

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет

ПАРАЩУК ЕЛІНА АНАТОЛІВНА

УДК 615.014.07:582.794.1

ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ БЕДРИНЦЯ ЛОМИКАМЕНЕВОГО
(*PIMPINELLA SAXIFRAGA*)

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Запоріжжя – 2020

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

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

Офіційні опоненти:

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

доктор фармацевтичних наук, доцент Одицова Віра Миколаївна, Запорізький державний медичний університет, професор кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки.

Захист відбудеться «18» вересня 2020 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 науковій бібліотеці Запорізького державного медичного університету (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26).

Автореферат розісланий «30» серпня 2020 року.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради



С. О. Васюк

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Одним із методів пошуку перспективних видів ЛР, розширення номенклатури офіційних ЛР, створення на основі БАР рослин нових вітчизняних фітопрепаратів є вивчення досвіду використання ліків природного походження у народній медицині.

Відомо, що флора України налічує близько 1000 видів рослин, яким притаманна фармакологічна активність. Однак більшість з них потребує додаткового вивчення. Поява синтетичних ліків, що переважно моделюють БАР рослин, не зменшила ролі природних лікарських засобів.

З метою пошуку нових перспективних ЛР актуальним є комплексне фармакогностичне дослідження неофіційної рослини родини Селерові (*Apiaceae*) роду Бедринець (*Pimpinella*) – бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.), який містить комплекс БАР, що мають широкий спектр фармакологічної активності (спазмолітичну, відхаркувальну, протикашлеву, сечогінну, антибактеріальну, фунгіцидну), достатню сировинну базу, великий досвід використання у народній медицині багатьох країн світу.

Аналіз джерел літератури свідчить про недостатнє фармакогностичне вивчення бедринцю ломикаменевого, тому дане дослідження є актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідних програм кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» «Фармакогностичне вивчення культивованих і дикорослих лікарських рослин; фізико-хімічні дослідження продуктів перетворення 1,3-диметилксантину та стандартизація, фармакологічні і фармакотехнологічні випробування лікарських засобів» (номер Державної реєстрації 0115 U003359) та «Пошук нових видів лікарських рослин, фармакогностичне та фармакологічне обґрунтування ефективності їх біологічно активних речовин» (номер Державної реєстрації 0118 U004982). Дисертантом особисто проведено фармакогностичне дослідження бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.).

Мета і завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи було провести комплексний фармакогностичний аналіз бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів із дослідженням різних груп біологічно активних речовин та одержання лікарських субстанцій на їх основі.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

- здійснити інформаційний пошук та аналіз сучасного стану досліджень за темою дисертаційної роботи;
- провести вивчення якісного складу БАР надземних і підземних органів бедринцю ломикаменевого;
- визначити кількісний вміст основних груп БАР у траві та кореневищах і коренях досліджуваної рослини;

- встановити основні морфолого-анатомічні особливості будови трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого;
- розробити технологію одержання субстанцій з бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів, визначити їх хімічний склад та вивчити фармакологічну активність;
- розробити проекти МКЯ на бедринцю ломикаменевого траву і кореневища і корені та одержані субстанції.

Об'єкт дослідження – комплексне фармакогностичне дослідження бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів та вивчення фармакологічної активності БАР досліджуваної рослини.

Предмет дослідження – виявлення, якісний та кількісний аналіз БАР; макро- та мікроскопічний аналіз досліджуваної сировини бедринцю ломикаменевого; оптимальні технологічні аспекти розробки фітосубстанцій з бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів та вивчення відхаркувальної, протизапальної та антимікробної активності.

