінкових реакцій, максимальний седативний ефект виявлено для ЗНЕО. Аналіз результатів досліджень хімічного складу ЗНЕО та ВНЕО дає підстави стверджувати, що їхні заспокійливі властивості зумовлені значним вмістом розмаринової кислоти та домінуванням у складі доданих до них ефірних олій компонентів з доведеною седативною дією (Aprotosoaie et al., 2014; Agatonovic-Kustrin et al., 2020; Yu Zhong et al., 2019) – ліналоолу у ВНЕО та цитралю і геранілацетату у ЗНЕО. Седативний ефект досліджуваних настоек можуть підсилювати також деякі амінокислоти (Shafaei et al., 2017), які нами виявлено у сировині васильків американських та

змієголовника молдавського – зокрема, гліцин, глютамінова та γ -аміномасляна кислоти. Значний вміст такого макроелемента як магній у траві васильків американських теж може підсилювати седативний ефект ЛРЗ на його основі.

Отже, вперше для ЛРЗ, розроблених на основі сировини досліджуваних рослин, виявлено різні види біологічної активності, відповідно до типових комплексів БАР у їхньому складі, різноманітних за вмістом та варіабельністю комбінацій компонентів із доведеною терапевтичною активністю. В експерименті *in vitro* визначено, що найбільш виражений антимікробний ефект – насамперед, щодо *Staphylococcus aureus* і *Candida albicans* – виявили ефірні олії монарди трубчастої, чаберу садового та лофанту анісового, у складі яких домінували ароматичні компоненти.

В експерименті на тваринах доведено ПЗА екстрактів, отриманих на основі трави лофанту анісового, монарди трубчастої, чаберу садового та васильків американських, анальгетичну активність густого екстракту з трави чаберу садового та сухого екстракту з трави монарди трубчастої. Одержані екстракти характеризувались значним вмістом розмаринової кислоти та інших поліфенолів із доведеними протизапальними, анальгетичними і антиоксидантними властивостями. Максимальний антиоксидантний вплив встановлено для настою трави змієголовника молдавського, який корелює із високим вмістом у ньому поліфенолів. Протизапальна активність екстрактів, отриманих з використанням води очищеної, та антиоксидантний вплив настоїв трави рослин може підсилюватись завдяки синергетичному впливу наявних у них водорозчинних поліфенолів і полісахаридів. Проаналізовано можливі взаємозв'язки між виявленою седативною дією ефірних олій та настоек із трави васильків американських і змієголовника молдавського із домінуючими компонентами терпенової та фенольної природи у їх складі, окремими макро- і мікроелементами та амінокислотами.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне обґрунтування і експериментальне вирішення наукової проблеми, що полягає у комплексному фармакогностичному дослідженні неофіціальних видів рослин підродини Котовникові (*Nepetoideae*) родини Глухокропикові (*Lamiaceae*), визначенні параметрів стандартизації сировини перспективних видів і отриманих на її основі ЛРЗ цільової спрямованості фармакологічної дії та аналізу залежності біологічної активності ЛРЗ від вмісту основних БАР у їх складі.

1. На основі аналізу та узагальнення даних наукової літератури щодо сучасного стану вивчення і використання у фармації видів рослин родини Глухокропикові окреслено проблему щодо актуальності розширення асортименту ефективних вітчизняних лікарських засобів антимікробної, антиоксидантної, протизапальної, анальгетичної, седативної дії за рахунок всебічного фармакогностичного дослідження сировини неофіціальних видів рослин цієї родини. Обґрунтовано вибір об'єктів дослідження серед видів родів

Васильки, Гісоп, Змієголовник, Лофант, Монарда і Чабер підродини Котовникові.

2. У траві досліджуваних об'єктів вперше ідентифіковано 239 сполук, більшість із яких належать до БАР вторинного синтезу. Серед первинних метаболітів визначено компонентний вміст 19 протеїногенних та 3 непротеїногенних амінокислот; максимальний вміст фармакологічно активних амінокислот – гліцину (98,7 мг/100 г), глутамінової (121,7 мг/100 г) та γ -аміномасляної (84,0 мг/100 г) кислоти – виявлено у траві васильків американських. Визначено компонентний вміст 21 карбонової кислоти, у складі яких домінували аліфатичні лимонна, яблучна та щавлева кислоти у різних співвідношеннях; максимальний вміст ароматичної саліцилової кислоти виявлено у траві васильків американських – 118 мг/кг. Серед жирних кислот найбільший вміст ненасиченої ліноленової кислоти визначено у сировині чаберу садового – 3372 мг/кг. Проаналізовано вміст 5 макроелементів (Ca, K, Na, Mg і P) та 8 мікроелементів (Fe, Mn, Cu, Zn, Cr, Ni, Cd і Pb) у траві рослин.

3. Встановлено особливості накопичення та компонентний склад ефірних олій, вилучених із трави 12 досліджуваних об'єктів, а саме: 10 видів, у тому числі 4 форм рослин. Найбільший вміст ефірної олії виявлено у траві монарди трубчастої (1,87 %), найменший – у траві змієголовника великоквіткового (0,12 %). Загалом, в ефірних оліях досліджуваних об'єктів методом ГХ/МС ідентифіковано 134 компоненти, більшість із яких є біологічно активними сполуками. Загальна кількість компонентів у ефірних оліях різних видів становила від 21 до 53 сполук, серед яких домінували: у чаберу садового – ароматичний спирт карвакрол – 76,16 %; монарди трубчастої – ароматичні сполуки тимол – 42,01 % і *n*-цимен – 15,45 %; змієголовника великоквіткового – сесквітерпен β -бурбонен – 25,89 %; гісопу лікарського – монотерпеноїд ізопінокамфон – 34,16 %. Монотерпеноїд ліналоол домінував у ефірній олії васильків американських – 49,84 %, васильків справжніх – 58,41 % та васильків лимонних – 39,49 %. Фенілпропаноїд евгенол був переважаючим компонентом ефірної олії васильків священних; його вміст склав 26,54 %. У біло- та фіолетовоквіткової форм лофанту анісового встановлено домінування фенілпропаноїду естраголу (35,19 % та 32,16 %, відповідно); у біло- та фіолетовоквіткової форм змієголовника молдавського – монотерпеноїду гераніацетату (31,36 % та 41,08 %, відповідно). На основі проведеного аналізу ефірних олій, БАР первинного синтезу та мінерального складу визначено сировину найбільш перспективних видів для поглибленого фармакогностичного дослідження: траву васильків американських, змієголовника молдавського (фіолетовоквіткову форму), лофанту анісового (фіолетовоквіткову форму), монарди трубчастої та чаберу садового.

