

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет

САС ІРИНА АНАТОЛІЇВНА



УДК: 615.322+582.929.4

ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВИДІВ РОДУ БУКВИЦЯ
(*BETONICA L.*) ФЛОРИ УКРАЇНИ

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Запоріжжя – 2018

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 **Мазулін Олександр Владиленович**, Запорізький державний медичний університет, завідувач кафедри фармакогнозії, фармхімії і технології ліків;

доктор фармацевтичних наук, професор **Ковальова Алла Михайлівна**, Національний фармацевтичний університет, професор кафедри фармакогнозії

Захист відбудеться «14» вересня 2018 року 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 ознайомитися у бібліотеці Запорізького державного медичного університету (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26).

Автореферат розісланий «5» липеня 2018 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради



С. О. Васюк

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Важливим завданням сучасної фармації є пошук рослин з достатньою сировинною базою, раціональне використання сировини, розробка сучасних методик стандартизації та створення на її основі нових лікарських засобів зі спрямованою фармакологічною активністю.

Перспективним та цінним джерелом БАР є рослини роду Буквиця (*Betonica* L., *Stachys betonica* Benth.) родини Глухокропівові (Губоцвіті) – *Lamiaceae* (*Labiatae*). На території України зростає три види буквиці: буквиця перебільшена (*Betonica peraucta* Klokov), буквиця короткозуба (*Betonica brachydonta* Klokov) та буквиця темнувата (*Betonica fusca* Klokov), однак роботи з ботанічної систематики стверджують автентичність цих видів та об'єднують їх в один збірний вид буквиця лікарська (*Betonica officinalis* L.). Види роду Буквиця проявляють широкий спектр фармакологічної активності – антибактеріальну, протизапальну, антисклеротичну, гіпотензивну, седативну. Тому їх здавна використовують у народній медицині. Буквиця лікарська є фармакопейною рослиною в Німеччині, Франції, Болгарії та інших країнах. В Україні буквиця є неофіційною рослиною. Лікарські препарати на основі трави видів роду Буквиця на вітчизняному фармацевтичному ринку відсутні.

Враховуючи розповсюдження видів роду *Betonica* L., несистематичне дослідження груп БАР та відсутність методик стандартизації, актуальним є проведення порівняльного фармакогностичного дослідження найбільш розповсюджених видів: буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої з метою встановлення можливості створення лікарських засобів із седативною, протизапальною та антибактеріальною активністю.

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

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було фармакогностичне дослідження видів роду *Betonica* L. флори України та встановлення можливості отримання лікарських засобів на їх основі.

Для досягнення мети необхідно було вирішити наступні завдання:

- провести попереднє фітохімічне дослідження буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої;
- ідентифікувати та встановити склад основних груп БАР досліджуваних об'єктів;
- визначити кількісний вміст БАР у ЛРС;
- розробити технологічні параметри отримання екстрактів із трави буквиці перебільшеної та із трави буквиці короткозубої, провести їх стандартизацію;
- вивчити токсичність і специфічні фармакологічні властивості екстрактів

трави буквиці перебільшеної і трави буквиці короткозубої та встановити можливість отримання лікарських засобів на їх основі;

- встановити діагностичні морфолого-анатомічні ознаки трави буквиці перебільшеної і трави буквиці короткозубої;

- провести інтродукцію, вивчити акліматизацію та визначити умови культивування видів роду Буквиця;

- провести товарознавчий аналіз трави буквиці перебільшеної та трави буквиці короткозубої і встановити термін придатності сировини на основі моніторингу показників якості;

- розробити проекти МКЯ на перспективну рослинну сировину та отриману з неї субстанцію, інструкції із заготівлі та сушіння трави досліджуваних видів роду Буквиця.

Об'єкт дослідження: порівняльне фармакогностичне вивчення сировини буквиці перебільшеної (*Betonica perauca* Клоков) та буквиці короткозубої (*Betonica brachydonta* Клоков), дослідження екстрактів сухих (отриманих за допомогою води очищеної та водно-спиртових сумішей), індивідуальних БАР, умов зростання рослин.

Предмет дослідження: виділення, ідентифікація БАР буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої, кількісне визначення їх вмісту, стандартизація сировини, розробка технологічних параметрів отримання екстрактів, стандартизація та визначення їх фармакологічної активності, встановлення діагностичних морфолого-анатомічних ознак сировини, урожайність, інтродукція, акліматизація та культивування досліджуваних видів.

Методи дослідження. В експериментальному дослідженні використано наступні методи: морфолого-анатомічні – опис та ідентифікація буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої; ресурсознавчі – виявлення масивів заростей буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої, встановлення біологічного та експлуатаційного запасів рослинної сировини, можливого об'єму її щорічної заготівлі; фізичні та фізико-хімічні – ТШХ, ПХ, ВЕРХ, ААС, ГХ-МС та абсорбційна спектрофотометрія в УФ- та видимій областях; хімічні – ідентифікація і визначення кількісного вмісту БАР; фармакологічні та токсикологічні – дослідження гострої токсичності, антибактеріальної, седативної та антиексудативної активності екстрактів; статистичні – математична обробка отриманих експериментальних даних.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше проведено порівняльне фармакогностичне дослідження таксономічно близьких видів буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої, які раніше ототожнювались із буквицею лікарською.

Вперше проведено комплексне фітохімічне дослідження сировини буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої, в результаті якого встановлено наявність основних груп БАР, визначено кількісний вміст окиснюваних фенолів, суми поліфенолів, танінів, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, органічних кислот, в тому числі кислоти аскорбінової, амінокислотний та елементний склад, полісахаридні комплекси та їх мономерний склад.

Вперше методом ВЕРХ у траві досліджуваних видів встановлено наявність та визначено кількісний вміст індивідуальних сполук фенольної природи. У траві буквиці перебільшеної ідентифіковано 18 сполук (у тому числі 7 прекурсорів танінів, 4 флавоноїди, 2 кумарини та 5 гідроксикоричних кислот), у траві буквиці короткозубої – 14 сполук (у тому числі 7 прекурсорів танінів, 3 флавоноїди, 1 кумарин, 3 гідроксикоричні кислоти). Серед компонентів танінів найбільший вміст має епігалокатехін, серед флавоноїдів – апігенін та лютеолін, серед гідроксикоричних кислот – розмаринова кислота.

Вперше методом ГХ-МС встановлено склад жирних кислот та вуглеводнів досліджуваних видів. У траві буквиці перебільшеної ідентифіковано 18 сполук, загальний вміст яких становить 5419,18 мг/кг, у траві буквиці короткозубої – 17 сполук, загальний вміст яких – 4130,99 мг/кг. Серед ідентифікованих сполук у траві буквиці перебільшеної виявлено 10 насичених жирних кислот: пальмітинова, стеаринова, арахінова, бегенова, лігноцеринова, гексакозанова, маргаринаова, хенейкозанова, трикозанова, пентакозанова; 3 ненасичені жирні кислоти: ліолева, α -ліноленова, олеїнова; 5 вуглеводнів: 1,4-ейкозатетраен, хенейкозан, ейкозан, етил-5,8,11,14-ейкозатетраеноат, гентріаконтан. У траві буквиці короткозубої виявлено 10 насичених жирних кислот: пальмітинова, стеаринова, арахінова, бегенова, лігноцеринова, гексакозанова, маргаринаова, хенейкозанова, трикозанова, пентакозанова; 4 ненасичені жирні кислоти: пальмітолеїнова, ліолева, α -ліноленова, олеїнова; 3 вуглеводні: ейкозан, хенейкозан, етил-5,8,11,14-ейкозатетраеноат.

Вперше розроблено оптимальні умови отримання екстрактів сухих із трави буквиці перебільшеної та із трави буквиці короткозубої, розроблено методики аналізу якісного складу та кількісного вмісту в них БАР.

Вперше проведено вивчення токсичності отриманих екстрактів, їх антибактеріальної, антиексудативної та седативної дії. Встановлено, що найвищу антиексудативну та седативну активність проявляє екстракт сухий із трави буквиці перебільшеної (екстрагент – вода очищена). Спосіб отримання даного екстракту захищено патентом України на корисну модель «Спосіб одержання екстракту трави буквиці перебільшеної із седативною активністю» № 122179 від 26.12.2017 р.

Встановлено морфологічні та анатомічні діагностичні ознаки надземних органів буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої, які використані для ідентифікації рослинної сировини.

Вперше досліджено динаміку накопичення БАР у траві буквиці перебільшеної та у траві буквиці короткозубої в залежності від виду рослинної сировини та місця зростання, що дозволило встановити оптимальні умови її заготівлі. На основі проведених фенологічних та агротехнічних досліджень встановлено можливість культивування буквиці перебільшеної в умовах Прикарпаття.

Практичне значення отриманих результатів. В результаті проведеного фармакогностичного дослідження видів роду Буквиця флори України встановлено основні діагностичні ознаки буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої, що дає можливість їх диференціювання.

Доведено можливість створення лікарських засобів седативної, антиексудативної та антибактеріальної дії на основі БАР сировини досліджуваних видів.

Розроблено проекти МКЯ на рослинну сировину «Буквиці трава» та «Інструкції із заготівлі та сушіння трави буквиці».

Досліджено параметри екстракції БАР, отримано екстракти сухі з трави буквиці перебільшеної та з трави буквиці короткозубої.

Вивчено гостру токсичність, виявлено антибактеріальну, антиексудативну та седативну активність отриманих сухих екстрактів.

