

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет

МАНДЗІЙ ТАРАС ПЕТРОВИЧ



УДК 615.322+58.084+582.475

ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВИДІВ РОДУ СОСНА

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Запоріжжя – 2017

Дисертацією є рукопис.

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

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

Офіційні опоненти:

доктор фармацевтичних наук, професор **Сербін Анатолій Гаврилович**, Національний фармацевтичний університет, професор кафедри ботаніки;

доктор фармацевтичних наук, старший науковий співробітник **Котов Андрій Георгійович**, ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», начальник відділу Державної Фармакопеї України;

Захист відбудеться «30» січня 2018 р. о 12⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д. 17.600.03 при Запорізькому державному медичному університеті (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26)

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Запорізького державного медичного університету (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26)

Автореферат розісланий «27» грудня 2017 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради



С. О. Васюк

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Поповнення асортименту лікарських засобів новими препаратами рослинного походження є однією з важливих завдань фармації. Пошук перспективних рослин серед представників вітчизняної флори, які мають достатню сировинну базу та здавна використовуються у народній та науковій медицині, є актуальним для сучасної фармації.

Особливий інтерес представляють рослини, які проявляють протизапальну, антисептичну, ранозагоювальну та протитуберкульозну дію. До них зокрема належать види роду Сосна. На території України зростає 17 видів. По всій Україні розповсюджена сосна (с.) звичайна, в Карпатах – с. гірська та с. кедрова Європейська, інші види – в Криму або культивуються в ботанічних садах, парках, лісонасадженнях.

Незважаючи на широке застосування видів роду Сосна в народній та науковій медицині, хімічний склад багатьох з них вивчено недостатньо.

Наявність достатньої сировинної бази в Україні, значний вміст різних груп біологічно активних речовин, а також різноманітність фармакологічної дії дають можливість застосовувати сировину видів сосни в медицині з профілактичною та лікувальною метою.

Тому вивчення хімічного складу видів роду Сосна, що зростають в Україні, розробка субстанцій на їх основі та вивчення фармакологічної активності є актуальною задачею.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету «Дослідження деяких дикорослих і культивованих рослин західного регіону України та розробки лікарських засобів на їх основі» (номер державної реєстрації 0110 U 006205). Дисертантом особисто проведено фармакогностичне дослідження видів роду Сосна та отримано лікарську форму з протизапальною, антимикробною, ранозагоювальною та подразнювальною дією.

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

Для досягнення поставленої мети необхідно було виконати наступні завдання:

- провести аналіз наукових першоджерел з питань ботанічної характеристики, поширення, хімічного складу видів роду Сосна і застосування їх у медицині;
- встановити якісний склад та кількісний вміст основних груп біологічно активних речовин (БАР) видів сосни;
- виділити індивідуальні сполуки та їх ідентифікувати;
- розробити технологічні параметри отримання екстрактів та провести їх стандартизацію, опрацювати склад мазі на їх основі та дослідити фармакологічні властивості;
- встановити морфолого-анатомічні ознаки листків видів роду Сосна;

- розробити проекти методик контролю якості на сировину та сухий екстракт, а також інструкції із заготівлі та сушіння листків сосни звичайної.

Об'єкт дослідження – фармакогностичне вивчення сировини 4 видів роду Сосна: с. звичайної, с. гірської, с. кедрової Європейської, с. Веймутової.

Предмет дослідження – виявлення, виділення та ідентифікація БАР з листків с. звичайної, с. гірської, с. кедрової Європейської, с. Веймутової, визначення кількісного вмісту, розробка параметрів екстракції БАР, одержання екстрактів, їх стандартизація та вивчення фармакологічної активності; розробка лікарської форми; визначення морфолого-анатомічних ознак листків с. звичайної, с. гірської, с. кедрової Європейської, с. Веймутової та проведення ресурсознавчих досліджень; сировинна база видів роду Сосна.

Методи дослідження. В експериментальному дослідженні використовували наступні методи: морфологічні – для опису та ідентифікації рослин роду Сосна; фізико-хімічні: температура плавлення, тонкошарова хроматографія, хромато-мас-спектрометрія, спектроскопія в УФ- та видимій області спектра; хімічні – реакції ідентифікації та кількісне визначення вмісту БАР; фізичні – визначення втрати в масі при висушуванні, загальної золи, розчинності, температури плавлення; технологічні та біофармацевтичні; фармакологічні дослідження проводили *in vivo* та *in vitro* з використанням стандартних методик; морфологічні, анатомічні; ресурсознавчі дослідження. Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням критерію Стьюдента.

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше проведено комплексне фармакогностичне вивчення листків с. звичайної, с. гірської, с. Веймутової та с. кедрової Європейської на різних фазах розвитку, в результаті якого встановлено якісний склад та кількісний вміст ефірних олій, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, амінокислот, органічних кислот, вуглеводів, танінів, макро- та мікроелементів.

За допомогою колонкової хроматографії в індивідуальному стані з с. гірської виділено 6 сполук: гідроксикоричні кислоти – кавова, *n*-кумарова, хлорогенова; флавоноїди – кверцетин, гіперозид, рутин.

З листків сосни звичайної виділено фракції полісахаридів. Вміст водорозчинних полісахаридів у листках сосни звичайної становить 1,84 %, пектинових речовин – 0,42 %, геміцелюлози А – 0,98 %, геміцелюлози Б – 0,84 %. Встановлено мономерний вуглеводний склад фракцій водорозчинних полісахаридів, пектинових речовин, геміцелюлоз А та Б, який представлено глюкозою, фруктозою, рамнозою, ксилозою, глюкуроною та галактуроною кислотою.

Вперше досліджено амінокислотний склад листків сосни звичайної та сосни гірської. Ідентифіковано та встановлено вміст 17 амінокислот, 7 з яких є незамінні. В досліджуваних видах домінуючими амінокислотами є аспарагінова та глютамінова кислоти, аргінін, гліцин, валін та аланін.

Вперше хромато-мас-спектрометричним методом досліджено компонентний склад ефірної олії с. звичайної, с. гірської, с. Веймутової та с. кедрової Європейської. Виявлено та встановлено вміст індивідуальних компонентів в с. звичайній – 22 сполуки, с. кедровій Європейській – 27, с. гірській – 17,

с. Веймутовій – 16. Домінуючими та спільними компонентами для всіх досліджуваних видів є пінен; для с. Веймутовій та с. звичайної є камфен та мірцен; с. Веймутовій, с. звичайній та с. гірській – 3-карен; с. звичайній та с. гірській – *n*-лімонен; с. Веймутовій та с. гірській – сантоліна-трієн; с. кедровій Європейській та с. звичайній – 7-метил біцикло [4.1.0]гептан.

Уперше в листках досліджуваних видів визначено кількісний вміст суми поліфенолів (від 3,31 % до 5,62 %); суми флавоноїдів (від 2,33 % до 3,60 %); окиснених фенолів (від 1,13 % до 1,98 %); суми гідроксикоричних кислот (від 0,201 % до 0,960 %); танінів (від 1,36 % до 2,88 %); органічних кислот (від 1,37 % до 1,52 %); в тому числі аскорбінової кислоти (від 0,05 % до 0,08 %).

Опрацьовано оптимальні параметри одержання екстрактів, розроблено методики їх стандартизації та досліджено фармакологічну активність. На основі сухого екстракту листків сосни звичайної розроблено м'яку лікарську форму.

Уперше проведено морфолого-анатомічне вивчення листків с. гірської, с. кедрової Європейської, с. звичайної та с. Веймутової; встановлено їх відмінні діагностичні ознаки. Отримані результати фітохімічного та морфолого-анатомічного досліджень використані при розробці МКЯ на листки сосни звичайної.

Уперше були встановлені та науково-обґрунтовані терміни заготівлі листків сосни звичайної.

Новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель «Мазь з екстрактом листків сосни звичайної з ранозагоювальною дією» UA № 113879 від 27.02.2017 р.

Практичне значення отриманих результатів. На основі проведених фітохімічних, фармакологічних досліджень доведена можливість застосування видів роду Сосна як рівноцінної лікарської рослинної сировини. Розроблено технологію одержання мазі з сухим екстрактом листків сосни звичайної. За результатами досліджень розроблено проекти «Інструкції із заготівлі та сушіння листків сосни звичайної», МКЯ «Сосни звичайної листки» та «Сосни звичайної листків екстракт сухий».