4. Фракційний аналіз полісахаридів показав домінування у складі трави досліджуваних видів водорозчинних сполук; їх максимальний вміст виявлено у траві лофанту анісового – 14,08 %. Методом ГХ/МС визначено вміст 8 вільних цукрів у сировині рослин. Найбільший вихід ліпофільної фракції встановлено для монарди трубчастої – 8,78 %. У ліпофільних фракціях трави рослин

визначено сумарний вміст хлорофілів та каротиноїдів; їх максимальний вміст виявлено у змієголовника молдавського: 1,08 % і 0,51 %, відповідно.

5. Методом ВЕРХ у траві досліджуваних видів визначено компонентний вміст 6 тритерпенових сполук: урсолової, еускафової, торментинової і олеанолової кислот, бетуліну та лупеолу; перші дві сполуки домінували у сировині практично усіх рослин. У траві лофанту анісового відмічено накопичення найвищого сумарного вмісту тритерпеноїдів – 1,67 %.

6. Фенольний склад сировини досліджуваних видів представлений фенолкарбоновими і гідроксикоричними кислотами, флавоноїдами, дубильними речовинами та кумаринами. ВЕРХ-аналіз фенольних сполук показав домінування розмаринової кислоти у траві усіх досліджуваних видів; її вміст у 70 % етанольних витягах сировини рослин зростав у такому порядку: лофант анісовий – 1,79 % < чабер садовий – 2,14 % < васильки американські – 2,23 % < монарда трубчаста – 2,28 % < змієголовник молдавський – 3,01 %. У зв'язку з цим, розмаринову кислоту, як сполуку з доведеною терапевтичною активністю, визначено як основний аналітичний та біологічно активний маркер трави цих видів. Серед флавоноїдів переважали похідні флавону: апігенін, лютеолін та їхні глюкозиди. У траві васильків американських, лофанту анісового і чаберу садового визначено компонентний вміст дубильних речовин та встановлено переважання сполук конденсованої групи: епігалокатехіну, галокатехіну, епікатехіну, епікатехіну галату та катехіну; серед кумаринових сполук виявлено незначний вміст кумарину та скополетину. Визначено сумарний вміст гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, поліфенолів і танінів у сировині рослин. Методом ВЕТШХ встановлено специфіку хроматографічних профілів фенольних сполук досліджуваних видів. Розроблено та валідовано ВЕТШХ методику денситометричного аналізу вмісту розмаринової кислоти у траві досліджуваних видів.

7. За допомогою рідинно-рідинної екстракції, колонкової адсорбційної хроматографії, препаративної ТШХ та кристалізації з трави монарди трубчастої виділено 6 індивідуальних сполук, структуру 4 з яких доведено за їх фізико-хімічними властивостями: температурою плавлення, даними УФ-спектрофотометрії, ^1H та ^{13}C ЯМР спектроскопії, мас-спектрометрії та порівнянням із відповідними СЗ. Встановлено структуру трьох сполук фенольної природи – розмаринової та кофейної кислот, рутину і терпеноїду β -ситостеролу.

8. Визначено комплекс діагностичних морфолого-анатомічних ознак трави перспективних об'єктів дослідження, які запропоновано використовувати при стандартизації сировини і внесено до проєктів МКЯ «Монарди трубчастої трава», «Васильків американських трава», «Чаберу садового трава», «Лофанту анісового (фіолетовоквіткової форми) трава» та «Змієголовника молдавського (фіолетовоквіткової форми) трава». Встановлено технологічні параметри сировини цих видів.

9. Проведено аналіз ефективності виділення основних груп БАР з досліджуваної рослинної сировини залежно від вибору різних параметрів екстрагування, на основі чого розроблено технології одержання нових ЛРЗ, визначено параметри їх стандартизації та запропоновано відповідні проєкти

МКЯ: «Змієголовника молдавського настойки», «Чаберу садового екстракту густого», «Лофанту анісового екстракту сухого», «Монарди трубчастої екстракту сухого» та «Васильків американських екстракту сухого».

10. На підставі проведених досліджень визначено параметри стандартизації та розроблено проекти МКЯ для «Змієголовника молдавського ефірної олії», «Чаберу садового ефірної олії», «Лофанту анісового ефірної олії», «Монарди трубчастої ефірної олії» і «Васильків американських ефірної олії». Реалізовано комплексний підхід до переробки сировини васильків американських та монарди трубчастої, для яких після вилучення ефірної олії раціонально використано післядистиляційний витяг і шрот. На основі цього отримано нові ЛРЗ – сухі екстракти із значним вмістом фенольних сполук.

11. В умовах *in vitro* вивчено антибактеріальні та антигрибкові властивості ефірних олій досліджуваних видів, які мали помітний інгібуючий вплив на життєдіяльність *Staphylococcus aureus* та *Candida albicans*. Найбільш виражену антимікробну активність простежено для ефірних олій чаберу садового, монарди трубчастої та лофанту анісового, у складі яких домінували ароматичні компоненти – карвакрол, тимол та естрагол, відповідно. Встановлено, що антиоксидантна активність настоїв із трави досліджуваних видів корелювала із вмістом у них суми поліфенолів.