Методи дослідження. При виконанні дисертаційної роботи були використані фармакопейні методи виявлення якісного складу та кількісного вмісту БАР. Були застосовані методи: ПХ, ТШХ, ГХ/МС, ВЕРХ, спектрофотометрія, гравіметрія і титриметрія. Компонентний склад летких сполук досліджуваної ЛРС проводили на хроматографі Agilent Technology 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973N. З метою ідентифікації макро- та мікроелементів використовували атомно-абсорбційний метод аналізу, дослідження проводили на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115 ПК. Для морфологічного аналізу сировини бедринцю ломикаменевого використовували лупу та бінокулярний мікроскоп МБС-9. Діагностичні мікроскопічні ознаки фіксували за допомогою мікроскопа «Granum» при збільшенні $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$ разів. Фотознімки робили за допомогою фотоапарату Sony DSC-W80. Фармакологічні дослідження проводили *in vivo*, мікробіологічні – *in vitro*. Використовували методи математичної статистики (обробка цифрових даних методом варіаційної статистики з використанням параметричного критерію Стьюдента, непараметричних критеріїв Ньюмана-Кейлса, Манна-Уїтні).

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше проведено фармакогностичне дослідження бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.) трави та кореневищ і коренів. Методами фітохімічного аналізу встановлено наявність флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, кумаринів, танінів, вуглеводів, амінокислот, органічних і жирних кислот, сапонінів, які забезпечують їх фармакологічну активність. Вперше методом ГХ/МС досліджено полісахаридні комплекси та визначено їх мономерний склад. Досліджено кількісний вміст суми органічних кислот, який у бедринцю ломикаменевого трави та кореневищах і коренях становив 0,37 % і 0,44 % відповідно.

Вперше методом ГХ/МС визначали якісний склад та кількісний вміст жирних кислот. Аналіз проведених досліджень показав, що відсоток збігу виявлених сполук із тими, що є в бібліотеці мас-спектрів NIST 02, для бедринцю ломикаменевого трави становив 83-99 %, для кореневищ і коренів – 74-99 %.

У траві та підземних органах бедринцю ломикаменевого уперше методом ВЕРХ проводили визначення якісного складу та кількісного вмісту вільних і зв'язаних амінокислот. У підземних органах визначено 13 вільних і 17 зв'язаних амінокислот, у траві – 17 зв'язаних амінокислот та 15 вільних.

Визначено у траві та кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого кількісний вміст сполук фенольної природи: суми кислот гідроксикоричних, суми кумаринів, суми танінів, поліфенолів і суми флавоноїдів, який становив у траві $(4,62 \pm 0,05)$ %, $(1,81 \pm 0,01)$ %, $(2,04 \pm 0,05)$ %, $(4,85 \pm 0,01)$ % і $(2,19 \pm 0,05)$ % відповідно; у підземних органах – $(1,52 \pm 0,03)$ %, $(3,64 \pm 0,01)$ %, $(1,86 \pm 0,02)$ % і $(3,72 \pm 0,21)$ %.

Методом ВЕРХ вперше ідентифіковано та встановлено кількісний вміст вільних галової і елагової кислот; гідроксикоричних кислот (хлорогенової і розмаринової), флавоноїдів (рутину, гіперозиду, ізокверцитрину, лютеоліну), кумаринів (скополетину, псоралену, бергаптену). Встановлено наявність та визначено кількісний вміст сапонінів – 0,99 % і 1,89 % відповідно.

Методом ААС визначено в сировині бедринцю ломикаменевого вміст макро- і мікроелементів.

Компонентний склад летких сполук вперше досліджено хроматографічним методом на хромато-мас-спектрометричній системі.

Вперше вивчено основні діагностичні морфолого-анатомічні будову кореневища, стебла, листків та пелюсток бедринцю ломикаменевого та визначено їх основні макро- і мікродіагностичні ознаки.

Одержано густі екстракти з трави та з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого визначено основні параметри контролю їх якості.

Вперше досліджено гостру токсичність густих екстрактів з трави та з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого та доведено протизапальну, відхаркувальну та антимікробну дію досліджуваних фітосубстанцій.

Наукова новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель «Спосіб одержання рослинної субстанції з відхаркувальною та антимікробною активністю» № u 2019 08377.