За матеріалами роботи видано монографію «Природа лікує... Перспективи використання рослин роду Сосна у медицині та фармації», основні положення якої впроваджено в навчальний процес кафедри фармакогнозії, фармакології й ботаніки ДВНЗ «Запорізький державний медичний університет»; кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків ФПО ДВНЗ «Запорізький державний медичний університет»; кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету; кафедри організації економіки фармації й фармакогнозії Одеського національного медичного університету; кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»; кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії ДВНЗ «Луганський державний медичний університет»; кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету (акти впровадження від 16.04.2014; 23.04.2014; 24.04.2014; 06.05.2014; 03.06.2014; 07.11.2014; 10.11.2014 року відповідно).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною

завершеною науковою працею. Дисертанту належить вирішальна роль у визначенні мети дослідження, шляхів її реалізації, плануванні та проведенні експерименту, інтерпретації та узагальненні одержаних результатів, формуванні основних положень та висновків, що захищаються.

Безпосередньо автором здійснено інформаційно-патентний пошук, встановлено основні групи БАР в листках видів роду Сосна в залежності від фази вегетації, проведено морфолого-анатомічне дослідження видів роду Сосна, встановлено діагностичні макро- і мікроскопічні ознаки досліджуваної сировини, що використано при її стандартизації. Розроблено параметри одержання екстрактів із листків с. звичайної та проведено його стандартизацію, досліджено його фармакологічну активність, встановлено запаси сировини видів роду Сосна.

Результати експериментальних досліджень самостійно проаналізовано та систематизовано, оформлено у вигляді таблиць, рисунків, діаграм, актів впровадження, проектів МКЯ, фотознімків. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, особистий внесок здобувача відображено в списку публікацій.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи викладені та обговорені на 80-й ювілейній Науково-практичній конференції студентів і молодих учених за участю міжнародних спеціалістів «Працюємо, творимо, презентуємо» (Івано-Франківськ, 2011); XXIX Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів» (Харків, 2012); 81-й Науково-практичній конференції студентів і молодих учених з міжнародною участю «Сучасні проблеми медицини й фармації в наукових розробках студентів і молодих вчених» (Івано-Франківськ, 2012); III Всеукраїнській науково-практичній конференції «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 2012); Міжнародній міждисциплінарній науково-практичній конференції «Вода й здоров'я людини» (Ужгород, 2013); 83-й Науково-практичній конференції студентів і молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 2014); IV Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології» (Харків, 2014); XXIII Міжнародній науково-практичній конференції «Інформаційні технології: наука, техніка, технологія, освіта, здоров'я» (Харків, 2015); I Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 2014); 4-й Международной научно-практической конференции «Фармацевтический кластер как интеграция науки, образования и производства» (Белгород, 2014); I Міжнародній науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні дослідження лікарських рослин» (Харків, 2015); II международной научно-практической конференции «Химия, био- и нанотехнологии, экология и экономика в пищевой и косметической промышленности» (Харків, 2015).

Апробацію дисертаційної роботи проведено на спільному засіданні професорсько-викладацького складу кафедр: внутрішньої медицини № 2 та медсестринства; медичної біології і медичної генетики; загальної практики (сімейної медицини), фізичної реабілітації та спортивної медицини; анатомії людини; організації та економіки фармації і технології ліків; внутрішньої медицини № 1,

клінічної імунології та алергології ім. Є. М. Нейка; фармації Івано-Франківського національного медичного університету 18 квітня 2017 року.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 24 наукові праці, 8 статей (із них 5 у фахових наукових виданнях України та 3 в іноземних виданнях), 1 патент України на корисну модель, 1 монографія та 14 тез доповідей.

Обсяг та структура дисертації. Дисертацію викладено на 246 сторінках друкованого тексту, складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 8 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 158 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 66 таблицями та 26 рисунками. Список використаних джерел містить 190 найменувань, з яких 167 кирилицею та 23 латиною.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Перспективи використання видів роду Сосна в медицині та фармації (огляд літератури)

В огляді літератури наведено ботанічну характеристику, дані про розповсюдження, хімічний склад та застосування рослин роду Сосна в медичній практиці та інших галузях народного господарства. Дані наукових першоджерел свідчать, що види роду Сосна широко розповсюджені на території України; рослини проявляють різноманітну фармакологічну дію за рахунок комплексу БАР, здавна використовуються в народній медицині, фармації та інших галузях народного господарства.

Проведений аналіз літературних даних свідчить, що рослини роду Сосна є цінним джерелом біологічно активних речовин. Враховуючи хімічний склад та доступність сировини, актуальним є фітохімічне дослідження рослин роду Сосна як джерел біологічно активних речовин. Враховуючи широке розповсюдження, використання в народній медицині, можливість заготівлі, перспективним є проведення ресурсознавчих, фітохімічних та фармакологічних досліджень с. звичайної, с. гірської, с. кедрової Європейської, с. Веймутової та створення на їх основі нових лікарських засобів.

Об'єкти й методи дослідження

Розділ присвячено вибору загальної методології фітохімічних, технологічних, біофармацевтичних, фармакологічних та ресурсознавчих досліджень з описом використання методик та наведенням коротких відомостей про прилади й реактиви.

До фітохімічних та ресурсознавчих досліджень обрано найпоширеніші види. Об'єктами дослідження стали 4 види роду Сосна. Сировину заготовляли в різні стадії вегетації з врахуванням бережливого стану до флори.

Вивчення хімічного складу та кількісне визначення біологічно активних речовин видів роду *Сосна*

За допомогою реакції ідентифікації та хроматографічного аналізу в досліджуваній сировині виявлено речовини фенольного характеру, полісахариди, амінокислоти, органічні кислоти.

Проведено дослідження зі встановлення компонентного складу ефірної олії. Отримані результати свідчать, що листки с. звичайної, с. гірської, с. кедрової Європейської та с. Веймутової містять від 16 до 27 компонентів ефірної олії. Домінуючими й спільними є такі компоненти: α -пінен, лімонен, 3-карен, камфен, борнілацетат, 6,6-диметил-2-метилен-1(S)-біцикло[3.1.1]гептан, *c*-хімакселен, 7-пропіл-цис-біцикло[3.2.0]гептан, *p*-хімакселен, трицикло[3.2.1.0^{2,4}]октан, лонгіпінокарвон. Також у досліджуваній сировині не було ідентифіковано 5 компонентів, які знаходились у мінорних кількостях. Кількісний вміст домінуючих сполук представлений у табл. 1.

Таблиця 1

Компонентний склад ефірної олії видів роду *Сосна*

Об'єкти дослідження	Сполуки	Кількісний вміст речовин, %
1	2	3
Сосна Веймутова (<i>Pinus strobus</i> L.)	Лімонен	29,85
	α -Пінен	26,65
	Камфен	22,12
	Борнілацетат	8,676
	6,6-Диметил-2-метилен-1(S)-біцикло[3.1.1]гептан	4,020
	3-Карен	3,298
	Борнеол	1,410
	Трицикло[2.2.1.0 ^{2,6}]гептан	1,960
Сосна кедрова Європейська (<i>Pinus cembra</i> L.)	<i>c</i> -Хімакселен	35,29
	7-Пропіл-цис-біцикло[3.2.0]гептан	13,40
	<i>p</i> -Хімакселен	13,26
	Трицикло[3.2.1.0 ^{2,4}]октан	9,869
	Лонгіпінокарвон	4,564
	(Z,Z)-5,10-Пентадекадієн-1-ол	3,161
	Курлон	3,215
	1-Метилен-2 β -гідроксиметил-3,3-диметил-4 β -(3-метилбут-2-феніл)циклогексан	2,042
	Тумерон	2,794
	6-(3-Метил-3-циклогексанол)-2-метил-2,6-гептан дієн	1,568
	Цис-Z- α -бісаболен епоксид	1,189
	<i>p</i> -Лонгіпінен	0,335

1	2	3
Сосна звичайна (<i>Pinus sylvestris</i> L.)	α -Пінен	52,51
	3-Карен	22,84
	<i>n</i> -Лімонен	5,839
	Камфен	3,67
	1,2-Циклооктадієн	3,786
	β -Пінен	2,379
	1-Метилен-2 β -гідроксиметил	1,504
Сосна гірська (<i>Pinus mugo</i> L.)	α -Пінен	52,71
	3-Карен	25,16
	<i>n</i> -Лімонен	7,193
	1-Метилен-2-вінілциклопентан	2,263
	2,6-Диметил-2,7-октадієн-1,6-діол	2,408
	2,6-Диметил-2,4-октадієн-1,6-діол	2,757
	Сантоліна-трієн	1,691
	2-Метил-6-метилен 7-октен-2-ол	1,303

Хроматографічний профіль компонентів ефірної олії сосни звичайної представлено на рис. 1.