12. В експериментах *in vivo* встановлено безпечність ЛРЗ, отриманих на основі сировини досліджуваних видів. Експериментально доведено протизапальну активність екстрактів із трави васильків американських, лофанту анісового, чаберу садового і монарди трубчастої; анальгетичну активність густого екстракту з трави чаберу садового та сухого екстракту з трави монарди трубчастої; гепатопротекторну дію рідкого екстракту з трави чаберу садового. Встановлено, що отримані екстракти характеризувались значним вмістом поліфенолів, які здатні виявляти зазначені види фармакологічної активності. Виявлено виражений седативний вплив ефірних олій та настоїв із трави васильків американських і змієголовника молдавського; найбільш помітний ефект відмічено для настоїв, виготовлених з додаванням 0,5 % ефірних олій цих рослин, у яких домінували компоненти із доведеною заспокійливою дією. Наведено теоретичне обґрунтування можливих взаємозв'язків між вмістом основних БАР та фармакологічною активністю ЛРЗ.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових журналах України та періодичних виданнях інших держав

1. Шанайда М. І. Ботаніко-фармакогностичні аспекти вивчення лікарських рослин родини *Lamiaceae* Juss. (Огляд). *Фітотерапія. Часопис*. 2005. № 2. С. 50–57.
2. Шанайда М. І. Перспективи використання лікарських рослин родини *Lamiaceae* Juss. в офіціальній і народній медицині (Огляд). *Медична хімія*. 2006. Т. 8, № 1. С. 84–88.

3. Шанайда М. І., Швидків О. С. Порівняльний аналіз ефірних олій двох форм *Lophanthus anisatus* Adans. *Фармацевтичний часопис*. 2008. № 2 (6). С. 56–60. (Особистий внесок – постановка задачі дослідження, безпосередня участь в дослідженні з вилучення із сировини ефірних олій та їх ГХ/МС аналізу, проведення узагальнення отриманих даних та написання статті).
4. Шанайда М. І., Лемішка І. А., Лукієнко О. В. Фітохімічне вивчення гісопу лікарського з метою використання у фармації. *Медична хімія*. 2008. № 2 (10). С. 63–66. (Особистий внесок – заготівля сировини та участь у проведенні експериментальних досліджень з вилучення із сировини ефірних олій та їх ГХ/МС аналізу, узагальнення отриманих даних та оформлення статті).
5. Пасемків Ю. А., Шанайда М. І. Аналіз пігментного складу трави змієголовника великоквіткового (*Dracoscephalum grandiflorum* L.). *Медична хімія*. 2010. № 1 (12). С. 57–59. (Особистий внесок – здійснення постановки задачі дослідження, участь в експерименті та узагальненні даних).
6. Шанайда М. І., Пасемків Ю. А., Корабльова О. А. Аналіз компонентного складу ефірних олій двох форм *Dracoscephalum moldavica* L. *Медична хімія*. 2010. № 2 (43). С. 118–123. (Особистий внесок – проведення постановки задачі дослідження, узагальнення отриманих даних та написання статті).
7. Шанайда М. І. Фітохімічне дослідження надземної частини *Monarda fistulosa* L. *Фармацевтичний журнал*. 2010. № 5. С. 89–93.
8. Марчишин С. М., Шанайда М. І. Пігментний склад надземної частини *Monarda fistulosa* L. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2012. № 2 (9). С. 31–32. (Особистий внесок – заготівля сировини, здійснення постановки задачі дослідження, узагальнення отриманих даних).
9. Шанайда М. І., Марчишин С. М., Корабльова О. А. Жирнокислотний склад представників роду *Ocimum* L. *Укр. медичний альманах*. 2012. № 4 (15). С. 187–189. (Особистий внесок – проведення заготівлі сировини, участь у проведенні частини експериментальних досліджень, здійснення аналізу та узагальнення отриманих даних, оформлення статті).
10. Шанайда М. І. Порівняльний аналіз компонентного складу ефірних олій видів роду *Ocimum* L. *Фармацевтичний журнал*. 2012. № 4. С. 99–102.
11. Шанайда М. І., Марчишин С. М. Аналіз ліпофільних сполук надземної частини представників родини *Lamiaceae* Juss. *Фармацевтичний часопис*. 2014. № 1 (29). С. 11–14. (Особистий внесок – здійснення основного комплексу досліджень, узагальнення отриманих даних та оформлення статті).
12. Марчишин С. М., Шанайда М. І., Дуб А. І. Органічні кислоти надземної частини видів роду *Ocimum* L. *Фармацевтичний часопис*. 2014. № 4 (32). С. 13–16. (Особистий внесок – проведення заготівлі сировини та пробопідготовки, участь в експериментальних дослідженнях та узагальненні отриманих даних, оформлення статті).
13. Шанайда М. І. Амінокислотний склад надземної частини представників родини *Lamiaceae* Juss. *Фармацевтичний журнал*. 2015. № 1. С. 82–87.
14. Шанайда М. І. Вивчення якісного складу та кількісного вмісту флавоноїдів у траві представників підродини *Nepetoideae* родини *Lamiaceae*. *Фармацевтичний журнал*. 2015. № 4. С. 71–76.