На основі отриманих результатів вивчення фармакологічної дії екстрактів з трави видів роду Буквиця встановлено, що найбільш перспективним є екстракт сухий з трави буквиці перебільшеної (екстрагент – вода очищена). Доброякісність даного екстракту регламентується у розробленому проекті МКЯ лікарського засобу «Буквиці трави екстракт сухий».

Матеріали дисертаційного дослідження введено до методичних рекомендацій «Розповсюдження, заготівля та раціональне використання лікарських рослин», які впроваджено у навчальний процес кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету; кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету; кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки, кафедри фармакогнозії, фармхімії і технології ліків Запорізького державного медичного університету; кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету; кафедри медичного та фармацевтичного права, загальної і клінічної фармації Харківської медичної академії післядипломної освіти; кафедри медичної біології, фармакогнозії та ботаніки Дніпропетровської медичної академії Міністерства охорони здоров'я України; кафедри фармацевтичних дисциплін Ужгородського національного університету; кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського; кафедри фармації Буковинського державного медичного університету; кафедри організації економіки фармації і фармакогнозії Одеського національного медичного університету (акти впровадження від 12.02.2014, 02.06.2014, 10.06.2014, 12.06.2014, 16.06.2014, 16.06.2014, 17.06.2014, 24.06.2014, 01.07.2014, 02.07.2014, 02.09.2014 р. відповідно) та практичну роботу випробувального центру державного підприємства «Івано-Франківськстандартметрологія»; ТзОВ «Фітолік» (акти впровадження від 4.06.2014, 21.11.2017 р. відповідно).

Особистий внесок здобувача. Наукові дослідження за темою дисертаційної роботи проводились у співавторстві з науковим керівником – д. фарм. н., проф. Грициком А. Р.

Основна частина роботи виконана автором особисто. Здобувачем самостійно:

- проведено інформаційно-патентний пошук за темою дисертаційної роботи, здійснено аналіз наукових даних із питань сучасних досліджень за проблематикою, що став підґрунтям до вибору об'єкта дослідження;

- проведено визначення якісного складу та кількісного вмісту основних груп БАР видів роду Буквиця;

- визначено діагностичні макро- і мікроскопічні ознаки рослинної сировини видів роду Буквиця;
- досліджено показники якості 5 серій трави буквиці перебільшеної та розроблено проект МКЯ на ЛРС «Буквиці трава»;
- розроблено оптимальні параметри отримання екстрактів сухих із трави буквиці перебільшеної та із трави буквиці короткозубої та вивчено їх фармакологічну активність;
- розроблено проект МКЯ на екстракт сухий із трави буквиці перебільшеної «Буквиці трави екстракт сухий».

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 полягав у виконанні фітохімічних, фармакологічних, ресурсознавчих досліджень видів роду Буквиця, що відображено у списку публікацій.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи викладено та обговорено на VIII Міжнародній науковій практичній конференції «Найновите науки постиження – 2012» (Софія, 2012); 81-ій науково-практичній конференції студентів і молодих вчених з міжнародною участю «Сучасні проблеми медицини і фармації в наукових розробках студентів і молодих вчених» (Івано-Франківськ, 2012); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Терапевтичні читання: сучасні аспекти діагностики та лікування захворювань внутрішніх органів» (Івано-Франківськ, 2012); IX Міжнародній науково-практичній конференції «Фармацевтичне і медичне право України (фармацевтичне і медичне законодавство, судова фармація, доказова фармація)» (Харків, 2012); 82-ій, 83-ій та 84-ій науково-практичних конференціях студентів і молодих вчених з міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 2013, 2014, 2015); Міжнародній міждисциплінарній науково-практичній конференції «Вода і здоров'я людини» (Ужгород, 2013); V та VI науково-практичних конференціях з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2013, 2016); X та XI науково-практичних конференціях за участю міжнародних спеціалістів «Слобожанські читання. Медичне і фармацевтичне право України: інновації, якість, безпека і перспективи розвитку» (Харків, 2013, 2014); I Міжнародній науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 2014); IV науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології» (Харків, 2014); I Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 2014); VIII Міжнародній міждисциплінарній науково-практичній конференції «Сучасні аспекти збереження здоров'я людини» (Ужгород, 2015); II Міжнародній науковій конференції «Агробіорізноманіття для покращення харчування, здоров'я та якості життя» (Нітра, 2015); IV Всеукраїнській науково-практичній конференції «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 2016).

Апробацію дисертаційної роботи проведено на спільному засіданні професорсько-викладацького складу кафедр ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», Національного фармацевтичного університету та Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського 21 листопада 2017 року.

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 23 наукові праці, у тому числі 10 статей (із них 5 – у фахових наукових виданнях України, 2 – у іноземних виданнях), 1 патент України на корисну модель, 11 тез доповідей, 1 методичні рекомендації.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 235 сторінках машинописного тексту (обсяг основного тексту – 143 сторінки), вона складається з анотації, вступу, огляду літератури, експериментальної частини, яка містить розділ з описом об'єктів і методів дослідження та три розділи з результатами експериментів, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Дисертацію ілюстровано 42 рисунками та 47 таблицями. Список використаних джерел містить 177 найменувань, з яких 117 кирилицею та 60 латиною.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Рослини роду Буквиця і перспективи їх використання (огляд літератури)

Проаналізовано дані наукових першоджерел щодо систематики, ботанічної характеристики та розповсюдження видів роду Буквиця, сучасного стану вивчення їх хімічного складу, фармакотерапевтичної активності та шляхів застосування в медицині. Трава буквиці містить цінні БАР, які зумовлюють її виражену фармакологічну дію та широке використання у народній та традиційній медицині. Такі положення, як несистемне вивчення хімічного складу БАР, відсутність на вітчизняному ринку препаратів на основі трави видів роду Буквиця, а також те, що ряд авторів об'єднує їх у один збірний вид буквиця лікарська – *Betonica officinalis* L., вказують на перспективність фармакогностичного дослідження буквиці перебільшеної – *Betonica perauca* Klokov, та буквиці короткозубої – *Betonica brachydonta* Klokov (*Betonica brachyodonta* Klokov), що зростають у західному регіоні України.

Об'єкти і методи дослідження

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

Об'єктами дослідження були трава буквиці перебільшеної – *Betonica perauca* Klokov та трава буквиці короткозубої – *Betonica brachydonta* Klokov, заготовлені у фазу масового цвітіння (червень-липень) у Івано-Франківській, Львівській та

Тернопільській області. Об'єктами фармакологічних досліджень стали екстракти сухі із трави буквиці перебільшеної та із трави буквиці короткозубої, отримані екстрагентами: водою очищеною та водно-спиртовими сумішами.

У розділі наведено методики для розділення суми фенольних сполук (ПХ, ВЕРХ); визначення жирних кислот та вуглеводнів (ГХ-МС); амінокислотного складу (ПХ та з використанням амінокислотного аналізатора ААА Т-339 М «Mikrotechna–Praha»); складу полісахаридів (ПХ, ТШХ, гравіметрія); елементного складу (ААС); вмісту суми поліфенолів, танінів, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот (абсорбційна спектрофотометрія в УФ- та видимій областях); складу та вмісту органічних кислот (ПХ, титриметрія); фармакологічні дослідження проводили *in vivo* та *in vitro* з використанням стандартних методик.

Вивчення хімічного складу та кількісне визначення біологічно активних речовин видів роду Буквиця

За допомогою реакцій ідентифікації, одно- та двовимірної ПХ встановлено, що трава буквиці перебільшеної та трава буквиці короткозубої містять фенольні сполуки: гідроксикоричні кислоти, кумарини, флавоноїди, таніни; терпеноїди: іридоїди, тритерпенові сапоніни; алкалоїди; карбонові кислоти: аскорбінову, щавлеву, винну, лимонну; вільні моноцукри, водорозчинні полісахариди; амінокислоти.

Методом ВЕРХ на хроматографі Agilent Technologies 1200 (США) здійснено розділення суми фенольних сполук досліджуваних об'єктів. Ідентифіковано та встановлено кількісний вміст у траві буквиці перебільшеної 18 сполук фенольної природи, у траві буквиці короткозубої 14 сполук фенольної природи (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст індивідуальних фенольних сполук у траві буквиці перебільшеної та у траві буквиці короткозубої (метод ВЕРХ)

Назва	Вміст індивідуальних фенольних сполук, %	
	Буквиця перебільшена	Буквиця короткозуба
1	2	3
Прекурсори танінів		
Галова кислота	0,031	0,027
Галокатехін	0,318	0,149
Епігалокатехін	2,423	0,520
Катехін	0,175	0,084
Епікатехін	0,136	0,105
Епікатехін галат	0,248	0,038
Катехін галат	0,063	0,058

Продовж. табл. 1

1	2	3
Флавоноїди		
Апігенін	0,176	0,051
Лютеолін	0,188	0,027
Рутин	0,049	0,041
Ізокверцитрин (кверцетин-3-D-глюкозид)	0,056	–
Кумарини		
Кумарин	0,010	0,009
Скополетин	0,004	–
Гідроксикоричні кислоти		
<i>n</i> -Кумарова кислота	0,022	–
Кавова кислота	0,060	–
Ферулова кислота	0,053	0,014
Розмаринова кислота	2,142	1,253
Хлорогенова кислота	0,532	0,264

Визначено, що у траві буквиці перебільшеної вміст фенольних сполук значно більший, ніж у траві буквиці короткозубої. Склад фенольних сполук трави буквиці перебільшеної відрізняється наявністю флавоноїду ізокверцитрину, гідроксикумарину скополетину, гідроксикоричних кислот: кавової та *n*-кумарової.