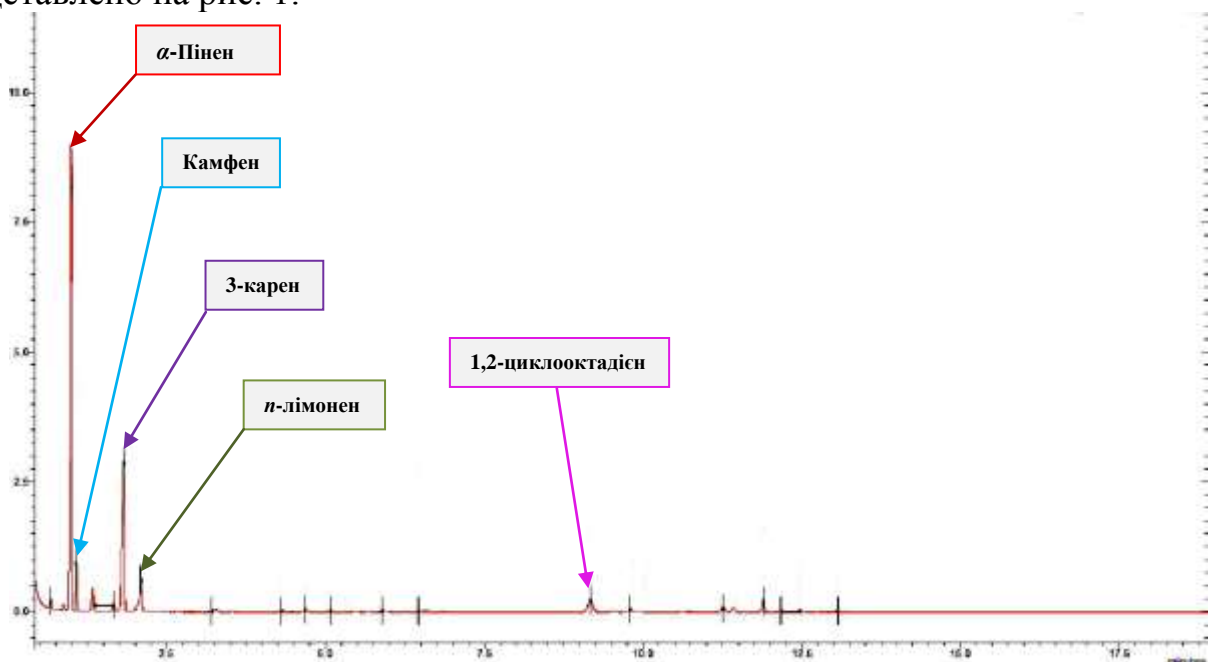


Рис. 1. Хроматографічний профіль компонентів ефірної олії сосни звичайної (*Pinus sylvestris* L.)

Для виділення індивідуальних сполук використовували листки сосни гірської. З використанням рідинного фракціонування, адсорбційної хроматографії на колонках поліаміду, дробної кристалізації, препаративної хроматографії на папері і в тонкому шарі сорбенту з листків сосни гірської виділено в індивідуальному стані 6 речовин, серед яких – 3 гідроксикоричні та хінні кислоти: хлорогенова кислота,

кофейна кислота, *n*-кумарова кислота; флавоноїди: кверцетин, гіперозид, рутин. Фізико-хімічні властивості виділених сполук наведено табл. 2.

Таблиця 2

Основні фізико - хімічні властивості речовин, виділених з сосни гірської

Речовина	Т.пл., °С	$[\alpha]_D^{20}$, град	УФ-спектр, λ max, нм	Система розчинників*	Значення Rf в системах розчинників
Похідні гідроксикоричної та хінної кислоти					
Хлорогенова кислота (5-О-кофеїл-D-хінна кислота)	203-205	-32,8 (метанол)	325, 300, 245	1 2 3	0,67 0,70 0,71
Кофейна кислота (3,4-дигідроксикорична кислота)	194-196	—	325, 300, 235	1 2 3	0,31 0,46 0,84
<i>n</i> -Кумарова кислота (4-гідроксикорична кислота)	212-214	—	325, 310	1 2 3	0,89 0,61 0,48
Флавоноїди, група кверцетину					
Кверцетин (3,5,7,3',4'-пентагідроксифлавонон)	310-312	—	310, 230	2 4 5	0,78 0,63 0,48
Гіперозид (кверцетин-3-О- β -галактопіранозид)	244-246	-59,9 (етанол)	360, 270	1 2 4	0,13 0,34 0,79
Рутин (3-О- β -D-галактопіранозил-5,7,3',4'-тетрагідроксифлавонон)	187-192	-33 (етанол)	362, 264, 258	1 2 4	0,27 0,51 0,79

Примітка. * - Система розчинників: 1. 2 % оцтова кислота, 2. 15 % оцтова кислота, 3. *n*-бутанол – оцтова кислота – вода очищена (4:1:2), 4. хлороформ – оцтова кислота – вода очищена (13:6:1), 5. бензол – етилацетат – оцтова кислота – вода (50:50:1:1)

Методом атомно-абсорбційного спектрального аналізу виявлено елементний склад в листках с. звичайної та с. гірської, заготовлених в Івано-Франківській обл. (2010 - 2013, 2015 рр.) та Закарпатській обл. (2012 р.). В найбільшій кількості в сировині знаходиться Fe, Zn, Mg, вміст Cd знаходився в гранично допустимих межах (ДФУ 2.0; 2.4.8; 2.4.27).

Визначено кількісний вміст суми поліфенолів, танінів, флавоноїдів, суми гідроксикоричних кислот в листках видів роду *Сосна* на різних стадіях вегетації (рис. 2, 3). Розрахунок суми поліфенолів і танінів проводили в перерахунку на

пірогалол ($\lambda=760$ нм), суми флавоноїдів – на рутин ($\lambda=410$ нм), суми гідроксикоричних кислот – на хлоренову кислоту ($\lambda=327$ нм).

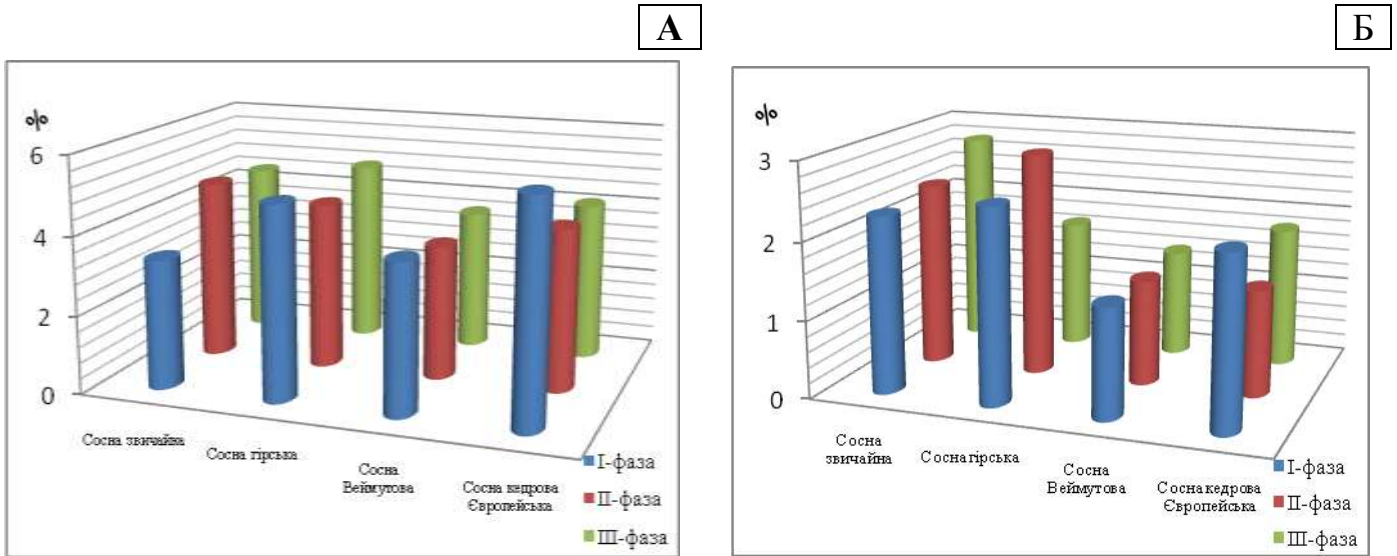


Рис. 2. Вміст суми поліфенолів (А) та танінів (Б) у листках видів роду *Сосна* на різних стадіях вегетації: I – бубнявіння вегетативних бруньок, II – ріст пагонів і хвої, III – літня вегетація