15. Шанайда М. І. Визначення якісного складу та кількісного вмісту вуглеводів у траві представників родини *Lamiaceae* Juss. *Фармацевтичний часопис*. 2015. № 4. С. 13–18.
16. Шанайда М. І., Покришко О. В. Антимікробна активність ефірних олій культивованих представників родини *Lamiaceae* Juss. *Annals of Mechnikov Institute*. 2015. N 4. С. 66–69. (Особистий внесок – вилучення ефірних олій із сировини, участь у проведенні експериментальних досліджень їх антимікробної дії, узагальнення отриманих даних та оформлення статті).
17. Шанайда М. І., Сіра Л. М., Мінаєва А. О. Морфолого-анатомічна будова трави *Satureja hortensis* L. *ScienceRise*. 2016. № 4/4 (21). С. 30–37. (Особистий внесок – заготівля сировини, участь у плануванні і проведенні експериментальних досліджень, аналіз результатів і оформлення статті).
18. Шанайда М. І., Сіра Л. М., Машталер В. В. Мікроскопічний аналіз трави *Monarda fistulosa* L. (*Lamiaceae*). *Фармацевтичний журнал*. 2016. № 5. С. 76–85. (Особистий внесок – заготівля сировини, участь у плануванні та проведенні частини експериментальних досліджень, аналізі результатів і оформленні тексту статті).
19. Шанайда М. І., Сіра Л. М., Мінаєва А. О. Морфолого-анатомічна будова трави *Lophanthus anisatus*(Nutt.) Benth. *Фітотерапія. Часопис*. 2016. № 4. С. 30–37. (Особистий внесок – заготівля сировини, участь у плануванні та проведенні частини експериментальних досліджень, аналіз результатів і оформлення тексту статті).
20. Дослідження гепатопротекторної активності рідкого екстракту трави чаберу садового при тетрахлорметановому гепатиті / М. І. Шанайда, О. М. Олещук, П. Г. Лихацький, І. З. Кернична. *Фармацевтичний часопис*. 2017. № 2 (42). С. 92–97. (Особистий внесок – участь у плануванні досліджень, одержанні рідкого екстракту, безпосередньо виконувала експеримент на тваринах та аналіз отриманих даних, оформила статтю).
21. Шанайда М. І., Олещук О. М. Вивчення гострої токсичності рідкого екстракту трави чаберу садового. *Укр. біофармацевтичний журнал*. 2017. № 4 (51). С. 22–26. (Особистий внесок – участь у плануванні досліджень, одержання рідкого екстракту, виконання експерименту, написання статті).
22. Shanaida M., Golembiovska O. Identification and component analysis of triterpenoids in *Monarda fistulosa* L. and *Ocimum americanum* L. (*Lamiaceae*) aerial parts. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2018. № 3 (13). P. 26–31. (Особистий внесок – участь у плануванні та проведенні частини експериментальних досліджень, аналізі та обговоренні результатів, підготовка тексту статті).
23. Шанайда М. И., Марчишин С. М. Качественный состав и количественное содержание гидроксикоричных кислот в надземной части культивируемых представителей семейства *Lamiaceae*. *Вестник Южно-Казахстанской гос. фармац. академии*. 2016. № 1 (74). С. 23–26. (Особистий внесок – участь у плануванні експериментальних досліджень, заготівлі сировини, проведенні експерименту, аналізі результатів, підготовка тексту статті).

24. Шанайда М. И. Анализ качественного состава и количественного содержания дубильных веществ в траве растений из подсемейства *Nepetoideae* семейства *Lamiaceae*. *Вестник Южно-Казахстанской гос. фармац. академии*. 2016. № 2 (75). С. 3–9.
25. Shanaida M., Ivanusa I., Kernychna I. Phytochemical analysis of secondary metabolites of *Satureja hortensis* L. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2017. N 9 (2). P. 315–318. (Особистий внесок – планування експериментальних досліджень, виконання частини експерименту, аналіз результатів та написання статті).
26. Shanaida M., Kernychna I., Shanaida Yu. Chromatographic analysis of organic acids, amino acids, and sugars in *Ocimum americanum* L. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*. 2017. N 74 (2). P. 729–732. (Видання індексується у наукометричній базі *Scopus*; особистий внесок – планування та виконання експериментальних досліджень, аналіз результатів, участь в оформленні статті).
27. Shanaida M., Pryshlyak A., Golembiovska O. Determination of triterpenoids in some *Lamiaceae* species. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2018. N 7. P. 3113–3118. (Видання індексується у наукометричній базі *Scopus*; особистий внесок – участь у плануванні та виконанні експериментальних досліджень, аналіз результатів, оформлення статті).
28. Antioxidant activity of essential oils obtained from aerial part of some *Lamiaceae* species / M. Shanaida, N. Hudz, K. Korzeniowska, P. Wieczorek. *International Journal of Green Pharmacy*. 2018. N 12 (3). P. 200–204. (Видання індексується у наукометричній базі *Scopus*; особистий внесок – літературний огляд, участь у плануванні досліджень, отримання ефірної олії з сировини, проведення експериментальних досліджень, участь в аналізі результатів та підготовці тексту статті).
29. Phenolic compounds of herbal infusions obtained from some species of the *Lamiaceae* family / M. Shanaida, O. Golembiovska, N. Hudz, P. P. Wieczorek. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 2018. Vol. 31(4). P. 194–199. (Видання індексується у наукометричній базі *Scopus*; особистий внесок – участь у плануванні досліджень, проведення частини експериментальних досліджень, участь в аналізі результатів та підготовка тексту статті).
30. Development of high-performance thin layer chromatography method for identification of phenolic compounds and quantification of rosmarinic acid content in some species of the *Lamiaceae* family / M. Shanaida, I. Jasicka-Misiak, E. Makowicz, N. Stanek, V. Shanaida, P. P. Wieczorek. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. 2020. N 12 (2). P. 139–145. (Видання індексується у наукометричній базі *Scopus*; особистий внесок – участь у плануванні досліджень, проведенні частини експериментальних досліджень, аналізі результатів; оформлення тексту статті).

Патенти

31. Шанайда М. І., Олещук О. М., Белей Н. М., Шанайда В.В. Спосіб одержання рослинної субстанції із протизапальною та анальгетичною дією з трави чаберу садового: патент № 125006 (на корисну модель), Україна, заявл. 04.12.2017 р., опубл. 25.04.2018 р., Бюл. № 8. (Особистий внесок –

проведення досліджень з вибору оптимальних параметрів екстрагування сировини при отриманні фітосубстанції, участь у виконанні експерименту на тваринах, аналізі результатів та оформленні патенту).