Вміст жирних кислот та вуглеводнів досліджуваної сировини визначено методом ГХ-МС на хроматографі Agilent Technologies 6890 (табл. 2).

Таблиця 2

Жирні кислоти та вуглеводні трави видів роду Буквиця

Речовина	Назва за IUPAC	Вміст, мг/кг	
		Буквиця перебільшена	Буквиця короткозуба
1	2	3	4
Ненасичені жирні кислоти			
Пальмітолеїнова	(9Z)-Hexadec-9-enoic	–	135,71
α -Ліноленова	(9Z)-Octadeca-9,12,15-trienoic	906,45	860,07
Олеїнова	9-Octadecenoic	сліди	сліди

1	2	3	4
Лінолева	(9Z,12E)-Octadeca-9,12-dienoic	668,16	342,76
<i>Сума</i>		1574,61	1338,54
Насичені жирні кислоти			
Пальмітинова	Hexadecanoic	1789,12	1905,78
Стеаринова	Octadecanoic	862,34	450,69
Арахінова	Icosanoic	159,35	100,94
Бегенова	Docosanoic	154,77	95,24
Лігноцеринова	Tetracosanoic	189,39	119,90
Гексакозанова	Hexacosanoic	84,72	сліди
Маргаринаова	Heptadecanoic	сліди	сліди
Хенейкозанова	Henicosanoic	сліди	сліди
Трикозанова	Tricosanoic	сліди	сліди
Пентакозанова	Pentacosanoic	сліди	сліди
<i>Сума</i>		3239,69	2672,55
Вуглеводні			
1,4-Ейкозадієн	Icosa-1,4-diene	146,10	–
Ейкозан	Icosane	353,16	119,90
Хенейкозан	Henicosane	105,62	сліди
Етил-5,8,11,14-ейкозатетраєноат	Ethyl(5Z,8Z,11Z,14Z)-5,8,11,14-icosatetraenoate	сліди	сліди
Гентріаконтан	Hentriacontane	сліди	–
<i>Сума</i>		604,88	119,90
<i>Загальний вміст</i>		5419,18	4130,99

У траві буквиці перебільшеної ідентифіковано 18 сполук, загальний вміст яких становить 5419,18 мг/кг, у траві буквиці короткозубої – 17 сполук, загальний вміст яких – 4130,99 мг/кг. Серед ідентифікованих сполук у траві буквиці перебільшеної виявлено 10 насичених жирних кислот, 3 ненасичені жирні кислоти та 5 вуглеводнів; у траві буквиці короткозубої виявлено 10 насичених жирних кислот, 4 ненасичені жирні кислоти та 3 вуглеводні.

За допомогою амінокислотного аналізатора ААА Т-339 М «Mikrotechna-Praha» встановлено амінокислотний склад видів роду Буквиця. У траві буквиці перебільшеної та у траві буквиці короткозубої ідентифіковано 17 амінокислот, серед

яких 7 незамінних: треонін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, лізин; 3 умовно незамінних: тирозин, гістидин, аргінін; 7 замінних: гліцин, аланін, серин, аспарагінова та глютамінова кислоти, пролін, цистин. Загальний вміст амінокислот у траві буквиці перебільшеної становить 8,09 мг/100 мг; у траві буквиці короткозубої – 11,65 мг/100 мг. Домінуючими амінокислотами у траві буквиці перебільшеної та у траві буквиці короткозубої є відповідно: глютамінова (1,11 мг/100 мг та 1,52 мг/100 мг) та аспарагінова (0,95 мг/100 мг та 1,31 мг/100 мг), лейцин (0,70 мг/100 мг та 1,07 мг/100 мг) та пролін (0,63 мг/100 мг та 1,01 мг/100 мг).

З трави буквиці перебільшеної та з трави буквиці короткозубої виділено та визначено кількісний вміст фракцій водорозчинних полісахаридів – 3,29 % та 3,13 % відповідно, пектинових речовин – 4,68 % та 3,10 % відповідно, геміцелюлози А – 2,40 % та 1,16 % відповідно, геміцелюлози Б – 6,52 % та 9,70 % відповідно. Методами ПХ та ТШХ встановлено, що моносахаридний склад фракцій полісахаридів представлено глюкозою, арабінозою, ксилозою, рамнозою, фруктозою, глюкуроною та галактураноною кислотами.

Елементний склад видів роду Буквиця вивчали методом ААС. У траві буквиці перебільшеної (БП) та у траві буквиці короткозубої (БК) встановлено кількісний вміст Ca, Mg, K, Cu, Mn, Zn, Fe (рис. 1, рис. 2). Вміст Cd та Pb знаходиться в межах допустимих концентрацій згідно з вимогами Державної фармакопеї України (ДФУ 2.0, Т.1 – 2.4.8) для препаратів рослинного походження.

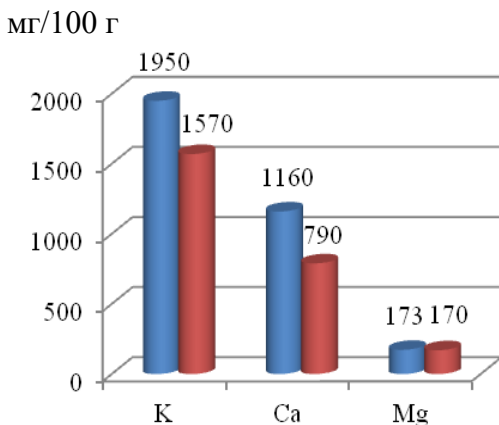


Рис. 1. Кількісний вміст (мг/100 г) макроелементів у траві буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої

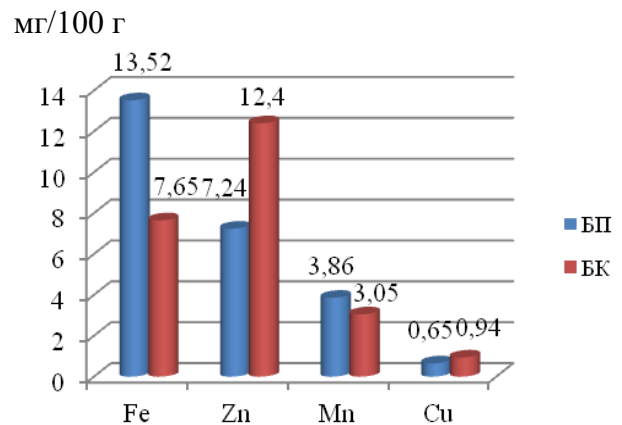


Рис. 2. Кількісний вміст (мг/100 г) мікроелементів у траві буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої

Кількісний вміст основних груп БАР у стеблах, квітках, листках та траві буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої, заготовлених у Івано-Франківській області в місцях утворення ними заростей, встановлено методами абсорбційної спектрофотометрії та титриметрії.

Відмічено, що вміст поліфенолів, танінів, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот та аскорбінової кислоти вищий у листках, вміст суми вільних органічних кислот – у квітках досліджуваних видів. Встановлено, що вміст таких груп БАР, як сума поліфенолів, таніни, флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, сума органічних кислот, вищий у траві буквиці перебільшеної, а вміст аскорбінової кислоти – у траві буквиці короткозубої (табл. 3).

Кількісний вміст основних груп БАР у траві видів роду Буквиця

Група БАР, використаний метод	Вид	Вміст, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n = 9			
		Стебло	Квітки	Листки	Трава
Поліфеноли					
Перманганатометричний (метод Левенталя, змінений А. Л. Курсановим)	Буквиця перебільшена	1,80±0,06	5,87±0,10	6,93±0,18	6,41±0,44
	Буквиця короткозуба	1,10±0,05	4,62±0,18	5,96±0,14	5,28±0,17
Спектрофотометричний у перерахунку на пірогалол (760 нм)	Буквиця перебільшена	1,26±0,01	5,12±0,02	6,47±0,08	5,96±0,04
	Буквиця короткозуба	0,60±0,01	4,14±0,03	5,49±0,04	4,82±0,08
Таніни					
Спектрофотометричний у перерахунку на пірогалол (760 нм)	Буквиця перебільшена	0,38±0,01	0,99±0,02	1,94±0,01	1,62±0,02
	Буквиця короткозуба	0,16±0,01	0,53±0,01	0,87±0,01	0,68±0,02
Флавоноїди					
Спектрофотометричний після гідролізу у перерахунку на апігенін (380 нм)	Буквиця перебільшена	0,83±0,02	1,50±0,02	2,32±0,02	2,07±0,04
	Буквиця короткозуба	0,46±0,01	0,71±0,01	1,35±0,01	1,13±0,01
Гідроксикоричні кислоти					
Спектрофотометричний у перерахунку на хлорогенову кислоту (325 нм)	Буквиця перебільшена	1,73±0,02	4,75±0,04	8,56±0,09	7,01±0,03
	Буквиця короткозуба	0,87±0,02	2,43±0,01	4,37±0,03	3,58±0,02
Органічні кислоти					
Титриметричний у перерахунку на яблучну кислоту	Буквиця перебільшена	1,09±0,09	2,29±0,11	2,08±0,09	2,14±0,29
	Буквиця короткозуба	0,91±0,04	1,89±0,09	1,70±0,08	1,80±0,11
Аскорбінова кислота					
Титриметричний у перерахунку на абсолютно суху сировину	Буквиця перебільшена	0,012± 0,001	0,025± 0,001	0,032± 0,001	0,029± 0,002
	Буквиця короткозуба	0,020± 0,001	0,035± 0,001	0,038± 0,001	0,034± 0,001

Встановлено, що в залежності від місця зростання рослини кількісний вміст БАР варіює: найвищий вміст суми поліфенолів та танінів накопичується у траві

буквиці перебільшеної, що зростає у Галицькому районі Івано-Франківської обл.; флавоноїдів, гідроксикоричних та органічних кислот – у траві буквиці перебільшеної, що зростає у Жидачівському районі Львівської обл.; аскорбінової кислоти – у траві буквиці короткозубої, що зростає у с. Поляниця Яремчанської міської ради Івано-Франківської обл. В залежності від місця зростання у траві буквиці перебільшеної та у траві буквиці короткозубої сума поліфенолів накопичується в межах 5,32 – 5,79 % та 4,12 – 4,71 % відповідно; танінів – 1,14 – 1,43 % та 0,57 – 0,64 % відповідно; флавоноїдів – 2,02 – 2,27 % та 1,13 – 1,24 % відповідно; гідроксикоричних кислот – 6,85 – 7,12 % та 3,58 – 3,94 % відповідно, органічних кислот – 2,00 – 2,21 % та 1,74 – 1,90 % відповідно; аскорбінової кислоти – 0,024 – 0,03 % та 0,033 – 0,036 % відповідно.