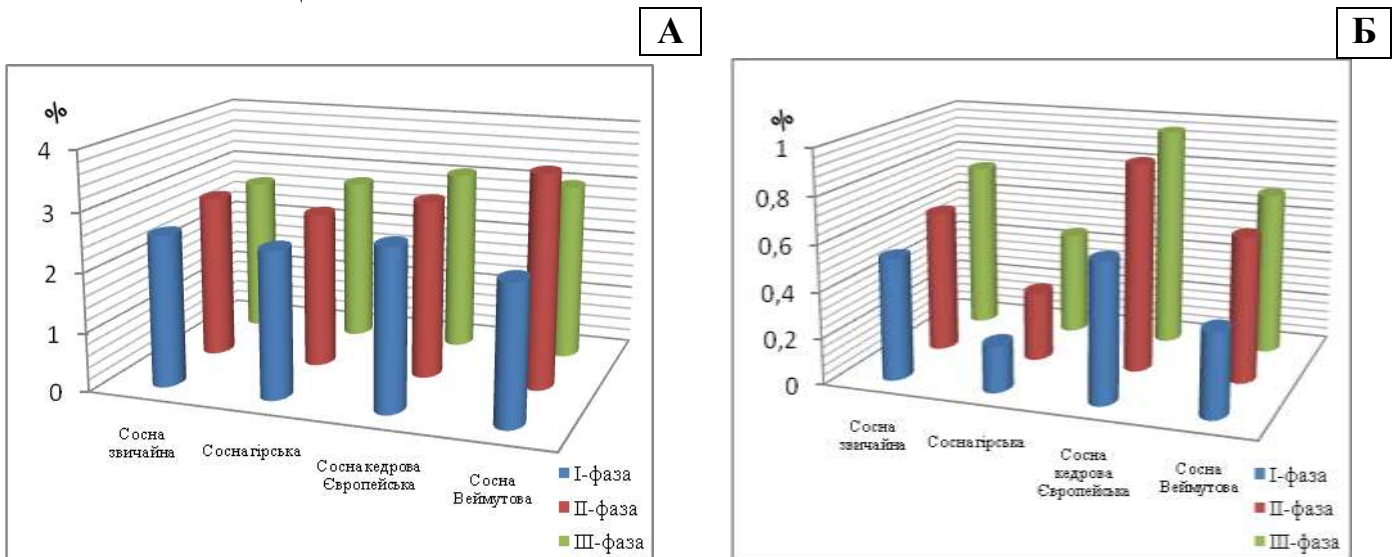


Рис. 3. Вміст суми флавоноїдів (А) та гідроксикоричних кислот (Б) у листках видів роду *Сосна* на різних стадіях вегетації: I – бубнявіння вегетативних бруньок, II – ріст пагонів і хвої, III – літня вегетація

Результати проведених досліджень вказують, що вміст суми поліфенолів у листках видів роду *Сосна* становить 3,31 % - 5,62 %, танінів – 1,36 % - 2,76 %, флавоноїдів – 2,47 % - 3,60 %, вміст суми гідроксикоричних кислот – 0,201 % - 0,960 %.

Вміст окиснювальних фенолів у перерахунку на танін у листках досліджуваних видів коливається в межах від 1,13 % до 1,98 %, залежно від виду рослин. Найвищий вміст окиснювальних фенолів відмічено у листках сосни гірської – 1,98 %.

У чотирьох видах роду Сосна за фармакопейною методикою встановлено вміст аскорбінової кислоти, який склав у с. звичайній не менше 0,05 %, с. гірській – 0,07 %, с. кедровій Європейській – 0,06 %, с. Веймутовій – 0,05 %.

Проведено кількісне визначення вільних органічних кислот у листках с. звичайної, с. Веймутової, с. кедрової Європейської та с. гірської. Вміст вільних органічних кислот становить від 1,37 % до 1,59 % в залежності від фази вегетації (рис. 4).

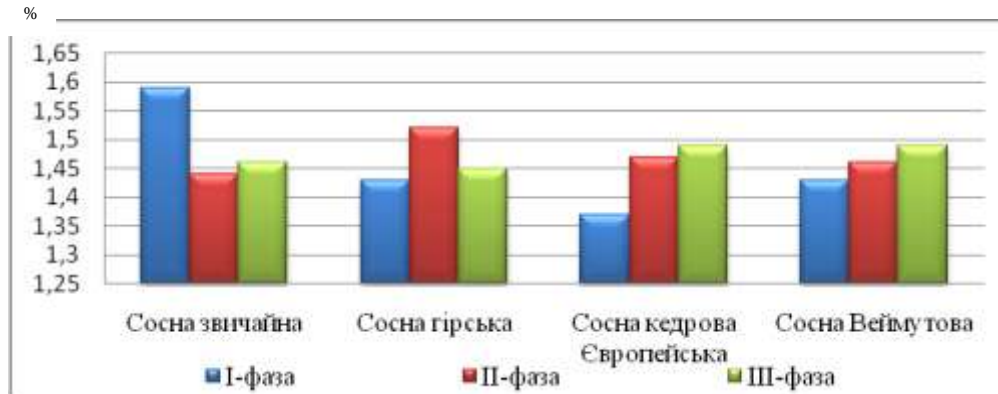


Рис. 4. Кількісний вміст вільних органічних кислот у листках видів роду Сосна на різних стадіях вегетації: I – бубнявіння вегетативних бруньок, II – ріст пагонів і хвої, III – літня вегетація

У листках с. звичайної та с. гірської визначено вміст 17 вільних амінокислот, 7 з яких є незамінні. В усіх досліджуваних зразках сировини переважали аспарагінова та глютамінова кислоти, аргінін, гліцин, валін та аланін.

Вміст окремих амінокислот в листках с. звичайної коливався в межах від 0,75 мг/100 мг до 14,5 мг/100 мг; в с. гірській – від 0,81 мг/100 мг до 14,8 мг/100 мг.

З листків с. звичайної виділено фракції водорозчинних полісахаридів (ВРПС), пектинових речовин (ПР), геміцелюлози А (ГЦ А) та геміцелюлози Б (ГЦ Б). Вміст полісахаридів встановлювали гравіметрично. Вміст водорозчинних полісахаридів склав (1,84 %), пектинових речовин вміст – (0,42 %), геміцелюлози А - (0,98 %) та геміцелюлози Б – (0,84 %). У фракціях ВРПС присутні такі моносахариди як глюкоза, арабіноза, рамноза, ксилоза, фруктоза. Мономерний склад ПР досліджуваної сировини представлено глюкозою, арабінозою, ксилозою, фруктозою та кислотою глюкуроною. У гідролізатах фракцій ГЦ А виявлено глюкозу, арабінозу, рамнозу, фруктозу та галактуронову кислоту; у фракції ГЦ Б – глюкозу, арабінозу, ксилозу, фруктозу та галактуронову кислоту.

Виділення комплексів біологічно активних речовин, дослідження їх фармакологічної активності та розробка лікарської форми

Досліджено параметри одержання екстрактів з листків видів роду Сосна. На прикладі с. звичайної встановлено, що умовами виділення БАР з листків є подрібнення сировини до розміру частинок 1,0 – 2,5 мм, екстрагування водою очищеною або 70 % етанолом при температурі кипіння екстрагента протягом 30 хв. Оптимальне співвідношення між сировиною й екстрагентами становило 1:15.

Повнота виділення біологічно активних речовин екстрагентів досягалася при трикратній екстракції.

Враховуючи встановлені параметри, шляхом сублімаційного висушування одержано сухі екстракти з листків с. звичайної: СЗ (екстрагент – 70 % етанол) та СЗ-0 (екстрагент – вода очищена). Екстракт СЗ – це однорідний гігроскопічний пухкий порошок світло-коричневого кольору, вихід становить 9,2 %. Екстракт СЗ-0 – це однорідний гігроскопічний порошок коричневого кольору, вихід становить 10,5 %.

Стандартизацію екстракту СЗ проводили за показниками розробленого проекту МКЯ «Сосни звичайної листків екстракт сухий»: опис, ідентифікація, залишкові кількості органічних розчинників, втрата в масі при висушуванні, загальна зола, важкі метали, мікробіологічна чистота та кількісне визначення.

Вивчення токсичності та біологічної активності екстракту сосни звичайної проведено при консультаційній допомозі дійсного члена Української академії наук, професора Клименка А. О. та завідувача кафедри біологічної та медичної хімії ім. академіка Г. О. Бабенка, професора Ерстенюк Г. М.; завідувача кафедри анатомії людини професора Попадинець О. Г.

Експериментальні дослідження проводили на білих нелінійних мишах, щурах та кроликах, вирощених у віварії Івано-Франківського національного медичного університету, які були стандартизовані за фізіологічними й біохімічними показниками й знаходилися в умовах віварію згідно з вимогами санітарно-гігієнічних норм на стандартному раціоні.

Дослідження гострої токсичності показало, що екстракт СЗ відноситься до V класу токсичності – практично нетоксичних речовин при внутрішньошлунковому введенні (Стефанов О. В., 2001).

Протизапальну активність екстрактів вивчали на моделі термічного запалення лапи щурів. Згідно з результатами дослідження більш виражену протизапальну активність проявляє водно - спиртовий екстракт с. звичайної, який пригнічує реакцію на 5 годину на 11,3 %.