32. Шанайда М. І., Олещук О. М., Шанайда В. В. Спосіб одержання рослинної субстанції з седативною дією на основі трави змієголовника молдавського: патент № 126437 (на корисну модель), Україна, заявл. 04.12.2017 р., опубл. 25.06.2018 р., Бюл. № 12. (Особистий внесок – вибір оптимальних технологічних параметрів при отриманні настойки; участь в експерименті на тваринах, аналізі результатів та оформленні патенту).
33. Шанайда М. І., Белей Н. М., Голембіовська О. І. Застосування сухого екстракту трави васильків американських як засобу із протизапальною активністю: патент № 126513 (на корисну модель), Україна, заявл. 04.01.2018 р., опубл. 25.06.2018 р., Бюл. № 12. (Особистий внесок – проведення основних досліджень з вибору оптимальних параметрів екстрагування сировини при отриманні сухого екстракту та експерименту на тваринах; аналіз результатів та оформлення патенту).
34. Шанайда М. І., Олещук О. М., Шанайда В. В. Спосіб отримання лікарського рослинного засобу протизапальної та жарознижувальної дії: патент № 141723 (на корисну модель), Україна, заявл. 06.09.2020 р., опубл. 27.04.2020 р., Бюл. № 8. (Особистий внесок – підбір оптимальних параметрів екстрагування трави рослини при отриманні екстракту, участь в проведенні експерименту на тваринах, аналізі результатів та оформленні патенту).
35. Шанайда М. І. Спосіб одержання лікарського рослинного засобу з протизапальною та анальгетичною дією із трави монарди трубчастої: патент № 120826 (на винахід), Україна, заявл. 27.05.2019 р., опубл. 10.02.2020 р., Бюл. № 3.
36. Шанайда М. І., Олещук О. М., Шанайда В. В. Спосіб одержання засобу із протизапальною та жарознижувальною дією на основі трави лофанту анісового: патент № 120827 (на винахід), Україна, заявл. 27.05.2019 р., опубл. 10.02.2020 р., Бюл. № 3. (Особистий внесок – підбір оптимальних параметрів екстрагування сировини при отриманні екстракту, участь у виконанні експерименту на тваринах, аналізі результатів та оформленні патенту).

Інформаційний лист

37. Макро- та мікроскопічні ознаки трави васильків американських (*Ocimum americanum* L.): інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я № 179, протокол № 97 від 15.06.2016 р. / М. І. Шанайда, Л. М. Сіра, В. В. Машталер. К.: Центр „Укрмедпатентінформ” МОЗ України, 2016. Вип. 27. 8 с. (Особистий внесок – участь у плануванні досліджень, заготівлі сировини, проведенні частини експериментальних досліджень, аналізі та обговоренні результатів, підготовка тексту до друку).

Тези і матеріали конференцій

38. Шанайда М. І. Вміст макроелементів у надземній частині *Lophanthus anisatus* Adans. (*Lamiaceae*). *Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України*: матеріали VI Нац. з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 28–30 вер. 2005 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2005. С. 794–795.

39. Шанайда М. І., Швидків О. С., Лемішка І. А. Фітохімічне дослідження *Lophanthus anisatus* Adans. та *Hyssopus officinalis* L. (*Lamiaceae* Juss.). XII з'їзд укр. ботанічного товариства: матеріали з'їзду, м. Одеса, 15–18 трав. 2006 р. Одеса, 2006. С. 515. (Особистий внесок – участь у виконанні експериментального дослідження, підготовка тез до друку).
40. Шанайда М. І., Крисовата І. Р. Аналіз хімічного складу надземної частини видів роду *Ocimum* L. I наукова конференція молодих вчених з міжнародною участю: матеріали конф., м. Вінниця, 19–20 трав. 2010 р. Вінниця, 2010. С. 144–145. (Особистий внесок – виконання експериментального дослідження, підготовка тез до друку).
41. Шанайда М. І. Хромато-мас-спектрометричний аналіз ефірних олій видів роду *Ocimum* L. (*Lamiaceae* Juss.). *Фармація України. Погляд у майбутнє*: матеріали VII Національного з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 15–17 вер. 2010 р. У 2-х томах. Т.1. Х.: Вид-во НФаУ, 2010. С. 361.
42. Шанайда М.І. Вивчення біологічної активності *Monarda fistulosa* L. *Сучасні аспекти медицини і фармації-2011*: тези доп. 71 Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студ. з міжнар. участю, м. Запоріжжя, 12–13 трав. 2011 р. Запоріжжя: ЗДМУ, 2011. С. 166.
43. Шанайда М. І., Марчишин С.М. Мікроскопічний аналіз надземної частини *Lophanthus anisatus* Adans. XIII з'їзд українського ботанічного товариства: матеріали з'їзду, м. Львів, 19–23 вер. 2011 р. Львів, 2011. С. 247. (Особистий внесок – участь у плануванні та виконання експериментального дослідження, підготовка тез до друку).
44. Шанайда М. І., Марчишин С. М. Виявлення хемотаксономічних маркерів сировини культивованих лікарських рослин родини *Lamiaceae* Juss. IV Національний з'їзд фармакологів України: тези доп. м. Київ, 10–12 жовт. 2011 р. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2011. 5 (24). С. 347–348. (Особистий внесок – аналіз експериментальних даних, підготовка тез до друку).
45. Шанайда М. І., Шанайда В. В. Елементний склад представників родини *Lamiaceae* Juss. при культивуванні в умовах Західного Поділля. *Довкілля і здоров'я*: матеріали науково-практичної конф., м. Тернопіль, 27–28 квіт. 2012 р. Тернопіль: ТДМУ «Укрмедкнига», 2012. С. 185. (Особистий внесок – виконання експериментального дослідження, підготовка тез до друку).
46. Шанайда М. І. Фракційне вивчення полісахаридів у надземній частині представників родини *Lamiaceae* Juss. *Хімія природних сполук*: Матеріали III Всеукр. наук.-практ. конф., м. Тернопіль, 30–31 жовт. 2012 р. Тернопіль: Укрмедкнига, 2012. С. 51–52.
47. Шанайда М. І. Дослідження амінокислотного складу представників родини *Lamiaceae*. *Функціональні харчові продукти – дієтичні добавки – як дієвий засіб різнопланової профілактики захворювань*: Матеріали I Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 11–12 квіт. 2013 р. Харків: Вид-во "Есен", 2013. С. 263.
48. Шанайда М. И., Шанайда В. В. Анализ содержания органических кислот в надземной части представителей семейства *Lamiaceae* Juss. *Лекарственные*

растения: фундаментальные и прикладные аспекты: матеріали I Междунар. научной конф., г. Новосибирск, 21–22 мая 2013 г. Новосибирск: Изд-во НГАУ, 2013. С. 243–244. (Особистий внесок – виконання експериментального дослідження, підготовка тез до друку).