Виділення комплексів біологічно активних речовин видів роду Буквиця та дослідження їх фармакологічної активності

Оптимальні параметри екстракції БАР із трави буквиці перебільшеної та із трави буквиці короткозубої встановлено шляхом визначення залежності вмісту БАР та екстрактивних речовин від ступеня подрібнення сировини, виду екстрагента, співвідношення сировина – екстрагент, тривалості та кратності екстракції. Встановлено, що при отриманні екстрактів сировину буквиці слід подрібнювати до розміру часток, що проходять крізь сито з діаметром отворів 2,5 мм та не проходять крізь сито з діаметром отворів 0,5 мм. Подрібнену сировину заливають водою очищеною або 70 % етанолом у співвідношенні 1:15 та 1:10 відповідно та тричі екстрагують у колбі зі зворотнім холодильником на киплячій водяній бані протягом 30 хв.

Враховуючи встановлені параметри екстракції, отримано екстракти сухі (екстрагенти – вода очищена та 70 % етанол) із трави буквиці перебільшеної та із трави буквиці короткозубої. Кількісне визначення БАР в екстрактах, а саме суми поліфенолів, флавоноїдів та гідроксикоричних кислот проводили спектрофотометричним методом (табл. 4).

Таблиця 4

Результати дослідження екстрактів сухих із трави буквиці перебільшеної та із трави буквиці короткозубої

Умовне позначення екстракту	Вихід, %	Втрата в масі при висушуванні, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n=3	Кількісний вміст БАР, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n =9		
			Сума поліфенолів	Флавоноїди	Гідроксикоричні кислоти
БПВ	34,52	4,58±0,18	13,74±0,27	4,37±0,09	17,84±0,29
БПС	34,90	3,69±0,07	11,56±0,13	4,87±0,02	22,01±0,24
БКВ	28,12	4,47±0,10	12,79±0,09	3,25±0,07	14,53±0,08
БКС	31,70	3,53±0,05	9,85±0,18	3,94±0,08	18,01±0,28

Визначено, що вміст суми поліфенолів вищий у екстрактах, отриманих водою очищеною із трави буквиці перебільшеної та із трави буквиці короткозубої; флавоноїдів та гідроксикоричних кислот – у екстрактах, отриманих 70 % етанолом із трави буквиці перебільшеної та із трави буквиці короткозубої.

Гостру токсичність та фармакологічну активність отриманих екстрактів із трави буквиці перебільшеної та із трави буквиці короткозубої досліджували при консультаційній допомозі завідувача кафедри біологічної та медичної хімії ім. академіка Г. О. Бабенка професора Г. М. Ерстенюк та доцента кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії В. М. Іваночка.

Комплекс проведених досліджень з вивчення гострої токсичності екстрактів сухих дозволив встановити відсутність токсичної дії при їх одноразовому внутрішньошлунковому введенні мишам у максимально можливій дозі 6000 мг/кг. Це дає можливість віднести досліджувані екстракти до V класу токсичності речовин з $LD_{50} > 5000$ мг/кг (практично нетоксичні) згідно з токсикологічною класифікацією речовин К. К. Сидорова.

Дослідження антиексудативної активності екстрактів сухих проводили на моделі гострого асептичного карагенінового запалення, що дозволило оцінити вплив потенційних протизапальних засобів на активність основного чинника запалення – циклооксигенази. Як референс-препарати використовували препарат рослинного походження кверцетин (5 мг/кг), та синтетичний нестероїдний протизапальний засіб диклофенак натрію (8 мг/кг). Визначено, що досліджувані екстракти з трави буквиці перебільшеної та з трави буквиці короткозубої в дозі 100 мг/кг здатні впливати на ексудативну фазу запалення та не поступаються за своєю активністю референс-препарату рослинного походження кверцетину. Через 1, 3 та 5 год після початку експерименту найвищу антиексудативну активність проявляв екстракт БПВ: 8,4 %, 25,3 % та 26,2 % відповідно, а найнижчу – екстракт БКС: 2,8 %, 14,4 % та 16,1 % відповідно.

Вивчення седативної активності екстрактів проведено за допомогою стандартного скринінгового поведінкового тесту «Відкрите поле», що надало змогу виявити характер впливу комплексу на центральну нервову систему. Як референс-препарат використовували екстракт кропиви собачої. Встановлено, що введення досліджуваних екстрактів у дозі 100 мг/кг викликало зниження активності мишей у порівнянні з контролем. Найбільш суттєве зниження активності мишей викликало введення екстракту БПВ: -47,62 %; найменше зниження активності викликало введення екстракту БКС: -13,10 %. При цьому при введенні досліджуваних екстрактів спостерігалось зниження як горизонтальної, так і вертикальної активності. Кількість обстежених отворів суттєво знизилась (майже у 2 рази) тільки у групі, якій було введено екстракт БПВ. Сума емоційних реакцій у 1,6 разів знижувалась у групі мишей, яким вводили референс-препарат, та у 1,5 разів – у групі мишей, яким вводили екстракт БКС; при введенні інших досліджуваних екстрактів сума емоційних реакцій залишалась на рівні контролю.

Дослідження антибактеріальної активності екстрактів із трави буквиці перебільшеної та із трави буквиці короткозубої здійснено методом дифузії активної речовини в агар з використанням паперових дисків. Встановлено, що всі екстракти

мають здатність затримувати ріст мікроорганізмів. Найменшу антибактеріальну активність досліджувані екстракти виявили щодо бактерій *Pseudomonas aeruginosa*.

Таким чином, встановлено, що найбільш виражену седативну та антиексудативну активність проявляє екстракт із трави буквиці перебільшеної (екстрагент – вода очищена). Стандартизацію екстракту сухого із трави буквиці перебільшеної проводили за вимогами ДФУ (табл. 5). Доброякісність даного сухого екстракту регламентується у розробленому проекті МКЯ «Буквиці трави екстракт сухий».

Таблиця 5

Показники якості екстракту сухого із трави буквиці перебільшеної (БПВ)

Показник якості	Допустимі межі	Результат		
		Серія 001	Серія 002	Серія 003
Опис	Гігроскопічний порошок світло-коричневого кольору з приємним специфічним запахом, гіркою смаку	Відповідає		
Розчинність	Легкорозчинний у воді, помірно розчинний у 40 % етанолі, не розчинний в хлороформі, етилацетаті та діетиловому етері	Відповідає		
Ідентифікація	Метод ТШХ	Відповідає		
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 5 %	4,58±0,18	4,44±0,15	4,66±0,09
Загальна зола	Не більше 1 %	0,90±0,01	0,91±0,02	0,91±0,01
Важкі метали	Не більше 0,002 %	Відповідає		
Мікробіологічна чистота	В 1 г препарату не більше 100 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій та деяких інших грамнегативних бактерій, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> та <i>Staphylococcus aureus</i> у 1 г	Відповідає		
Флавоноїди	Не менше 4 %	4,37±0,09	4,34±0,07	4,42±0,06

Ресурсознавчі дослідження видів роду Буквиця та розробка проекту методів контролю якості на сировину

Важливим етапом розробки МКЯ є морфолого-анатомічні дослідження, які дозволяють ідентифікувати ЛРС та встановити її діагностичні ознаки. Враховуючи те, що ряд авторів об'єднують види роду Буквиця флори України в один збірний вид буквиця лікарська (*Betonica officinalis* L.), перспективним є проведення порівняльного морфолого-анатомічного дослідження цих видів з метою їх

діагностики. Ідентифікацію морфологічно близьких видів буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої, дослідження ценопопуляцій прегенеративних та генеративних вікових груп, умов і щільності зростання проводили при консультаційній допомозі доцента кафедри біології та екології Прикарпатського національного університету ім. Василя Стефаника, к. б. н. Н. В. Шумської.

Вивчення ознак морфологічної будови сировини проводили за фармакопейними методами (ДФУ 2.0, Т.1 – 2.8.23). Анатомічні ознаки органів видів роду Буквиця вивчали на відпрепарованому епідермісі та препаратах із поверхні під мікроскопом. Вперше встановлено відмінності у морфологічній будові буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої (табл. 6).