Практичне значення отриманих результатів. Проведений комплексний фармакогностичний аналіз бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів та доведена перспективність застосування у медичній практиці бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.).

Обґрунтовано технологію одержання екстрактів з трави та підземних органів досліджуваної рослини. За результатами досліджень розроблено проекти МКЯ на нову лікарську сировину – «Бедринцю ломикаменевого трава», «Бедринцю ломикаменевого кореневища і корені» та на одержані субстанції «Бедринцю ломикаменевого трави екстракт густий» та «Бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів екстракт густий».

Досліджено протизапальну, відхаркувальну та антимікробну дію досліджуваних фітосубстанцій.

Отримано патент України на корисну модель «Спосіб одержання рослинної субстанції з відхаркувальною та антимікробною активністю» № u 2019 08377.

Дані фармакогностичних досліджень впроваджено у навчальний процес кафедри ботаніки Національного фармацевтичного університету, кафедр фармацевтичної хімії та фармації Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О. О. Богомольця.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійно виконаним дослідженням автора. Дисертантом особисто проведено інформаційно-патентний пошук та аналіз даних літератури щодо ботанічної характеристики, хімічного складу, фармакологічних особливостей використання бедринцю ломикаменевого. Разом з науковим керівником здобувачем визначені мета, завдання, методики експериментальних досліджень.

Автором проведено вивчення якісного складу і кількісного вмісту БАР бедринцю ломикаменевого, здійснено статистичну обробку, аналіз та узагальнення отриманих результатів; досліджено морфолого-анатомічні особливості будови трави та кореневищ і коренів досліджуваної рослини та розроблено проекти МКЯ на нові перспективні види лікарської рослинної сировини та субстанції, одержані з них. Обґрунтовано технологію одержання екстрактів з трави та підземних органів бедринцю ломикаменевого, проведено вивчення їх протизапальної, відхаркувальної та антимікробної активності.

Вивчення морфолого-анатомічних особливостей будови трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого проведено за консультативної допомоги д. фарм. наук, професора, зав. кафедри ботаніки НФаУ Т. М. Гонтової.

Фармакологічні дослідження проведено автором на базі науково-дослідної лабораторії доклінічного вивчення фармакологічних речовин Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова під керівництвом професора Н. І. Волощук. Дослідження антимікробної активності густих екстрактів бедринцю ломикаменевого проведено автором на базі кафедри мікробіології, вірусології та імунології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України під керівництвом к. мед. н., доц. Н. І. Ткачук.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві з Т. М. Гонтовою, Л. В. Гусак (Слободянюк), Н. І. Ткачук, І. С. Дахим, М. В. Кирилів, І. Р. Бекус, Г. Р. Козир, О. Л. Демидяк дисертанту належить фактичний матеріал та основний доробок. Співавтором наукових праць є також науковий керівник проф. С. М. Марчишин, спільно з якою було проведено ряд досліджень.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були викладені та обговорені на ХІХ Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених, присвяченому пам'яті ректора, члена-кореспондента НАМН України, професора Л. Я. Ковальчука (Тернопіль, 27-29 квітня 2015 р.); 4th International conference and workshop «Plant – the source of research material» (Lublin (Poland), 20-23. 09 2015); IV і V Всеукраїнських науково-практичних конференціях з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р.; 30-31 травня 2019 р.); VIII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація ХХІ століття»:

тенденції та перспективи» (Харків, 13-16 вересня 2016 р.); VI науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 10-11 листопада 2016 р.); XXIII Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 15-17 квітня 2019 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання фармакології та фармакотерапії» (Тернопіль, 26-27 вересня 2019 р.).