49. Шанайда М. І., Марчишин С. М. Дослідження ліпофільних сполук у надземній частині представників родини *Lamiaceae* Juss. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали 5-ї наук.-практ. конф. з міжнар. участю м. Тернопіль, 27–28 вер. 2013 р. Тернопіль: "Укрмедкнига", 2013. С. 65. (Особистий внесок – виконання експериментального дослідження, підготовка тез до друку).
50. Shanayda M., Marchyshyn S. Determination of essential oil compounds of *Monarda fistulosa* L. herb. *Plant – the source of research material*: abstract of 3rd Int. Conference and Workshop, Lublin, Poland, 16-18 Sept. 2013. P. 207. (Особистий внесок – участь у плануванні та виконання експериментального дослідження, підготовка тез до друку).
51. Шанайда М. І. Вивчення ліпофільних сполук трави представників родини *Lamiaceae* Juss. *Теоретичні і практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: матеріали I Міжнар. наук.-практ. Internet-конф., м. Харків, 20–21 бер. 2014 р. Харків, 2014. С. 172–173.
52. Марчишин С. М., Шанайда М. І. Полісахаридний склад трави *Dracosephalum moldavica* L. та *Monarda fistulosa* L. *Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень*: матеріали II Міжнар. наук. конф., с. Березоточа, 4–5 черв. 2014 р. Лубни, 2014. С. 174–176. (Особистий внесок – участь в проведенні експериментального дослідження, підготовка тез до друку).
53. Шанайда М. І., Покришко О. В. Вплив ефірних олій представників родини *Lamiaceae* Juss. на мікроорганізми в умовах *in vitro*. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини*: матеріали наук. конф., Тернопіль, 17 черв. 2015 р. Тернопіль: ТДМУ «Укрмедкнига», 2015. С. 225–227. (Особистий внесок – участь в проведенні експерименту, підготовка тез до друку).
54. Shanayda M. I., Korablova O. A. The results of introductional and phytochemical researches of *Ocimum americanum* L. under condition of Western Podillia of Ukraine. *Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality*: proceedings of 2nd Int. Scientific Conf., Nitra, Slovakia, 20–22 Aug. 2015 y. Nitra, 2015. Part II. P. 593–596. (Особистий внесок – участь в проведенні експериментального дослідження, підготовка тез до друку).
55. Шанайда М. І. ВЕРХ-аналіз кумаринів у траві представників підродини *Nepetoideae* родини *Lamiaceae* Juss. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: матеріали II Міжнар. науково-практ. Internet-конф., м. Харків, 21–23 берез. 2016 р. Харків, 2016. С. 264–265.
56. Шанайда М. І. Фенольні сполуки трави *Ocimum americanum* L. *Хімія природних сполук*: матер. IV Всеукр. наук-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 21–22 квіт. 2016 р. Тернопіль: ТДМУ, 2016. С. 61–62.
57. Shanayda M., Kernychna I., Shanayda Yu. Chromatographic analysis of primary metabolites in aerial part of *Ocimum americanum* L. *Plants in pharmacy and nutrition*: abstract of 2nd Int. symposium, Wroclaw, Poland, 15–17 Sept. 2016 y.

- Wroclaw, 2016. P. 152. (Особистий внесок – участь в проведенні експериментального дослідження, підготовка тез до друку).
58. Shanaida M. Influence of *Ocimum americanum* L. essential oil on open-field behavior in rats. *Plant – the source of research material: abstract of 5th Int. Conf. and Workshop*, Lublin, Poland, 21–24 June 2017 y. Lublin, 2017. P. 133.
59. Шанайда М. І. Фармакологічна активність фітосубстанцій, отриманих на основі деяких рослин родини *Lamiaceae*. *Сучасні аспекти збереження здоров'я людини: зб. праць XI міжнар. наук.-практ. конф., м. Ужгород, 13–14 квіт. 2018 р. Ужгород, 2018. С. 105–108.*
60. Шанайда М. І., Голембіовська О. І. Визначення параметрів стандартизації сухого екстракту з трави *Ocimum americanum* L. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини: матеріали підсумкової LXI наук.-практ. конф., м. Тернопіль, 7 черв. 2018 р. Тернопіль: ТДМУ "Укрмедкнига", 2018. С. 290–291.* (Особистий внесок – участь в проведенні експериментального дослідження, підготовка тез до друку).
61. Шанайда М. І. Стандартизація сировини, одержання та дослідження фітосубстанцій на основі неофіціальних лікарських рослин родини *Lamiaceae*. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 27–28 вер. 2018 р. Тернопіль: ТДМУ, 2018. С. 53–55.*
62. Shanaida M., Jasicka-Misiak I., Wieczorek P.P. Chromatographic analysis of phenolic compounds and determination of rosmarinic acid content in *Monarda fistulosa* (*Lamiaceae*) herb by HPTLC method. *Modern pharmacy: history, realities and prospects of development: Proceeding of the conf., dedicated to the 20th anniversary of the founding of the Day of the Pharmaceutical Worker of Ukraine. Sept. 19-20, 2019, Kharkiv. Vol. 1. P. 301– 302.* (Особистий внесок – проведення експериментального дослідження, підготовка тез до друку).
63. Шанайда М.І., Адамів С.І., Олещук О.М. Визначення біологічної активності та показників якості лікарських рослинних засобів на основі сировини представників родини *Lamiaceae*. Матеріали Всеукр. науково-практ. конф. «Актуальні питання фармакології та фармакотерапії». Тернопіль, 26-27 вересня 2019 р. Тернопіль, 2019. С. 74– 75. (Особистий внесок – участь в проведенні експериментального дослідження, підготовка тез до друку).
64. Shanaida M., Jasicka-Misiak I., Wieczorek P.P. Application of HPTLC fingerprints method for evaluation of polyphenols and terpenoids in some *Lamiaceae* representatives. *Science and Practice 2019: 10th Int. Pharmaceutical Conf. November 15th, 2019 Kaunas, Lithuania. P. 76.* (Особистий внесок – участь в проведенні експериментального дослідження, підготовка тез до друку).
65. Determination of phenolic compounds in some *Lamiaceae* species by chromatographic methods / M. I. Shanaida, O. I. Golembiovska, I. Jasicka-Misiak., P. P. Wieczorek. *Planta+. Achievements and prospects: Proceedings of the Int.Scientific and Practical Conf. dedicated to the memory of Prof. N. P. Maksyutina (on her 95th birthday). Kyiv, 20-21 Febr. 2020 y. P. 48–51.* (Особистий внесок – участь в проведенні експериментального дослідження, підготовка тез до друку).