Таблиця 6

Відмінні морфолого-анатомічні ознаки сировини буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої

Діагностичні ознаки	Буквиця перебільшена	Буквиця короткозуба
1	2	3
<i>Морфологічні ознаки</i>		
Суцвіття	Колосовидне зі зближеними несправжніми кільцями та додатковим нижнім кільцем.	Колосовидне зі зближеними несправжніми кільцями та додатковим нижнім кільцем, іноді видовжено-переривчасте або з однією або двома парами квітконосних гілочок.
Листкова пластинка	Прикореневі листки довгасто-яйцеподібні, довгасто-яйцеподібно-ланцетні та довгасті.	Прикореневі листки довгасто-яйцеподібні.
Основа листкової пластинки	Глибоко серцеподібна з широкою виїмкою, нерівнобока.	Неглибоко серцеподібна, переважно рівнобока.
Опушення листкової пластинки	Густо опушені з обох боків, особливо знизу.	Негусто чи розсіяно опушені з обох боків, переважно по жилках.
<i>Анатомічні ознаки</i>		
Трихоми стебла	Прості багатоклітинні та головчасті трихоми.	Прості багатоклітинні трихоми.
Форма клітин епідермісу листка	Верхній епідерміс: клітини звивистостінні з вервичкоподібними потовщеннями у мембранах. Нижній епідерміс: клітини звивистостінні.	Верхній епідерміс: клітини ламанозвивистостінні. Нижній епідерміс: клітини зигзагозвивистостінні.
Форма клітин епідермісу пелюстки	Переважно п'ятикутні прямокутні з вервичкоподібними потовщеннями у мембранах.	Видовжені прямокутні.

1	2	3
Трихоми пелюстки	Звивисті прості двоклітинні трихоми; попарні товстостінні звивисті прості двоклітинні трихоми із забарвленим вмістом (жовтувато-рожевим), які ростуть з однієї клітини, що оточена епідермальною розеткою з восьми клітин; зустрічаються невеликі пельтатні трихоми.	Звивисті прості двоклітинні трихоми; рідко попарні тонкостінні звивисті прості двоклітинні трихоми, які ростуть з однієї клітини, забарвленої в блідо-рожевий колір.

Встановлено, що відмінними морфологічними ознаками видів роду Буквиця є висота стебла: у буквиці короткозубої – до 1,1 м, у буквиці перебільшеної – до 0,8 м; форма, ступінь опушення листової пластинки: у буквиці перебільшеної – густо опушена з глибокою серцеподібною нерівнобокою основою, у буквиці короткозубої – розсіяно опушена з серцеподібною рівнобокою основою; будова суцвіття: у буквиці перебільшеної – колосовидне зі зближеними несправжніми кільцями та додатковим нижнім кільцем; у буквиці короткозубої – видовжено-переривчасте або розгалужене з однією або двома парами квітконосних гілочок.

Вперше встановлено відмінні особливості в анатомічній будові досліджуваних видів роду Буквиця (рис. 3, 4, 5).

Відмінними анатомічними ознаками буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої є форма клітин верхнього та нижнього епідермісу листка, тип трихом стебла, форма клітин епідермісу пелюстки, тип трихом епідермісу пелюстки.

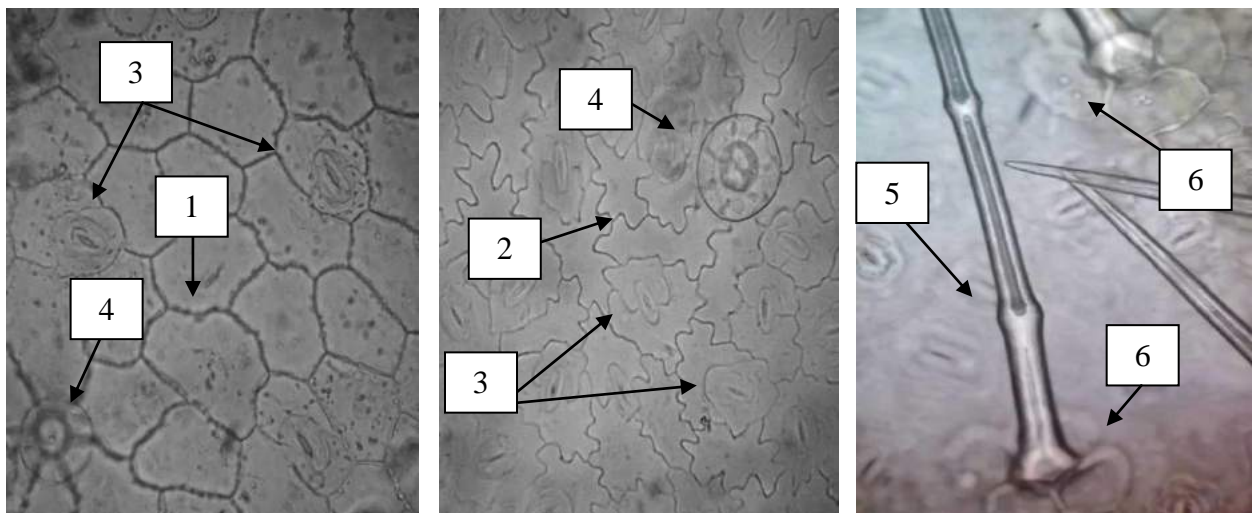


Рис. 3. Анатомічні ознаки верхнього та нижнього епідермісу листка буквиці перебільшеної: 1 – клітини верхнього епідермісу з вервичкоподібними потовщеннями у мембранах; 2 – клітини нижнього епідермісу; 3 – продиховий комплекс; 4 – ефіроолійна залозка; 5 – проста багатоклітинна трихома; 6 – 4-, 5-клітинна епідермальна розетка навколо місця прикріплення трихоми

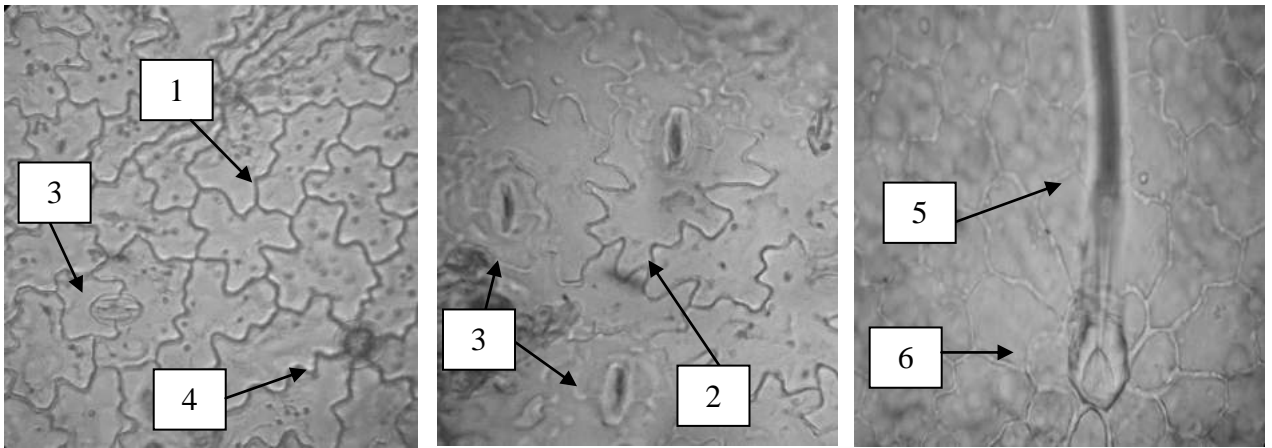


Рис. 4. Анатомічні ознаки верхнього та нижнього епідермісу листка буквиці короткозубої: 1 – ламанозвивистостінні клітини верхнього епідермісу; 2 – зигзагозвивистостінні клітини нижнього епідермісу; 3 – продиховий комплекс; 4 – ефіроолійна залозка; 5 – проста багатоклітинна трихома; 6 – 8-клітинна епідермальна розетка навколо місця прикріплення трихоми