Апробацію дисертаційної роботи проведено на спільному засіданні професорсько-викладацького складу кафедр фармацевтичного профілю Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського 21 червня 2019 року.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових робіт, у тому числі 5 статей у фахових виданнях України, 1 стаття у закордонному фаховому виданні, 8 тез. Одержано 1 патент на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається із вступу, огляду літератури, чотирьох розділів експериментальних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел та 5 додатків. Дисертаційна робота викладена на 170 сторінках, ілюстрована 25 таблицями та 38 рисунками. Основного тексту 108 сторінок. Список використаних джерел літератури містить 203 найменування, з яких 58 – латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Ботанічна характеристика, хімічний склад і фармакотерапевтичні властивості рослин роду Бедринець (*Pimpinella*) (огляд літератури)

В огляді літератури наведено ботанічну характеристику, дані про хімічний склад, застосування у народній медицині та гомеопатії бедринцю ломикаменевого. Бедринець ломикаменевий використовується у народній медицині як відхаркувальний, протизапальний, болезаспокійливий, спазмолітичний, потогінний, седативний, гіпотензивний, лактогінний, сечогінний засіб. Засоби з бедринцю сприяють нормалізації функціонування шлунково-кишкового тракту, ефірна олія має антибактеріальну і фунгіцидну активність. В Україні рослина неофіційна. Хімічний склад рослини вивчено недостатньо, висвітлені в джерелах літератури фітохімічні дослідження є неповними, що створює передумови для комплексного фармакогностичного дослідження надземних і підземних органів рослини та поглибленого вивчення БАР з метою створенням на їх основі нових безпечних та ефективних вітчизняних лікарських препаратів.

Об'єкти та методи дослідження

Об'єктами для досліджень були надземні (трава) і підземні органи (кореневища і корені) бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.). Сировину заготовляли на трав'янистих пагорбах і схилах у Гусятинському районі

Тернопільської області (траву – у липні-серпні, кореневища і корені – восени після відмирання надземної частини рослини) протягом 2014-2018 рр.

Для проведення досліджень були використані фізичні, фізико-хімічні, хімічні, технологічні, макро- та мікроскопічні, мікробіологічні, фармакологічні методи та методи математичної статистики.

Дослідження біологічно активних речовин надземних і підземних органів бедринцю ломикаменевого

Фітохімічними методами аналізу (якісні реакції, ПХ і ТШХ) у досліджуваній сировині встановлено наявність полісахаридів, амінокислот, флавоноїдів, дубильних речовин, органічних і гідроксикоричних кислот, сапонінів.

Визначення полісахаридів. Досліджено полісахаридні комплекси бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів, виділено фракції ВРПС і ПР, кількісний вміст яких становив $(6,95 \pm 0,25) \%$ і $(11,25 \pm 0,15) \%$ та $(11,89 \pm 0,11) \%$ і $(4,41 \pm 0,31) \%$ відповідно.

Методом ГХ/МС встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст моноцукрів та сахарози у бедринцю ломикаменевого трави та кореневищах і коренях. У кореневищах і коренях бедринцю виявлено 5 цукрів, ідентифіковано 2; у траві виявлено 13 цукрів, ідентифіковано 3. В обох зразках ідентифіковано D-глюкозу (Glu) і сахарозу (Suc). У траві також виявлено D-фруктозу (Fru), вміст якої становив 0,68 мг/кг. Вищий вміст сахарози міститься у підземних органах бедринцю ломикаменевого – 33,96 мг/кг.

Визначення вмісту органічних кислот. Методом ТШХ виявлено у бедринцю ломикаменевого трави наявність щавлевої, лимонної, бурштинової, бензойної, винної та слідів саліцилової кислот; у кореневищах і коренях – щавлевої, лимонної, бурштинової та винної. Титриметричним методом визначено кількісний вміст суми вільних органічних кислот у сировині бедринцю ломикаменевого трави та кореневищах і коренях. У перерахунку на лимонну кислоту вміст суми вільних органічних кислот становив у траві $(0,37 \pm 0,02) \%$, у кореневищах і коренях – $(0,44 \pm 0,04) \%$.