Дослідження антимікробної активності методом дифузії в агар із застосуванням паперових дисків свідчить, що екстракт с. звичайної СЗ виявляє бактеріостатичну активність стосовно паличкоподібної та кокоподібної мікрофлори (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*).

На основі проведених технологічних, біофармацевтичних та мікробіологічних досліджень було розроблено склад та запропоновано технологію виготовлення мазі. Якість мазі оцінювали за наступними показниками: зовнішній вигляд, запах, колір, рН та кількісний вміст суми поліфенолів. Встановлено, що досліджувана мазь з екстрактом с. звичайної характеризувалась стабільними показниками якості впродовж одного року.

Встановлено фармакологічні властивості одержаної мазі з екстрактом с. звичайної: гостру токсичність, протизапальну активність, ранозагоювальну та подразнювальну дію.

Дослідження гострої токсичності одержаної мазі з екстрактом с. звичайної проводили на білих мишах при пероральному введенні. Результати дослідження

вказують на те, що розроблена лікарська форма відноситься до практично нетоксичних речовин.

Вивчення протизапальної активності мазі з екстрактом с. звичайної проводили на моделі запалення лапи щура. Встановлено, що при лікуванні досліджуваною маззю через 1 год після аплікації набряк лапок знижувався в порівнянні з контролем на 49,41 %. В наступні 3 – 5 год протизапальна активність підвищувалась на 42,45 % – 52,79 %. Через 24 год пригнічення набряку лапи становило 43,03 % в порівнянні з контролем. Наведені дані свідчать, що досліджувана мазь проявляє протизапальну активність. Усі фармакологічні дослідження були підтверджені гістологічно.

Дослідження ранозагоювальної дії відтворювали на моделі лінійної різаної рани на щурах під барбаміловим наркозом (0,8 мл 1 % водного розчину барбамілу на 100 г маси тіла) в асептичних умовах. Вивчення біохімічних і гематологічних показників крові дослідних тварин проводили в «Центрі біоелементології» Івано-Франківського національного медичного університету. Прискорення заживлення ранового процесу спостерігається при застосуванні мазі з екстрактом сосни звичайної (зменшення площі рани до $50,1 \pm 0,63$ і $2,13 \pm 0,08$ мм² на 7 і 14 доби відповідно. Вміст загального білка в досліджуваній групі становив $46,2 \pm 0,43$ г/л, а рівень молекул середньої маси $0,27 \pm 0,009$ у.о. Отримані результати свідчать, що прискорення заживлення ранового процесу спостерігається при застосуванні мазі з сухим екстрактом с. звичайної.

Спосіб одержання мазі з екстрактом сосни звичайної, яка проявляє ранозагоювальну дію, захищено патентом України на корисну модель UA № 113879.

Подразнювальну дію мазі вивчали на слизовій оболонці ока кролика шляхом внесення 50 мг препарату в кон'юнктивальний мішок ока. Встановлено, що після внесення нативного препарату виникає слабо виражена подразнююча дія, симптоми якої проходили на 2 добу без медикаментозного лікування.

Дослідження подразнювальної дії вивчали на морських свинках, шляхом нанесення на депільовану бокову поверхню тулуба тварин: загибелі, симптомів гострої інтоксикації не викликало за весь період спостереження. Видимих змін зі сторони шкіри не спостерігалось, використовували метод В. Б. Прозоровського та співавт. Можна сказати що препарат не володіє місцево – подразнювальною та шкірно резорбтивною дією.

Ресурсознавчі дослідження видів роду Сосна та розробка проекту методів контролю якості на сировину сосни звичайної

Для забезпечення ЛРС запропонованого ранозагоювального засобу досліджено поширення видів роду Сосна на території України та визначено запаси на виявлених місцях зростання на території Івано-Франківської, Закарпатської областей.

Ідентифікацію видів роду Сосна проводили при консультативній допомозі співробітників Державного дендрологічного парку «Дружба» ім. З. Павлика (директор Т. І. Козак) та доцента кафедри біології та екології Прикарпатського національного університету ім. Василя Стефаника к. б. н. Шумської Н. В.

Результати порівняльного морфолого-анатомічного дослідження видів роду Сосна наведено в табл. 3.

Таблиця 3

Порівняльна характеристика морфолого-анатомічних ознак листків видів роду Сосна

Вид	Сосна звичайна	Сосна гірська	Сосна кедрова Європейська	Сосна Веймутова
Морфологічні ознаки	Кінці листка загострені, щільні, сизо-зеленого кольору, довжиною від 4, 5, 7 см.	Кінці листка тупі, товсті та шорсткі, темно-зеленого кольору, довжиною від 2 до 5 см.	Кінці листка загострені, густі, шорсткі, темно-зеленого кольору, довжиною до 8 см.	Кінці листка загострені, тонкі та повислі, сизо-зеленого кольору, довжиною до 14 см.
Час опадання	Листки тримаються на гілках від 3 до 5 років.	Листки тримаються на гілках від 5 до 10 років.	Листки тримаються на гілках від 3 до 5 років.	Листки тримаються на гілках від 3 до 5 років.
Розміщення на пагонах	По 2 в пучку.	По 2 в пучку.	По 5 в пучку.	По 5 в пучку.
<i>Анатомічні ознаки</i>				
При розгляді препарату видно суцільну золотисту плівку кутикули, яка вкриває одношарову епідерму. Клітини епідерми видовжені, слабо звивисті, з тангентальними зовнішніми і внутрішніми стінками. Продихи заглиблюються нижче у тканину гіподерми, під ними розташована велика повітряна порожнина				

Мікроструктуру поверхні листків описували згідно з термінологією, узагальненою в працях (Bačič et al., 1992; Dickison, 2000; Deckert et al., 2001).

Визначено характерні діагностичні ознаки для досліджуваних видів: *Pinus strobus* L. – листки трикутні в перерізі, епістоматичні, продихи розташовані на двох адаксіальних поверхнях повздовжніми рядами; *Pinus mugo* Turra – листки напівокруглі в перерізі, амфістоматичні, на обох поверхнях продихи розташовані правильними рядами, паралельними до повздовжньої осі листка; *Pinus sylvestris* L. – листки амфістоматичні, на обох поверхнях продихи розташовані правильними рядами, паралельними до повздовжньої осі листка; *Pinus cembra* L. – листки трикутні в перерізі, епістоматичні: продихи розташовані на двох адаксіальних поверхнях повздовжніми рядами, що чергуються з рядами основних клітин епідерми (рис. 5).

Відмінні діагностичні ознаки ультраструктури поверхні епідерми листків с. звичайної, с. гірської, с. кедрової Європейської та с. Веймутової наведено на рис. 5. Відмінними морфологічними ознаками є розміщення листків на пагонах, час їх опадання, довжина та будова листкової пластинки, мікроскопічними ознаками є будова епідермальних клітин верхньої та нижньої сторони листків, наявність перистоматичних кілець, епістоматична порожнина, воскова кірка.