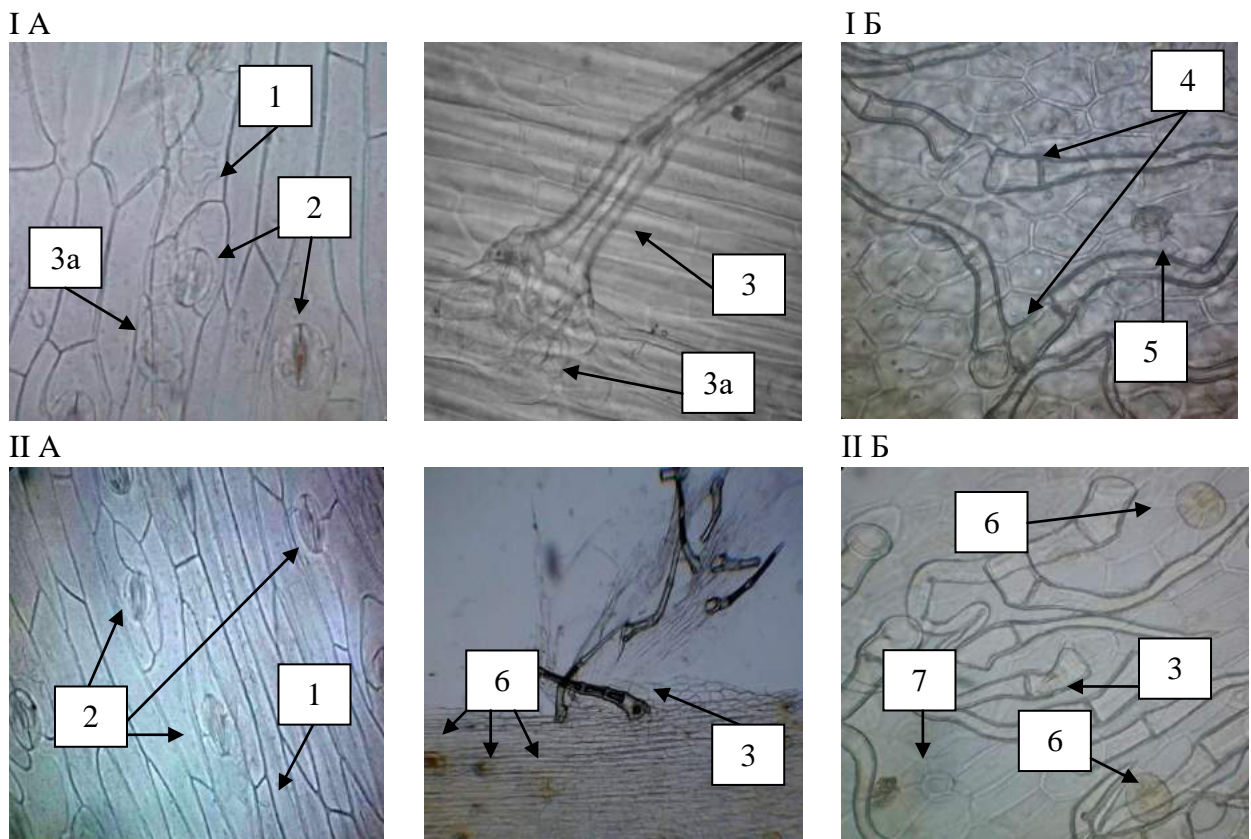


Рис. 5. Анатомічна будова стебла та пелюстки видів роду Буквиця: I – буквиця перебільшена; II – буквиця короткозуба; А – епідерміс стебла; Б – епідерміс пелюстки; 1 – клітини епідермісу; 2 – продиховий комплекс; 3 – трихоми прості, 3а – трихоми головчасті; 4 – попарні трихоми з однієї клітини, що оточена радіальною розеткою з восьми епідермальних клітин; 5 – пельтатна трихома (перехідний тип); 6 – ефіроолійні залозки; 7 – місце прикріплення трихоми

Встановлено ареали поширення та еколого-фітоценотичні умови зростання буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої на території Івано-Франківської,

Львівської та Тернопільської областей. Види роду Буквиця зростають на території України нерівномірно: буквиця короткозуба – це карпатський ендем, що зростає у гірській частині досліджених областей; буквиця перебільшена – вид, що зростає на рівнинній території багатьох областей.

Вивчено індивідуальну (внутрішньопопуляційну) та еколого-географічну (міжпопуляційну) форми мінливості видів роду Буквиця. Найбільш непостійними внутрішньопопуляційними ознаками є кількість пагонів, маса надземної частини та маса листків; міжпопуляційними – кількість пагонів, кількість листків, довжина черешка, довжина суцвіття, маса суцвіття.

У результаті ресурсознавчих досліджень встановлено, що сировинні запаси видів роду Буквиця достатні для промислової заготівлі ЛРС: у різних місцях зростання середня урожайність надземної частини буквиці перебільшеної становить 19,34 – 35,00 г/м², буквиці короткозубої – 21,67 – 23,32 г/м² повітряно-сухої сировини; обсяг можливих щорічних заготівель буквиці перебільшеної становить 167,08 кг, буквиці короткозубої – 87,3 кг.

Результати проведених фенологічних спостережень за розвитком буквиці перебільшеної на дослідних ділянках ІФНМУ свідчать, що для створення сприятливих умов розвитку рослини необхідно враховувати тип ґрунту, забезпеченість вологою та освітлення. Вивчено способи розмноження та встановлено оптимальні умови лабораторної та польової схожості насіння буквиці перебільшеної.

Встановлено, що вирощування розсади є швидкісним альтернативним способом культивування рослин в ґрунтово-кліматичних умовах Прикарпаття.

Проведено стандартизацію трави буквиці перебільшеної згідно вимог ДФУ. Встановлено, що вміст флавоноїдів у досліджуваних серіях трави буквиці перебільшеної знаходиться у межах 2,03 – 2,24 %, втрата в масі при висушуванні – 8,43 – 9,30 %, зола загальна – 7,77 – 8,87 %, зола, нерозчинна у хлористоводневій кислоті – 0,82 – 0,97 %.

Досліджено, що протягом трьох років числові показники якості трави буквиці перебільшеної, а саме втрата в масі при висушуванні та вміст флавоноїдів, суттєво не змінюються, що дозволяє встановити термін її придатності до трьох років.

Числові показники доброякісності досліджуваної сировини внесено до проекту МКЯ «Буквиці трава».

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення та практичне вирішення наукових завдань, які полягають у фармакогностичному дослідженні видів роду Буквиця флори України, як нового та перспективного джерела БАР; проведено фітохімічне дослідження рослинної сировини; отримано екстракти сухі та вивчено їх антиексудативну, антибактеріальну та седативну активність; опрацьовано способи розмноження та розроблено методики культивування буквиці перебільшеної; запропоновано проекти МКЯ на сировину та екстракт.

1. В результаті проведеного фітохімічного аналізу сировини буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої встановлено наявність фенольних сполук: гідроксикоричних кислот, кумаринів, флавоноїдів, танінів; терпеноїдів: іридоїдів, тритерпенових сапонінів; алкалоїдів; карбонових кислот: аскорбінової, шавлевої, винної, лимонної; вільних моноцукрів, водорозчинних полісахаридів; амінокислот.

2. Вперше методом двовимірної ПХ у траві буквиці перебільшеної ідентифіковано 15 сполук, у траві буквиці короткозубої – 13 сполук фенольної природи, які відносяться до флавоноїдів та гідроксикоричних кислот. Методом ВЕРХ у траві буквиці перебільшеної ідентифіковано та встановлено вміст 18 сполук фенольної природи (7 прекурсорів танінів, 5 гідроксикоричних кислот, 2 кумарини та 4 флавоноїди), у траві буквиці короткозубої – 14 сполук фенольної природи (7 прекурсорів танінів, 3 гідроксикоричні кислоти, 1 кумарин та 3 флавоноїди). Встановлено, що індивідуальні фенольні сполуки за якісним складом та кількісним вмістом переважають у траві буквиці перебільшеної. Методом ГХ-МС встановлено жирнокислотний та вуглеводневий склад досліджуваних об'єктів: у траві буквиці перебільшеної ідентифіковано 18 сполук загальним вмістом 5419,18 мг/кг, в тому числі 10 насичених жирних кислот, 3 ненасичені жирні кислоти та 5 вуглеводнів; у траві буквиці короткозубої ідентифіковано 17 сполук загальним вмістом 4130,99 мг/кг, в тому числі 10 насичених жирних кислот, 4 ненасичені жирні кислоти та 3 вуглеводні. У траві досліджуваних видів ідентифіковано 17 амінокислот, серед яких 7 незамінних: треонін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, лізин; 3 умовно незамінних: тирозин, гістидин, аргінін. Виділено та визначено кількісний вміст фракцій водорозчинних полісахаридів, пектинових речовин, геміцелюлози А та Б; встановлено їх моносахаридний склад, який представлено глюкозою, арабінозою, ксилозою, рамнозою, фруктозою, глюкуроною та галактуроною кислотами. Встановлено макро- і мікроелементний склад досліджуваної сировини та визначено кількісний вміст К, Са, Mg, Cu, Fe, Zn, Mn, Cd та Pb.

3. Вперше встановлено кількісний вміст основних груп БАР у траві буквиці перебільшеної та траві буквиці короткозубої відповідно: суми амінокислот – 8,09 % та 11,65 %; водорозчинних полісахаридів – 3,29 % та 3,13 %; пектинових речовин – 4,68 % та 3,10 %; геміцелюлози А – 2,40 % та 1,16 %; геміцелюлози Б – 6,52 % та 9,70 %; окиснюваних фенолів – 6,41 % та 5,28 %; суми поліфенолів – 5,96 % та 4,82 %; танінів – 1,62 % та 0,68 %; флавоноїдів – 2,07 % та 1,13 %; гідроксикоричних кислот – 3,58 % та 7,01 %; органічних кислот – 2,14 % та 1,80 %; аскорбінової кислоти – 0,029 % та 0,034 %. Визначено кількісний вміст основних груп БАР буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої в залежності від виду сировини та місця зростання рослини: вміст всіх груп БАР, крім кислоти аскорбінової, вищий у сировині буквиці перебільшеної.

4. Встановлено оптимальні умови екстрагування БАР із траві буквиці перебільшеної та траві буквиці короткозубої та отримано екстракти сухі з досліджуваної ЛРС. Вихід екстрактів становить від 28,12 % до 34,90 % в залежності від виду сировини і екстрагенту. Втрата в масі при висушуванні екстрактів

становить 3,53 – 4,58 %, кількісний вміст суми поліфенолів – 9,85 – 13,74 %, флавоноїдів – 3,25 – 4,87 %, гідроксикоричних кислот – 14,53 – 22,01 %.

5. Досліджено, що екстракти трави буквиці перебільшеної та трави буквиці короткозубої нетоксичні, визначено їх антиексудативну, антибактеріальну та седативну активність. Встановлено, що найбільш виражену антиексудативну та седативну активність проявляє екстракт сухий із трави буквиці перебільшеної (екстрагент – вода очищена). Цей екстракт стандартизовано, на основі встановлених показників розроблено проект МКЯ «Буквиці трави екстракт сухий».