Одержання ліпофільної фракції. Ліпофільну фракцію одержували вичерпним екстрагуванням сировини в апараті Сокслета.

Ліпофільна фракція з підземних органів бедринцю – густа масляниста однорідна маса буро-коричневого кольору з приємним специфічним запахом; не розчиняється у воді очищеній Р та етанолі 96 % Р, добре розчиняється у хлороформі Р. Ліпофільна фракція трави – густа масляниста однорідна маса зеленувато-коричневого кольору, за іншими фізичними показниками не відрізняється від ліпофільної фракції кореневищ і коренів.

З кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого одержано $(5,25 \pm 0,45) \%$ ліпофільних речовин, з трави – $(7,46 \pm 0,55) \%$.

Визначення жирних кислот. Методом ГХ/МС у кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого встановлено наявність та визначено кількісний вміст

8 жирних кислот – 4 насичених і 4 ненасичених. З ненасичених найбільша кількість представлена лінолевою кислотою – 43,10 мг/кг, олеїнової кислоти – 20,22 мг/кг. З ненасичених кислот виявлено 7,15 мг/кг пальмітинової кислоти. У траві досліджуваної рослини ідентифіковано 12 жирних кислот: з насичених домінує пальмітинова – 4,05 мг/кг; з ненасичених – лінолева – 5,59 мг/кг.

У досліджуваній сировині переважають ненасичені жирні кислоти, сумарний вміст яких у траві становив 10,36 мг/кг, у підземних органах – 63,76 мг/кг (рис. 1).

Хімічний профіль жирних кислот, ідентифікованих у кореневищах і коренях та у траві бедринцю ломикаменевого, відрізняється як за якісним складом, так і за кількісним вмістом жирних кислот.

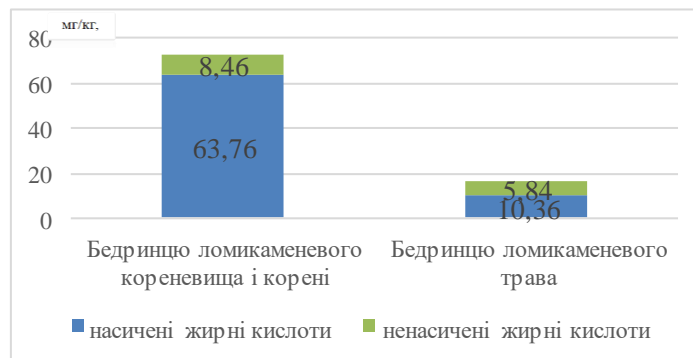


Рис. 1. Вміст ненасичених і насичених жирних кислот у надземних і підземних органах бедринцю ломикаменевого

Визначення амінокислот. Методом ВЕРХ досліджено амінокислотний склад бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів (табл. 1-2).

Таблиця 1

Якісний склад та кількісний вміст амінокислот бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів

Час утрим., хв	Амінокислоти	Вміст амінокислот, мкг/мг		
		сума	вільні	зв'язані
2,497	Аспарагінова к-та	7,35	0,54	6,81
4,842	Глутамінова к-та	11,00	0,81	10,20
7,356	Серин	3,79	0,19	3,60
8,202	Гістидин	2,02	н/в	2,02
8,586	Гліцин	4,02	0,02	4,00
8,758	Треонін*	3,77	0,18	3,59
9,382	Аргінін	9,23	4,23	5,00
9,961	Аланін	4,20	0,36	3,84
11,053	Тирозин	1,41	0,04	1,37
12,164	Цистин	11,96	н/в	11,96
12,972	Валін*	3,90	0,26	3,64
13,126	Метіонін*	0,98	н/в	0,98

Примітка. 1. * – незамінні амінокислоти; 2. н/в – не виявлено

У бедринцю ломикаменевого траві встановлена наявність 17 зв'язаних амінокислот та 15 вільних. З вільних амінокислот у траві бедринцю кількісно переважають пролін (1,60 мкг/мг) і глютамінова кислота (1,34 мкг/мг); не виявлено заміної амінокислоти цистину і незамінної метіоніну.