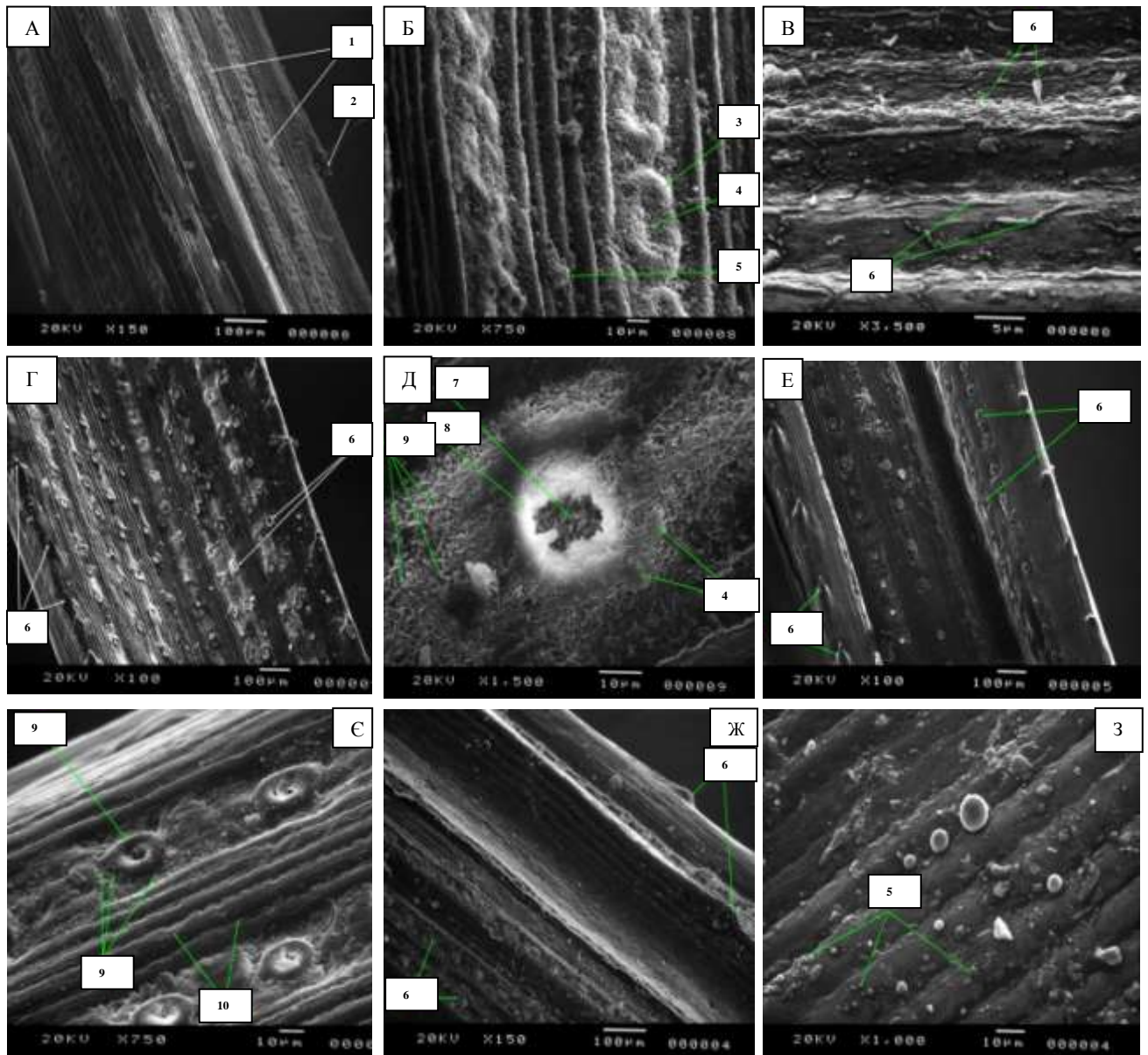


Рис. 5. Ультраструктура поверхні епідерми листків: А, Б, В – с. Веймутової; Г, Д – с. гірської; Е, Е – с. звичайної; Ж, З – с. кедрової Європейської. 1 – перистоматичне кільце, 2 – епістоматична порожнина з потужними шарами кристалічних форм епікутикулярного воску, 3 – абразивні відкладення аморфного епікутикулярного воску на основних клітинах епідерми, 4 – воскова кірка, 5 – абразивні воскові відкладення, 6 – ряди продихів, 7 – епістоматична порожнина, 8 – перистоматичне кільце, 9 – кристалічні форми епікутикулярного воску, 10 – воскова кірка на поверхні основних клітин епідерми

При розробці методів контролю якості листків с. звичайної нами визначені числові показники доброякості сировини, а також досліджено їх зміни в процесі зберігання сировини, що дозволило встановити термін придатності сировини.

На основі проведених досліджень запропоновано такі параметри оцінки доброякості сировини: вміст суми поліфенолів не менше 3 %, втрата в масі при висушуванні не більше 10 %, золи загальної не більше 9,0 %, золи нерозчинної в

10 % розчині кислоти хлористоводневої не більше 2,0 %, мінеральних домішок не більше 2,0 %.

Встановлено, що втрата в масі при висушуванні, кількісний вміст суми поліфенолів в сировині протягом трьох років суттєво не змінюється. Отже, термін придатності листків сосни звичайної може бути встановлений до трьох років.

Показники доброякісності листків сосни звичайної включені до проекту МКЯ «Сосни звичайної листки» та «Інструкції із заготівлі та сушіння листків сосни звичайної».

ВИСНОВКИ

1. У дисертації наведено теоретичне узагальнення та практичне вирішення наукових задач, які полягають у пошуку нових джерел БАР серед видів роду Сосна флори України і визначено перспективні види, встановлено якісний склад і кількісний вміст БАР, одержано екстракти листків сосни звичайної, визначено їх фармакологічну активність, визначено запаси сировини, розроблено лікарську форму – мазь і запропоновано методи аналізу фітозасобів.

2. Встановлено, що в сировині досліджуваних видів наявні фенольні сполуки: прості феноли, гідроксикоричні кислоти, таніни, флавоноїди; органічні кислоти, амінокислоти, полісахариди, ефірні олії, макро- та мікроелементів, що дозволило запропонувати листки видів роду Сосна як перспективну ЛРС з протизапальною та ранозагоювальною дією.

3. Визначено, що вміст БАР у сировині досліджуваних об'єктів становить: ефірної олії (0,10 % – 0,61 %), суми поліфенолів (3,31 % – 5,62 %); танінів (1,36 % – 2,88 %); суми флавоноїдів (2,33 % – 3,60 %); окиснювальних фенолів (1,13 % – 1,98 %); аскорбінової кислоти (0,05 % – 0,08 %); вільних органічних кислот (1,37 % – 1,52 %); суми гідроксикоричних кислот (0,201 % – 0,960 %) в залежності від виду сировини, місця зростання й фази вегетації.

4. Уперше хромато-мас-спектрометричним методом досліджено компонентний склад ефірної олії листків с. звичайної, с. гірської, с. кедрової Європейської та с. Веймутової; ідентифіковано від 16 до 27 компонентів. Домінуючими й спільними є такі компоненти: пінен, лімонен, 3-карен, камфен, борнілацетат, 6,6-диметил-2-метилен-1(S)-біцикло[3.1.1]гептан, с-хімакселен, 7-пропіл-цис-біцикло[3.2.0]гептан, р-хімакселен, трицикло[3.2.1.0^{2,4}]октан, лонгіпінокарвон. З використанням хімічних та фізико-хімічних методів аналізу, різних видів хроматографії у порівнянні з досліджуваними зразками з листків сосни гірської виділено і ідентифіковано 6 сполук: 3 гідроксикоричні кислоти – *n*-кумарова, кавова, хлорогенова; 3 флавоноїди – кверцетин, гіперозид, рутин. У досліджуваних видах сировини встановлено наявність 17 амінокислот, з них – 7 незамінних (лізин, ізолейцин, лейцин, метіонін, фенілаланін, треонін, валін). Встановлено кількісний вміст фракцій полісахаридів та їх мономерний склад, який представлено глюкозою, арабінозою, фруктозою, рамнозою, ксилозою, глюкуроною та галактуроною кислотами.

5. Розроблені технологічні параметри одержання екстрактів з листків с. звичайної. Оптимальними умовами виділення БАР є 3-кратна екстракція сировини, подрібненої до розміру частинок 1,0 – 2,5 мм водою очищеною або 70 % етанолом при температурі кипіння екстрагента протягом 30 хв при співвідношенні сировини – екстрагент 1:15. Проведено стандартизацію одержаних екстрактів. Екстракти є нетоксичними, проявляють протизапальну, антимікробну та ранозагоювальну дію.

6. Розроблено склад мазі з екстрактом листків с. звичайної, створено технологічну схему її виробництва, запропоновано методики стандартизації; на основі результатів моніторингу фізико-хімічних показників мазі доведено її стабільність у процесі зберігання протягом року. За одержаними результатами отримано патент України на корисну модель № 113879.

7. Встановлено макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки листків видів роду Сосна та запропоновано показники доброякісності сировини. На основі моніторингу ряду показників визначено термін придатності сировини становить до 3 років. За результатами фітохімічного та морфолого-анатомічного досліджень розроблено проект МКЯ «Сосни звичайної листки».

8. Виявлено місця зростання видів роду Сосна в Івано-Франківській та Закарпатській областях, визначено біологічний та експлуатаційний запас сировини, обсяг можливої щорічної заготівлі.

9. За результатами фітохімічного та морфолого-анатомічного досліджень розроблено проекти МКЯ «Сосни звичайної листки», «Сосни звичайної листків екстракт сухий», «Інструкції із заготівлі та сушіння листків сосни звичайної».

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Мандзій Т. П., Грицик А. Р. Доказова фармація: Комплексне використання сосни звичайної. *Український вісник психоневрології*. 2011. Т. 19, вип. 2 (67), додаток. С. 194-195. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці матеріалу та написанні статті).

2. Стасів Т. Г., Мандзій Т. П. Застосування ефірних олій у комплексному лікуванні туберкульозу. *Український вісник психоневрології*. 2012. Т. 20, вип. 2 (71), додаток. С. 59–61. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, оформлення статті).

3. Грицик А. Р., Сас І. А., Мандзій Т. П. Дослідження органічних кислот видів роду Сосна та Буквиця. *Український вісник психоневрології*. 2013. Т. 21., вип. 2 (75), додаток. С. 87–89. (Особистий внесок – проводив дослідження та брав участь у підготовці статті).