6. Вперше на основі результатів морфолого-анатомічного аналізу, визначених діагностичних ознак та ресурсознавчого дослідження доведено самостійність двох видів буквиці перебільшеної (*Betonica perauca* Klokov) та буквиці короткозубої (*Betonica brachydonta* Klokov) роду *Betonica* L. Відмінними морфологічними ознаками видів роду Буквиця є висота стебла, форма та ступінь опушення листової пластинки, будова суцвіття. Відмінними анатомічними ознаками є форма клітин верхнього та нижнього епідермісу листка, епідермісу пелюстки, структура мембран клітин (пористість, вервичкоподібні потовщення), тип трихом стебла та пелюсток (прості, прості двоклітинні попарні, головчасті та пельтатні).

7. Встановлено основні місця зростання буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої на території Івано-Франківської, Львівської та Тернопільської областей. Проведено дослідження виявлених фітоценозів та вивчено дві форми мінливості – індивідуальну та еколого-географічну. На досліджуваних заростях визначено для трави буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої відповідно: урожайність – 19,34 – 35,00 г/м² та 21,67 – 23,32 г/м²; біологічний запас – 133,43 – 480,32 кг та 99,67 – 402,34 кг; експлуатаційний запас – 116,03 – 417,67 кг та 86,67 – 349,86 кг; обсяг можливої щорічної заготівлі – 167,08 кг та 87,3 кг. Вивчено способи розмноження насінням буквиці перебільшеної, які вказують на можливість культивування рослини в ґрунтово-кліматичних умовах Прикарпаття.

8. Проведено товарознавчий аналіз трави буквиці перебільшеної, на основі досліджених показників якості встановлено термін придатності сировини до трьох років.

9. На основі отриманих даних фітохімічного та морфолого-анатомічного дослідження розроблено проекти МКЯ «Буквиці трава» та «Інструкції із заготівлі та сушіння трави буквиці».

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Аспекти стандартизації лікарської рослинної сировини та фітопрепаратів / Л. М. Грицик, Н. І. Тучак, Х. Р. Романько, І. А. Сас, А. Р. Грицик. *Український вісник психоневрології*. 2012. Т. 20, вип. 2 (71), додаток. С. 61–63. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, виконання частини експерименту, оформлення статті до друку).

2. 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 – проведення аналізу літературних джерел, виконання експериментальної частини з дослідження якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот видів роду Буквиця, статистична обробка даних, оформлення статті до друку).

3. Дослідження антибактеріальної активності екстрактів видів роду Буквиця, Сосна, Астранція та котячої м'яти справжньої / 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 – виконання експериментальної частини з дослідження антибактеріальної активності видів роду Буквиця, узагальнення отриманих даних, оформлення статті до друку).

4. Сас І. А., Грицик А. Р., Мельник М. В. Дослідження морфолого-анатомічних ознак видів роду Буквиця (*Betonica* L.). *Фармацевтичний журнал*. 2016. № 3–4. С. 70–75. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини дослідження, узагальнення отриманих даних, оформлення статті до друку).

5. Грицик А. Р., Сас І. А. Гостра токсичність та антиексудативна активність екстрактів трави буквиці перебільшеної (*Betonica peraustra* Клок.) та буквиці короткозубої (*Betonica brachydonta* Клок.). *Фармаком*. 2017. № 4. С. 29–33. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини дослідження, статистична обробка даних, оформлення статті до друку).

6. Features of ontogenesis of *Asteraceae* Bercht. & Presl., *Lamiaceae* Martynov, *Rutaceae* Juss. Families plants on Ivano-Frankivsk national medical university collection plots of medicinal plants / A. R. Grytsyk, M. V. Melnyk, I. A. Sas, O. V. Neiko, R. A. Hrytsyk. *Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality*. Nitra : Slovak University of Agriculture, 2015. P. 208–211. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, виконання експериментальної частини з дослідження онтогенезу буквиці, оформлення статті до друку).

7. Study of aminoacid composition of *Betonica* L., *Sanicula* L., and *Astrantia* L. Genera Species / L. M. Grytsyk, A. R. Grytsyk, I. A. Sas, N. I. Legin, T. I. Kolyadjin. *The Pharma Innovation Journal*. 2016. № 5 (7). P. 46–48. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини з дослідження амінокислотного складу видів роду Буквиця, оформлення статті до друку).

8. Пошук перспективних джерел лікарських засобів з кровозупинною дією / Л. М. Грицик, І. Л. Бензель, Н. І. Легінь, Н. І. Тучак, О. В. Нейко, І. А. Сас, А. Р. Грицик. *Актуальні проблеми профілактичної медицини : збірник наукових праць*. Львів, 2012. № 10. С. 52–59. (Особистий внесок – збір матеріалу, його аналіз, оформлення статті до друку).

9. Грицик А. Р., Сас І. А. Аналіз складу зборів лікарських рослин, що вміщують буквицю лікарську. *Вода і здоров'я людини (До 150-річчя з дня народження В. І. Вернадського)* : мат. міжнар. міждисциплінарної наук.-практ. конф., сан. «Квітка полонини», 19–20 квіт. 2013 р. Ужгород, 2013. С. 173–175. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, опрацювання отриманих даних, оформлення статті до друку).

10. Біологічні особливості та агротехніка вирощування деревію звичайного, рути садової, буквиці лікарської, підлісника європейського та астранції великої / М. В. Мельник, А. Р. Грицик, О. В. Нейко, І. А. Сас, Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин. *Сучасні аспекти збереження здоров'я людини* : мат. VIII міжнар. міждисциплінарної наук.-практ. конф., 17–18 квіт. 2015 р. Ужгород, 2015. С. 228–231. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, виконання експериментальної частини з дослідження агротехніки вирощування буквиці лікарської, оформлення статті до друку).

11. Пат. на корисну модель 122179 Україна, МПК (2017.01), А61К 36/00, А61Р 25/20 (2006.01). Спосіб одержання екстракту трави буквиці перебільшеної із седативною активністю / А. Р. Грицик, І. А. Сас, Л. М. Грицик. № u 2017 07155 ; заявл. 07.07.17 ; опубл. 26.12.17, Бюл. № 24. (Особистий внесок – здійснення патентного пошуку, проведення експериментальних досліджень, оформлення патенту).

12. Розповсюдження, заготівля та раціональне використання лікарських рослин: [методичні рекомендації] / І. А. Сас, Л. М. Грицик, О. В. Нейко, А. Р. Грицик. Івано-Франківськ, 2014. 87 с. (Особистий внесок – збір матеріалу, його аналіз, оформлення методичних рекомендацій до друку).

13. Грицик А. Р., Сас І. А. Побічна дія фітопрепаратів. *Найновите научні постиження – 2012* : мат. VIII Міжнар. наук.-практ. конф., 17–25 берез. 2012 р. Софія, 2012. Т. 27. С. 79–82. (Особистий внесок – збір матеріалу, його аналіз, оформлення тез до друку).

14. Сас І. А. Фітотерапія туберкульозу. *Сучасні проблеми медицини і фармації в наукових розробках студентів і молодих вчених* : мат. 81 наук.-практ. конф. студентів і молодих вчених з міжнар. участю, 29–30 берез. 2012 р. Івано-Франківськ, 2012. С. 218.

15. Використання лікарських рослин при лікуванні захворювань органів дихання / Л. М. Грицик, О. В. Нейко, А. Р. Грицик, Н. І. Тучак, І. А. Сас. *Терапевтичні читання : сучасні аспекти діагностики та лікування захворювань внутрішніх органів* : мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 4–5 жовт. 2012 р. Івано-Франківськ, 2012. С. 50–52. (Особистий внесок – збір матеріалу, його аналіз, оформлення тез до друку).

16. Сас І. А. Порівняльна характеристика морфологічних ознак видів роду Буквиця флори України. *Інновації в медицині* : 82-а наук.-практ. конф. студентів і молодих учених з міжнар. участю, 18–19 квіт. 2013 р. Івано-Франківськ, 2013. С. 232–233.

17. Сас І. А. Використання буквиці лікарської в медицині. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : мат. 5-ї наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 27–28 верес. 2013 р. Т., 2013. С. 55–56.

18. Грицик А. Р., Сас І. А. Систематика роду Буквиця (*Betonica* L.). *Теоретичні та практичні аспекти дослідження рослин* : мат. I Міжнар. наук.-практ. internet-конф., 20–21 берез. 2014 р. Х., 2014. С. 15–16. (Особистий внесок – збір матеріалу, його аналіз, оформлення тез до друку).

19. Сас І. А. Поширення буквиці лікарської на території України. *Інновації в медицині* : 83-тя наук.-практ. конф. студентів і молодих учених із міжнар. участю, 27–28 берез. 2014 р. Івано-Франківськ, 2014. С. 202.

20. Грицик А. Р., Сас І. А., Коляджин Т. І. Дослідження гострої токсичності екстрактів видів роду Буквиця та Астранція. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології* : мат. IV наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 16–17 жовт. 2014 р. Х., 2014. С. 90–91. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини з дослідження гострої токсичності екстрактів видів роду Буквиця, оформлення тез до друку).

21. Грицик А. Р., Сас І. А. Кількісне визначення окислювальних поліфенолів у траві та водних екстрактах видів роду Буквиця (*Betonica L.*). *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : мат. I Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 7–8 листоп. 2014 р. Х., 2014. С. 54–55. (Особистий внесок – збір матеріалу, виконання експериментальної частини, оформлення тез до друку).

22. Сас І. А. Одержання водних та водно-спиртових екстрактів з трави буквиці перебільшеної та буквиці короткозубої. *Інновації в медицині* : 84-та наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених із міжнар. участю, 12–13 берез. 2015 р. Івано-Франківськ, 2015. С. 173–174.

23. Сас І. А., Грицик А. Р. Фенологічні фази розвитку *Betonica officinalis L.* *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : мат. VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 10–11 листоп. 2016 р. Т., 2016. С. 68–69. (Особистий внесок – збір матеріалу, виконання експериментальної частини, оформлення тез до друку).