У підземних органах рослини виявлено 13 вільних і 17 зв'язаних амінокислот: з вільних амінокислот найбільше міститься аргініну (4,23 мкг/мг), не виявлено гістидину, цистину, метіоніну і лізину.

Таблиця 2

**Якісний склад та кількісний вміст амінокислот
бедринцю ломикаменевого траві**

Час утрим., хв	Амінокислоти	Вміст амінокислот, мкг/мг		
		сума	вільні	зв'язані
2,495	Аспарагінова к-та	98,34	0,30	98,04
4,842	Глутамінова к-та	175,37	1,34	174,03
7,356	Серин	47,34	0,39	46,95
8,202	Гістидин	23,34	0,09	23,25
8,586	Гліцин	57,06	0,08	56,98
8,758	Треонін*	48,12	0,34	47,78
9,382	Аргінін	50,72	0,25	50,47
9,961	Аланін	57,66	0,32	57,34
11,053	Тирозин	24,16	0,06	24,10
12,164	Цистин	144,05	н/в	144,05
12,972	Валін*	52,28	0,42	51,85
13,126	Метіонін*	13,37	н/в	13,37
14,325	Фенілаланін*	54,76	0,28	54,47
14,505	Ізолейцин*	52,40	0,25	52,15
15,112	Лейцин*	80,19	0,13	80,06
15,366	Лізін*	97,76	0,09	97,66
18,883	Пролін	62,15	1,60	60,54

Примітка. 1. * – незамінні амінокислоти; 2. н/в – не виявлено

Аналіз зв'язаних амінокислот показав, що у траві та кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого домінують глютамінова кислота і цистин, кількісний вміст яких становив (174,03 мкг/мг) і (144,05 мкг/мг та (10,20 мкг/мг) і (11,96 мкг/мг) відповідно.

Дослідження фенольних сполук у траві та кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого. Встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, поліфенолів, танінів і кумаринів у досліджуваній сировині. Флавоноїдів не виявлено у підземних органах рослини.

Визначення кількісного вмісту суми речовин фенольної природи проводили спектрофотометричним методом. У бедринцю ломикаменевого траві та кореневищах і коренях визначено кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот

(у перерахунку на хлорогенову кислоту), поліфенолів (у перерахунку на пірогалол), танінів (у перерахунку на пірогалол), кумаринів (у перерахунку на псорален). У траві бедринцю ломикаменевого визначено вміст суми флавоноїдів (у перерахунку на рутин) (табл. 3).

Таблиця 3

Кількісний вміст суми речовин фенольної природи у бедринцю ломикаменевого траві та кореневищах і коренях

БАР	Кількісний вміст, % у перерахунку на абсолютно суху сировину (n=5)	
	трава	кореневища і корені
Сума гідроксикоричних кислот	4,62±0,05	1,52±0,03
Сума флавоноїдів	2,19±0,05	н/в
Таніни	2,04±0,05	1,86±0,02
Поліфеноли	4,85±0,01	3,72±0,21
Сума кумаринів	1,81±0,002	3,64±0,01

Примітка. 1. Вірогідність похибки $P < 0,05$; 2. н/в – не виявлено

Методом ВЕРХ виявлено, встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст індивідуальних сполук фенольної природи у бедринцю ломикаменевого траві: гідроксикоричних кислот (рис. 2) – розмаринової (0,11 %) і хлорогенової (3,13 %); флавоноїдів (рис. 3) – рутину (0,44 %), лютеоліну (0,28 %), гіперозиду (0,19 %), ізокверцитрину (0,09 %); кумаринів – скополетину (0,001 %), псоралену (0,0002 %), не визначено бергаптену. У кореневищах і коренях рослини ідентифіковано і визначено 0,34 % хлорогенової кислоти (рис. 4), 0,009 % скополетину, 0,007 % псоларену, 0,008 % бергаптену (табл. 4). Не виявлено у підземних органах флавоноїдів.