АНОТАЦІЯ

Шанайда М. І. Фармакогностичне дослідження представників підродини *Nepetoideae* Burnett. родини *Lamiaceae* Martinov як джерела одержання лікарських засобів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, Львів, 2021.

Дисертаційну роботу присвячено комплексному фармакогностичному дослідженню неофіціальних видів родів Васильки, Змієголовник, Гісоп, Лофант, Монарда та Чабер підродини Котовникові (*Nepetoideae*) родини Глухокропикові (*Lamiaceae*) та отриманих на їх основі лікарських рослинних засобів (ЛРЗ) певної спрямованості фармакологічної дії.

Встановлено компонентний склад і вміст основних груп біологічно активних речовин первинного та вторинного синтезу, ліпофільної фракції, мікро- і мікроелементів у траві досліджуваних об'єктів. Визначено найбільш перспективні види для поглибленого фармакогностичного дослідження: васильки американські, змієголовник молдавський, лофант анісовий, монарда трубчаста та чабер садовий. Для сировини цих видів встановлено специфічні хроматографічні профілі і вміст сполук терпенової та фенольної природи. Із трави монарди трубчастої виділено 6 індивідуальних сполук та встановлено структуру 4 з них. Визначено комплекс діагностичних морфолого-анатомічних ознак сировини досліджуваних видів. Встановлено оптимальні умови екстрагування сировини та розроблено технологічні схеми отримання нових ЛРЗ, для яких вивчено різні види фармакологічної активності. Запропоновано параметри стандартизації сировини досліджуваних видів і отриманих на їх основі ЛРЗ. Технологічні схеми виробництва густого екстракту з трави чаберу садового і сухого екстракту з трави васильків американських апробовано в промислових умовах.

Ключові слова: *Ocimum*, *Dracocephalum*, *Hyssopus*, *Lophanthus*, *Monarda*, *Satureja*, фітохімічне дослідження, морфолого-анатомічне вивчення, лікарський рослинний засіб, стандартизація, фармакологічна дія.

АННОТАЦИЯ

Шанайда М. И. Фармакогностическое исследование представителей подсемейства *Nepetoideae* Burnett. семейства *Lamiaceae* Martinov как источника получения лекарственных средств. – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. –

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого МЗ Украины, Львов, 2021.

Диссертационная работа посвящена комплексному фармакогностическому исследованию неофициальных видов из родов Базилик, Змееголовник, Иссоп, Лофант, Монарда и Чабер подсемейства Котовниковые (*Nepetoideae*) семейства Яснотковые (*Lamiaceae*) и полученных на их основании лекарственных растительных средств (ЛРС).

Для сырья исследуемых видов установлены компонентный состав и содержание основных групп биологически активных соединений первичного и вторичного синтеза, липофильной фракции, макро- и микроэлементов. Определены наиболее перспективные виды для углубленного фармакогностического исследования: базилик американский, змееголовник молдавский, лофант анисовый, монарда трубчатая и чабер садовый. Для их травы установлены специфические хроматографические профили и содержание соединений терпеновой и фенольной природы. Из травы монарды трубчатой изолированы 6 индивидуальных соединений и установлена структура для 4 из них. Определен комплекс диагностических морфолого-анатомических признаков сырья исследуемых видов. Установлены оптимальные условия экстрагирования сырья и разработаны технологические схемы подучения новых ЛРС, для которых изучены различные виды фармакологической активности. Предложены параметры стандартизации сырья исследуемых видов и разработанных на их основании ЛРС. Технологические схемы производства густого экстракта из травы чабра садового и сухого экстракта базилика американского апробированы в промышленных условиях.

Ключевые слова: *Ocimum*, *Dracocephalum*, *Hyssopus*, *Lophanthus*, *Monarda*, *Satureja*, фитохимическое исследование, морфолого-анатомическое изучение, лекарственное растительное средство, стандартизация, фармакологическое действие.

ANNOTATION

Shanaida M. I. Pharmacognostic investigation of representatives of the *Nepetoideae* Burnett. subfamily of the *Lamiaceae* Martinov family as a source of herbal medicinal products. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

A thesis for the scientific degree of Doctor of Pharmaceutical Sciences on a specialty 15.00.02 – Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. – Danylo Halytsky Lviv National Medical University of the Ministry of Healthcare of Ukraine, Lviv, 2021.

The thesis is dedicated to the comprehensive pharmacognostic research of the unofficial species of plants belonging to the Basil (*Ocimum* L.), Dragonhead (*Dracocephalum* L.), Hyssop (*Hyssopus* L.), Giant hyssop (*Agastache* Gronov, syn. *Lophanthus* Adans.), Bee Balm (*Monarda* L.) and Savory (*Satureja* L.) genera from the Catnip subfamily (*Nepetoideae* Burnett.) of the Mint family (*Lamiaceae* Martinov). The standardization parameters for their raw materials and developed on their basis

herbal medicinal products (HMP) with the certain pharmacological effects were determined. The analyzes of the dependences of biological activities of the HMP on the contents of their main biologically active compounds (BAC) were performed.