4. Дослідження антибактеріальної активності екстрактів видів роду Буквиця, Сосна, Астранція та Котяча м'ята справжня / А. Р. Грицик, І. А. Сас, Т. П. Мандзій, Т. І. Коляджин, Т. Г. Стасів. *Український вісник психоневрології*. 2014. Т. 22, вип. 2 (79), додаток. С. 119–122. (Особистий внесок – брав участь у дослідженнях та підготовці статті).

5. Increase of pine acerose leaves application efficacy / L. V. Krichkovskaya, A. R. Grycyk, T. P. Mandzii, S. V. Zhirnova, K. E. Yastrebova. *The Pharma Innovation Journal*. India, 2014. Vol. 3, № 6. P. 32-36. (Особистий внесок – брав участь у проведенні, обробці отриманих результатів та написанні статті).

6. Investigation of natural antioxidants for inhibition of peroxidation processes / L. V. Krichkovskaya, A. R. Grycyk, T. P. Mandzii, L. S. Myronenko, S. V. Zhirnova, A. S. Shumakova, K. Y. Fedorenko. *The Pharma Innovation Journal*. India, 2014. Vol. 3, № 10. P. 55 – 57. (Особистий внесок – брав участь у проведенні, обробці отриманих результатів та написанні статті).

7. Дослідження ранозагоювальної дії мазі з екстрактом сосни звичайної / Т. П. Мандзій, А. Р. Грицик, А. О. Клименко, І. О. Нектегаєв. *Фармацевтичний часопис*. 2015. № 4. С. 65 – 67. (Особистий внесок – брав участь у проведенні та дослідженнях, обробці отриманих результатів та написанні статті).

8. Попадинець О. Г., Грицик А. Р., Мандзій Т. П. Вивчення протизапальної активності та гострої токсичності екстрактів сосни звичайної. *Фармацевтичний журнал*. 2017. Вип. 3 - 4. С. 89 – 96. (Особистий внесок – провів дослідження та брав участь у написанні статті).

9. Mandzii T. P. Arsenal of Medical Products intended for the local Conservative treatment of Wounds. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2015. Vol. 3, № 12. P. 552 – 555.

10. Патент № 113879 Україна, МПК А 61К9/06 (2006. 01), А61К 36/15 (2006. 01). Мазь з екстрактом листків сосни звичайної з ранозагоювальною дією / Грицик А. Р., Мандзій Т. П., Грицик Л. М. № u 201512631 ; заявл. 21.12.15 ; опубл. 27.02.17, Бюл. № 4. (Особистий внесок – брав участь у патентному пошуку, проведенні експериментальних досліджень та в оформленні патенту).

11. Мандзій Т. П., Грицик А. Р. Природа лікує... Перспективи використання рослин роду Сосна у медицині та фармації. Л. : ДП МВС України «Львів-Інформ-Ресурси», 2013. 71 с. (Особистий внесок – підготовка матеріалів літератури щодо об'єктів дисертаційного дослідження).

12. Мандзій Т. П. Перспективи виготовлення та розробки лікарських засобів. «Reserarch. Creativework. Presentation» : The 80th Anniversary Student Medical Conference with international cooperation, 7 - 8 th of April 2011. Ivano-Frankivsk, 2011. P. 218 – 219.

13. Розробка методів аналізу лікарської рослинної сировини / А. Р. Грицик, Г. І. Мельник, Т. П. Мандзій, У. Б. Сікорин, Л. М. Грицик, Н. І. Тучак, Н. І. Ференц, Н. І. Легінь. *Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів* : матеріали ХХІХ Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, 15 берез. 2012 р. Х. : НФаУ, 2012. С. 29 – 30. (Особистий внесок – участь у постанові завдань, узагальнення результатів, підготовка статті).

14. Мандзій Т. П. Особливості заготівлі сировини сосни звичайної. *Сучасні проблеми медицини і фармації в наукових розробках студентів і молодих вчених* : матеріали 81-ї науково-практичної конференції студентів і молодих вчених з міжнародною участю 29 - 30 берез. 2012 р. Івано-Франківськ, 2012. С. 202 – 203.

15. Мандзій Т. П., Грицик А. Р. Ботанічні особливості, хімічний склад та використання сосни звичайної. *Хімія природних сполук* : матеріали III Всеукраїнської науково-практичної конференції, 30 - 31 жовт. 2012 р. Т., 2012. С. 186. (Особистий внесок – брав участь в плануванні, обробці матеріалу та написанні тез).

16. Мандзій Т. П., Грицик А. Р. Досвід і перспективи використання сосни звичайної при лікуванні туберкульозу. *Вода і здоров'я людини* : матеріали міжнародної міждисциплінарної науково-практичної конференції, 19 - 20 квіт. 2013 р. Ужгород, 2013. С. 191 – 192. (Особистий внесок – участь у постанові завдань, обробці матеріалів, написанні тез).

17. Мандзій Т. П., Грицик А. Р. Ботанічна характеристика видів родини Соснові. *Інновації в медицині* : матеріали 83-ої науково-практичної конференції студентів і молодих учених із міжнародною участю, 27-28 берез. 2014 р. Івано-Франківськ, 2014. С. 198. (Особистий внесок – дисертантом проведено ботанічну характеристику, підготовлено тези до друку).

18. Мандзій Т. П. Специфіка природоохоронного вибору сировини для заготівлі соснових на Західному Поліссі. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології* : матеріали IV науково-практичної конференції з міжнародною участю, 16 - 17 жовт. 2014 р. Х., 2014. С. 194.

19. Кричківська Л. В., Жирнова С. В., Мандзій Т. П. Дослідження вмісту ефірної олії в листках сосни звичайної. *Інформаційні технології: наука, техніка, технологія, освіта, здоров'я* : тези доповідей XXIII Міжнародної науково-практичної конференції : НТУ «ХПІ», 2015. С. 250. (Особистий внесок – проведення експерименту, інтерпретація отриманих даних щодо вмісту ефірної олії, написанні тез).

20. Мандзій Т. П., Грицик А. Р. Еколого-фітоценотичні умови зростання сосни звичайної. *Теоретичні та практичні дослідження лікарських рослин* : матеріали I Міжнародної науково-практичної internet – конференції. Х. : 2014. С. 185 – 187. (Особистий внесок – брав участь у плануванні і проведенні еколого-фітоценотичних умов зростання, написанні тези).

21. Исследование состава эфирных масел рода Сосновых / Л. В. Кричковская, Т. П. Мандзий, С. В. Жирнова, К. Е. Ястребова. *Фармацевтический кластер как 3 интеграция науки, образования и производства* : материалы 4-й Международной научно-практической конференции. Белгород : 2014. С. 94 – 96. (Особистий внесок – дисертантом підготовлено тези до друку).

22. Мандзій Т. П. Перспективи розробки м'якої лікарської форми з сосни звичайної. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали I Міжнародної науково-практичної internet-конференції, 7-8 листоп. 2014 р. Х., 2014. С. 118.

23. Кричківська Л. В., Жирнова С. В., Мандзій Т. П. Дослідження елементного складу в сосні звичайній. *Хімія, біо- і нанотехнології, екологія і економіка в харчовій і косметичній промисловості* : збірник матеріалів II Міжнародної науково-практичної конференції, 8-10 дек. 2014 г. Х., 2014.

С. 140 – 142. (Особистий внесок – участь у постанові завдань, проведенні експерименту, обробці одержаних результатів, написанні тез).

24. Жирнова С. В., Крічковська Л. В., Мандзій Т. П. Виділення і склад ефірних олій сосни гірської. *Інформаційні технології: наука, техніка, технологія, освіта, здоров'я* : тези доповідей XXIV Міжнародної науково-практичної конференції. – Х., 2016. – С. 25. (Особистий внесок – участь у постанові завдань дослідження, узагальнення одержаних результатів, підготовка та оформлення статті).

АНОТАЦІЯ

Мандзій Т. П. Фармакогностичне дослідження видів роду Сосна. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. – Запорізький державний медичний університет МОЗ України, м. Запоріжжя, 2017 р.

Дисертаційну роботу присвячено комплексному фармакогностичному дослідженню листків сосни звичайної (*Pinus sylvestris* L.), сосни гірської (*Pinus mugo* Turra), сосни кедрової Європейської (*Pinus cembra* L.) та сосни Веймутової (*Pinus strobus* L.). Розроблено лікарський засіб на основі листків з сосни звичайної, вибрані параметри стандартизації сировини та лікарського засобу. Встановлені основні анатомічні ознаки листків сосни звичайної, сосни гірської, сосни кедрової Європейської та сосни Веймутової. Використовуючи сучасні методи дослідження, в листках сосни звичайної, сосни гірської, сосни кедрової Європейської та сосни Веймутової ідентифіковано та визначено кількісний вміст органічних кислот, амінокислот, аскорбінова кислоти, макро- та мікроелементів, окиснювальних фенолів, гідроксирочних кислот та флавоноїдів. Визначено технологічні параметри листя сосни звичайної та процесу одержання сухого екстракту та розробки мазі на його основі. Розроблено проекти методик контролю якості «Сосни звичайної листки» та «Сосни звичайної листків екстракт сухий». Новизна підтверджена та захищена патентом України на корисну модель № 113879 «Мазь з екстрактом листків сосни звичайної з ранозагоювальною дією».