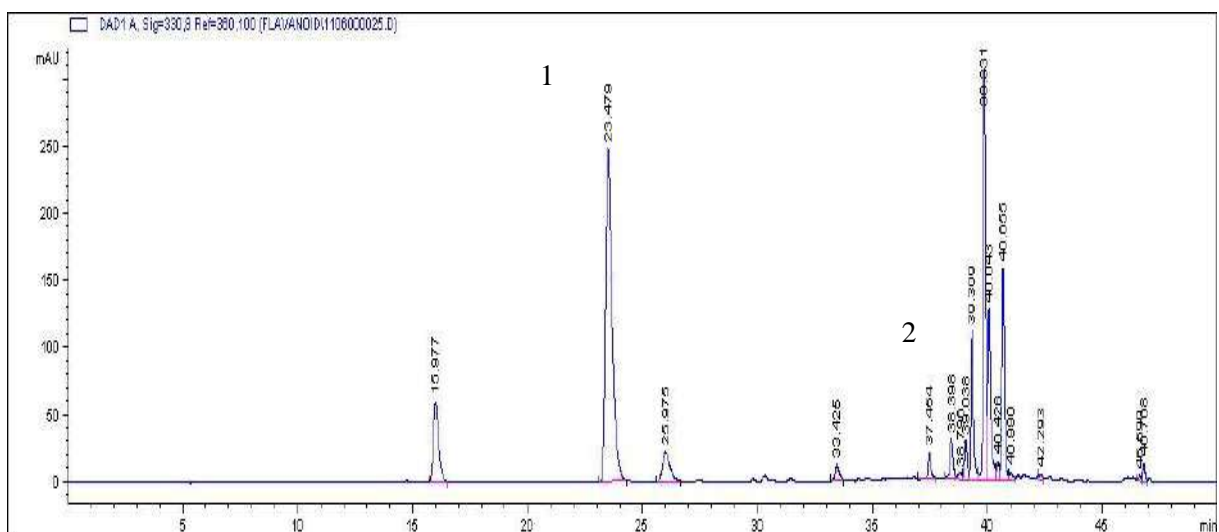


Рис. 2. ВЕРХ-хроматограма бедринцю ломикаменевого траві при $\lambda = 330$ нм: 1 – хлорогенова кислота, 2 – розмаринова кислота

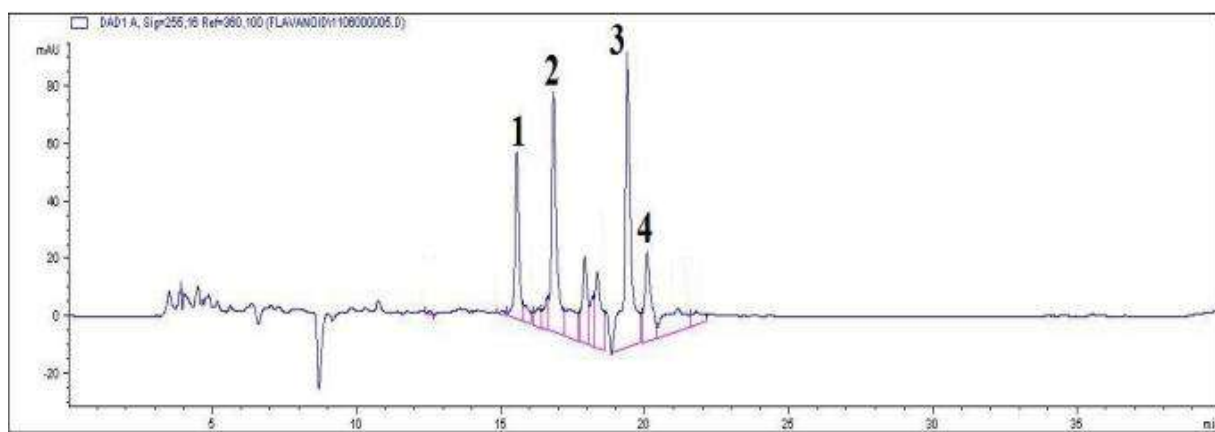


Рис. 3. ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів бедринцю ломикаменевого трави при $\lambda = 255$ нм: 1 – рутин; 2 – гіперозид; 3 – лютеолін; 4 – ізокверцитрин