The component compositions and contents of the main groups of BAC of primary and secondary synthesis, lipophilic fractions, macro- and microelements have been established for the raw materials of the studied species.

The contents of essential oils in the herbs of 10 investigated species (including 4 forms) were determined by the hydrodistillation method. The presence from 21 to 53 compounds were revealed in the essential oils of different species using gas chromatography with mass spectrometry (GC/MS). The main and specific constituents of each essential oil were revealed. Monoterpenoids were the predominant components of most studied essential oils excluding *Dracocephalum grandiflorum* in which sesquiterpen β -bourbonene prevailed. Such triterpenoids as ursolic, euscaphic, tormentic and oleanolic acids, betulin and lupeol were revealed by the high-performance liquid chromatography (HPLC) analysis.

Such 5 species as *Monarda fistulosa*, *Ocimum americanum*, *Satureja hortensis*, *Lophanthus anisatus* (with violet flowers) and *Dracocephalum moldavica* (with violet flowers) were chosen for further comprehensive pharmacognostic research as the most promising ones after analyzing the contents and composition of their essential oils as well as a number of BAC of primary synthesis and elements.

The variety of phenolic compounds were determined in the raw materials of investigated species using different chromatographic methods. The presence and specific sequences of the polyphenols zones («chromatographic fingerprints») for each studied species were revealed using high-performance thin layer chromatography (HPTLC). The HPTLC densitometric technique was developed and validated for the analysis of rosmarinic acid as the major phenolic compound of all the investigated raw materials. The HPLC analysis showed the variety of phenolic compounds such as phenolic acids, flavonoids and tannins in the raw materials of plants. Small amounts of scopoletin and coumarin were identified among the coumarins.

The liquid-liquid extraction, column chromatography, preparative HPTLC and crystallization methods were used for the separation of phenolic compounds and terpenoids from the *Monarda fistulosa* herb. Six individual compounds have been isolated and structures four of them (rosmarinic acid, caffeic acid, rutin and β -sitosterol) were proven by their physical and chemical properties using HPTLC, UV spectrophotometry, ^1H and ^{13}C nucleic magnetic resonance and MS methods.

Complexes of the anatomical and morphological diagnostic features of stems, leaves, inflorescences and flowers of the investigated species were determined. These data were taken into account for the developing standardization parameters of the studied plant raw materials as well as their phytochemical peculiarities.

The optimal conditions for the extraction of BAC from the studied plant raw materials were chosen. The appropriate technological schemes for the developed HMP were proposed. The integrated approach was applied for the processing of *Ocimum americanum* and *Monarda fistulosa* herbs using their post-distillation extracts. The standardization parameters of the developed from 5 species HMP and their essential oils were proposed.

The *in vitro* research revealed the prominent antibacterial and antifungal activities of the essential oils of investigated species which inhibited, first of all, the growth of *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. The essential oils of *Satureja hortensis*, *Monarda fistulosa* and *Lophanthus anisatus* demonstrated the strongest antimicrobial effects due to their major aromatic compounds. It was revealed the significant antioxidant effect of infusions from the investigated herbs.

The high levels of the safeness for the developed HMP were proven in the *in vivo* experiments. The prominent anti-inflammatory effects of the extracts developed from the *Satureja hortensis*, *Monarda fistulosa*, *Ocimum americanum*, and *Lophanthus anisatus* herbs were revealed. It was established also the analgesic effect of *Monarda fistulosa* dry extract and *Satureja hortensis* thick extract as well as the hepatoprotective activity of *Satureja hortensis* liquid extract. The significant sedative effects were detected for HPM obtained from the *Ocimum americanum* and *Dracocephalum moldavica* herbs. The results of technological and pharmacological studies are protected by the 6 patents of Ukraine.

Keywords: *Ocimum*, *Dracocephalum*, *Hyssopus*, *Lophanthus*, *Monarda*, *Satureja*, phytochemical research, morphological and anatomical studies, herbal medicinal product, standardization, pharmacological action.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАР	– біологічно активні речовини;
БК	– білоквіткова форма рослини;
ВЕРХ	– високоефективна рідинна хроматографія;
ВЕТШХ	– високоефективна тонкошарова хроматографія;
ВН	– настоянка з трави васильків американських настоянка;
ВНЕО	– настоянка з трави васильків американських (з додаванням ефірної олії цієї рослини);
ГКЕ	– галової кислоти еквівалент;
ГКК	– гідроксикоричні кислоти;
ГХ/МС	– газова хроматографія з мас-спектрометрією;
ДФПГ	– 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразил;
ДФУ	– Державна Фармакопея України;
ЗН	– настоянка з трави змієголовника молдавського;
ЗНЕО	– настоянка з трави змієголовника молдавського (з додаванням ефірної олії цієї рослини);
ЛРЗ	– лікарський рослинний засіб;
МКЯ	– методи контролю якості;
ПЗА	– протизапальна активність;
ПХ	– паперова хроматографія;
СЗ	– стандартний зразок сполуки;
ТНМУ	– Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України;
ТШХ	– тонкошарова хроматографія;
УФ	– діапазон ультрафіолетового випромінювання;
ФК	– фіолетовоквіткова форма рослини;
ЯМР	– спектроскопія ядрено-магнітного резонансу;
АТСС	– американська колекція типових культур мікроорганізмів;
IC ₅₀	– інгібуюча концентрація субстанції, яка на 50 % знижує активність протікання вільнорадикального процесу;
R _f	– коефіцієнт утримання у ТШХ та ВЕТШХ.

Підписано до друку 21.01.2021 р.
Формат 60x84/16. Папір офсетний. Зам. № 75.
Гарнітура Times New Roman.
Ум. друк арк. 1,8. Наклад 100 прим.

Надруковано ЦОП "Чумацький шлях-Т" (ФОП "Глебов Р.В.")
м. Тернопіль, вул. Шашкевича, 3
Свідоцтво про державну реєстрацію № 152591 від 22.01.2008 р.