Встановлено експлуатаційні запаси, обсяг можливої щорічної заготівлі сировини сосни звичайної, що вказує на можливість розробки лікарських засобів із забезпеченою сировинною базою.

Ключові слова: сосна, фармакогностичне вивчення, біологічно активні речовини, екстракти, фармакологічна активність.

АННОТАЦИЯ

Мандзий Т. П. Фармакогностическое исследование видов рода Сосна. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук (доктора философии) по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и

фармакогнозия. – Запорожский государственный медицинский университет МЗ Украины, г. Запорожье, 2017.

Диссертация посвящена фармакогностическому исследованию биологически активных веществ (БАВ) видов рода Сосна с помощью современных физико-химических методов. Определено количественное содержание основных групп БАВ в листьях сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), сосны горной (*Pinus mugo* Turra), сосны кедровой европейской (*Pinus cembra* L.) и сосны Веймутовой (*Pinus strobus* L.).

В исследуемых видах определено количественное содержание: эфирного масла (0,67 % – 0,92 %), суммы полифенолов (3,31 % – 5,62 %); танинов (1,36 % – 2,88 %); суммы флавоноидов (2,33 % – 3,60 %); окислительные полифенолы (1,13 % – 1,98 %); аскорбиновой кислоты (0,05 % – 0,08 %); свободных органических кислот (1,37 % – 1,59 %); суммы гидроксикоричных кислот (0,201 % – 0,960 %) в зависимости от места произрастания и фазы вегетации.

С помощью колоночной хроматографии в индивидуальном состоянии выделено 6 соединений: 3 гидроксикоричные кислоты - *n*-кумаровая, кофейная, хлорогеновая; 3 флавоноида - кверцетин, гиперозид, рутин.

Впервые в листьях видов рода Сосна хромато-масс-спектрометрическим методом исследован компонентный состав эфирного масла, идентифицировано от 16 до 27 компонентов, в образцах не идентифицированы пять компонентов. Доминирующими и совместными компонентами для всех исследованных видов является пинен, а для с. Веймутова и с. обыкновенной является камфен и мирцен; для с. Веймутова, с. обыкновенной и с. горной – 3-карен; для с. обычной и с. горной – *n*-лимонен; для с. Веймутова и с. горной – сантолина-троен; для с. кедровой европейской и с. обыкновенной – 7-метил бицикло [4.1.0] гептан.

Впервые проведено количественное определение содержания свободных аминокислот (незаменимых и заменимых), содержание отдельных аминокислот в листьях сосны обыкновенной в границах от 0,75 мг/100мг до 14,5 мг/100 мг, в сосне горной – от 0,81 мг/100мг до 14,8 мг/100мг. Установлен мономерный углеводный состав фракций водорастворимых полисахаридов, пектиновых веществ, гемицеллюлозы А и Б, который представлен глюкозой, фруктозой, рамнозой, ксилозой, глюкуроновой и галактуроновой кислотами.

Впервые проведено углубленное изучение макро- и микроскопических признаков листьев сосны горной, сосны кедровой европейской, с. обыкновенной и сосны Веймутовой, в результате которого выявлено диагностические признаки.

Впервые были установлены показатели сырья. За результатами фитохимического и морфолого-анатомического исследования разработан проект МКК «Сосны обыкновенной листья»

Разработаны параметры экстракции БАВ листьев сосны обыкновенной. Экстракты являются нетоксичными и проявляют антимикробное, противовоспалительное, ранозаживляющее действие. Разработан проект МКК на «Сосны обыкновенной листьев экстракт сухой».

Разработан состав мази с экстрактом листьев сосны обыкновенной, создана технологическая схема ее производства, предложены методики стандартизации; на

основе результатов мониторинга физико-химических показателей мази доказана ее стабильность в процессе хранения в течение года, исследовано фармакологическую активность.

Новизна подтверждена и защищена патентом Украины на полезную модель № 113879 «Мазь с экстрактом листьев сосны обыкновенной с ранозаживляющим действием».

Установлены биологические и эксплуатационные запасы, объем ежегодной заготовки сырья сосны обыкновенной, что указывает на возможность разработки лекарственных средств с обеспеченной сырьевой базой. Исследовано изменение показателей качества сырья сосны обыкновенной в процессе хранения и установлен срок годности - до 3 лет.

Ключевые слова: сосна, фармакогностическое изучение, биологически активные вещества, экстракты, фармакологическая активность.

ANNOTATION

Mandzii T. P. – Pharmacognostic study of species of the *Pinus* genus. – Manuscript.

Thesis for the Degree of PhD in Pharmacy, speciality 15.00.02 – Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. – Zaporizhzhya State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhya, 2017.

Thesis is devoted to the pharmacognostic study of biologically active substances (BAS) of species of the *Pinus* genus. The quantitative content of the major groups of BAS in the leaves of *Pinus sylvestris* L., *Pinus mugo* Turra, *Pinus cembra* L. and *Pinus strobus* L. was determined using modern physico-chemical methods.

The quantitative content of essential oil (0,67 % – 0,92 %), total polyphenols (3,31 % – 5,62 %), tannins (1,36 % – 2,88 %), total flavonoids (2,33 % – 3,60 %), oxidizing polyphenols (1,13 % – 1,95 %), ascorbic acid (0,05 % – 0,08 %), free organic acids (1,37 % – 1,59 %), amount of hydroxycinnamic acids (0,201 % – 0,960 %) was determined in the investigated species depending on the place of growth and the phase of vegetation.

Using column chromatography 6 compounds were selected in the individual state: 3 hydroxycinnamic acids – *p*-coumarinic, caffeic, chlorogenic; 3 flavonoids – quercetin, hyperoside, rutin.

Using chromatography-mass spectrometry the component composition of essential oil of the leaves of species of the *Pinus* genus was studied for the first time; from 16 to 27 components of the essential oil were identified and five components were not identified. The dominant and common component for all the investigated species is pinene; for *Pinus strobus* L. and *Pinus sylvestris* L. are camphene and myrcene; for *Pinus strobus* L., *Pinus sylvestris* L. and *Pinus mugo* Turra is 3-carene; for *Pinus sylvestris* L. and *Pinus mugo* Turra is *p*-limonene; for *Pinus strobus* L. and *Pinus mugo* Turra is santolina triene; for *Pinus cembra* L. and *Pinus sylvestris* L. is 7-methylbicyclo[4.1.0]heptane.

For the first time the content of free amino acids (essential and non-essential) was identified and determined; the content of individual amino acids in the *Pinus sylvestris* L.

leaves was detected within 0,75 mg/100 mg – 14,5 mg/100 mg; in the *Pinus mugo* Turra leaves – within 0,81 mg/100 mg – 14,8 mg/100 mg. The monomeric hydrocarbon composition of the fractions of water-soluble polysaccharides, pectin substances, hemicelluloses A and B was determined and represented by glucose, arabinose, fructose, rhamnose, xylose, glucuronic and galacturonic acids.

For the first time more profound study of macroscopic and microscopic features of the leaves of *Pinus sylvestris* L., *Pinus mugo* Turra, *Pinus cembra* L. and *Pinus strobus* L. was conducted, and it was resulted in determination of diagnostic features.

For the first time raw material indicators were established. According to the results of phytochemical, morphological and anatomical researches the project of the Quality Control Methods (QCM) “Leaves of *Pinus sylvestris* L.” was worked out.

The parameters of extraction of BAS of *Pinus sylvestris* L. leaves were developed. Extracts are non-toxic and show antimicrobial, anti-inflammatory and wound-healing activity. The project of QCM “Dry extract of *Pinus sylvestris* L. leaves” was worked out.

The composition of the ointment with the extract of *Pinus sylvestris* L. leaves was developed, a technological scheme of its production was created, standardization methods were proposed; on the basis of the results of monitoring of physic-chemical parameters of the ointment its stability during one year storage was proved, pharmacological activity was investigated.

The novelty is confirmed and protected by the patent of Ukraine on the utility model N.o. 113879 “Ointment with the extract of *Pinus sylvestris* L. leaves with wound-healing effect”.

Operational stocks and volume of possible annual harvesting of *Pinus sylvestris* L. raw material were determined. The obtained results indicate the possibility of development of medicinal products with a well-stocked raw material base.

Key words: *Pinus* L., pharmacognostic study, biologically active substances, extracts, pharmacological activity.