АНОТАЦІЯ

Сас І. А. Фармакогностичне дослідження видів роду Буквиця (*Betonica L.*) флори України. – 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, Запоріжжя, 2018.

Дисертаційну роботу присвячено комплексному фармакогностичному дослідженню видів роду Буквиця флори України – буквиці перебільшеної і буквиці короткозубої. За допомогою сучасних методів аналізу у досліджуваній сировині встановлено якісний склад та кількісний вміст основних груп БАР: поліфенолів, танінів, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, амінокислот, полісахаридів, макро- та мікроелементів, органічних та жирних кислот. Розроблено оптимальні параметри екстракції БАР з трави буквиці перебільшеної та трави буквиці короткозубої та отримано сухі екстракти. Досліджено гостру токсичність, седативну, антиексудативну та антибактеріальну активність одержаних екстрактів. Встановлено, що найбільш виражену антиексудативну та седативну активність проявляє екстракт трави буквиці перебільшеної (екстрагент – вода очищена). Сухий

екстракт буквиці перебільшеної стандартизовано за вимогами ДФУ та розроблено проект МКЯ «Буквиці трави екстракт сухий». На основі отриманих результатів фітохімічних та морфолого-анатомічних досліджень трави буквиці перебільшеної розроблено проекти МКЯ «Буквиці трава» та «Інструкції із заготівлі та сушіння трави буквиці».

Ключові слова: буквиця перебільшена; буквиця короткозуба; фармакогностичне дослідження; біологічно активні речовини; сухий екстракт; антиексудативна, антибактеріальна, седативна активність.

АННОТАЦІЯ

Сас І. А. Фармакогностическое исследование видов рода Буквица (*Betonica* L.) флоры Украины. – 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, Запорожье, 2018.

Диссертационная работа посвящена комплексному фармакогностическому исследованию видов рода Буквица флоры Украины – буквицы преувеличенной и буквицы короткозубой. С помощью современных методов анализа в исследуемом сырье установлены качественный состав и количественное содержание основных групп БАВ: полифенолов, танинов, флавоноидов, гидроксикоричных кислот, аминокислот, полисахаридов, макро- и микроэлементов, органических и жирных кислот. Разработаны оптимальные параметры экстракции БАВ из травы буквицы преувеличенной и травы буквицы короткозубой, получены сухие экстракты. Исследовано острую токсичность, седативную, антиэкссудативную и антибактериальную активность полученных экстрактов. Установлено, что наиболее выраженную антиэкссудативную и седативную активность проявляет экстракт травы буквицы преувеличенной (экстрагент – вода очищенная). Сухой экстракт буквицы преувеличенной стандартизирован по требованиям государственной фармакопеи Украины, разработан проект МКК «Буквицы травы экстракт сухой». На основе полученных результатов фитохимических и морфолого-анатомических исследований травы буквицы преувеличенной разработаны проекты МКК «Буквицы трава» и «Инструкции по заготовке и сушки травы буквицы».

Ключевые слова: буквица преувеличенная; буквица короткозубая; фармакогностическое исследование; биологически активные вещества; сухой экстракт; антиэкссудативная, антибактериальная, седативная активность.

ANNOTATION

Sas I. A. Pharmacognostic investigation of *Betonica* L. genus species of flora of Ukraine. – On the rights of manuscript.

Thesis for the Degree of PhD in Pharmacy, specialty 15.00.02 – Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. – Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2018.

Thesis is devoted to the complex pharmacognostic investigation of Ukrainian species of *Betonica* L. genus, namely *Betonica perauca* Klokov and *Betonica brachydonta* Klokov.

For the first time by the method of high performance liquid chromatography in the herb of *Betonica perauca* and *Betonica brachydonta* the quantitative content of gallic acid, gallocatechin, epigallocatechin, catechin, epicatechin, epicatechin gallate, catechin gallate, rutin, luteolin, apigenin, coumarin, chlorogenic acid, rosmarinic acid, ferulic acid was determined; in the herb of *Betonica perauca* quercetin-3-D-glucoside, scopoletin, caffeic and *p*-coumaric acids were also detected.

For the first time the composition of fatty acids and hydrocarbons of the studied objects was determined by the method of gas chromatography-mass spectrometry. In the herb of *Betonica perauca* 18 compounds were detected, the total content of which was 5419.18 mg/kg, and in the herb of *Betonica brachydonta* – 17 compounds were determined, with total content of 4130.99 mg/kg.

17 amino acids were identified and quantified in the investigated objects. In the herb of *Betonica perauca* and *Betonica brachydonta* the highest concentrations had glutamic acid – 1.11 % and 1.52 % relatively, and asparagin acid – 0.95 % and 1.31 % relatively.

The quantitative content of polysaccharide fractions was determined in the herb of *Betonica perauca* and *Betonica brachydonta* relatively: water-soluble polysaccharides – 3.29 % and 3.13 %, pectic substances – 4.68 % and 3.10 %, hemicellulose A – 2.40 % and 1.16 %, hemicellulose B – 6.52 % and 9.70 %. The monomer composition of the polysaccharide fractions is represented by glucose, arabinose, xylose, rhamnose, fructose, glucuronic and galacturonic acids.

By the method of atomic absorption spectroscopy in the herb of *Betonica perauca* and *Betonica brachydonta* quantitative content of macro- and micronutrients was determined, including Ca, Mg, K, Cu, Mn, Zn, Fe. The content of Cd and Pb was within the permissible concentrations in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine for plant-based medicines.

The quantitative content of the main groups of BAS in stems, leaves, flowers and herb of *Betonica* L. genus species was determined. In the herb of *Betonica perauca* and *Betonica brachydonta* the quantitative content of the oxidized polyphenols was 6.41 % and 5.28 % relatively, the sum of polyphenols – 5.96 % and 4.82 % relatively, tannins – 1.62 % and 0.68 % relatively, flavonoids – 2.07 % and 1.13 % relatively, hydroxycinnamic acids – 7.01 % and 3.58 % relatively, free organic acids – 2.14 % and 1.80 % relatively, ascorbic acid – 0.029 % and 0.034 % relatively.

The optimal parameters of BAS extraction from the herb of *Betonica perauca* and *Betonica brachydonta* were established and dry extracts were obtained. For the obtained

extracts the loss in mass on drying – 3.53 – 4.58 %, the quantitative content of the sum of polyphenols – 9.85 – 13.74 %, flavonoids – 3.25 – 4.87 % and hydroxycinnamic acids – 14.53 – 22.01 % were determined.

The acute toxicity, sedative, antiexudative and antibacterial actions of the obtained extracts were studied and it was found that the most pronounced antiexudative and sedative activity showed the water extract of *Betonica perauca* herb, which in the “Open Field” test reduced the locomotor and orienting-research activity of mice on 47.62 %. Dry extract of *Betonica perauca* herb was standardized according to the requirements of the SPhU. The novelty of the conducted research is protected by the Ukrainian patent on the utility model No. 122179 “The method of obtaining an extract of the *Betonica perauca* herb with sedative activity”. The quality of the dry extract is regulated in the developed project of the quality control methods “*Betonica perauca* dry extract”.

Morphological and anatomical study of *Betonica perauca* and *Betonica brachydonta* was conducted and it was established that the distinctive anatomical diagnostic features of these species are the shape of cells of the upper and lower leaf epidermis, the type of stem trichomes, the shape of cells of the petal epidermis, type of trichomes of petal epidermis.

According to the results of the research *Betonica perauca* herb was chosen as the most promising material for application in medicine. It was standardized according to the parameters of the SPhU: macro- and microscopic diagnostic features, identification, loss in mass on drying, total ash content, content of ash insoluble in hydrochloric acid and quantitative content of flavonoids. Also the changes of quality indicators of *Betonica perauca* raw material in the process of its storage were studied, which allowed to determine the shelf life of raw material – 3 years. On the basis of obtained results the projects of the quality control methods “*Betonica perauca* herb” and “Instructions for harvesting and drying of *Betonica perauca* herb” were developed.

Places of growth of *Betonica* L. genus species on the territory of Ivano-Frankivsk, Lviv and Ternopil regions were studied. Phenological monitoring of *Betonica perauca* development on the experimental plots of medicinal plants of the Ivano-Frankivsk National Medical University was conducted. Ways of reproduction, optimum conditions of laboratory and field germination of seeds of *Betonica perauca* were established.

Key words: *Betonica perauca*; *Betonica brachydonta*; pharmacological research; biologically active substances; dry extract; antiexudative, antibacterial, sedative activity.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

BAS	– biologically active substances;
SPhU	– State Pharmacopoeia of Ukraine;
AAC	– атомно-абсорбційна спектроскопія;
БАР	– біологічно активні речовини;
БПВ	– екстракт буквиці перебільшеної (екстрагент – вода очищена);
БПС	– екстракт буквиці перебільшеної (екстрагент – спирт етиловий 70 %);
БКВ	– екстракт буквиці короткозубої (екстрагент – вода очищена);
БКС	– екстракт буквиці короткозубої (екстрагент – спирт етиловий 70 %);
ВЕРХ	– високоефективна рідинна хроматографія;
ГХ-МС	– газова хроматографія з мас-спектрометричним детектуванням;
ДВНЗ	– державний вищий навчальний заклад;
ДФУ	– Державна фармакопея України;
ІФНМУ	– Івано-Франківський національний медичний університет
МКЯ	– методики контролю якості;
ПХ	– паперова хроматографія;
ТШХ	– тонкошарова хроматографія;
УФ	– ультрафіолетова.