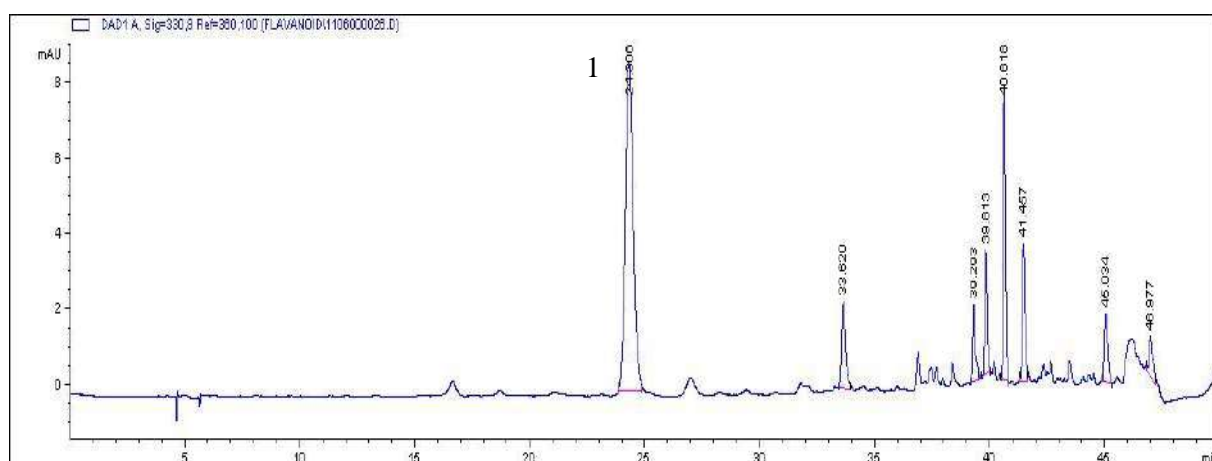


Рис. 4. ВЕРХ-хроматограма підземних органів бедринцю ломикаменевого при $\lambda = 330$ нм 1 – хлорогенова кислота

Таблиця 4

Кількісний вміст індивідуальних кумаринів у бедринцю ломикаменевого траві та кореневищах і коренях

БАР	УФ-спектр λ max, нм	Час утримання, хв	Кількісний вміст у траві, %	Кількісний вміст у кореневищах і коренях, %
Скополетин	340	16,45	0,001	0,009
Псорален	340	18,72	0,0002	0,007
Бергаптен	340	19,22	н/в	0,008

Примітка. н/в – не виявлено

Визначення летких сполук у бедринцю ломикаменевого траві та кореневищах і коренях. Методом ГХ/МС визначено якісний склад компонентів летких сполук досліджуваних органів бедринцю ломикаменевого.

У бедринцю ломикаменевого траві виявлено 59 компонентів летких сполук, з яких 26 ідентифіковано. Основними компонентами є гермакрен-D,

β -бісаболен, гептакозан, нонакозан (відсоток співпадіння 99 %). У траві досліджуваного об'єкту виявлено сесквітерпеновий спирт – α -бергамотол (відсоток співпадіння 90 %), який може бути маркерною сполукою легкої фракції трави бедринцю ломикаменевого. У кореневищах і коренях виявлено 65 компонентів летких сполук, з них ідентифіковано 27. Основними сполуками є каріофілен, *n*-гексадеканова кислота та 9,12-октадекадієнова кислота (відсоток співпадіння 99 %); гермакрен-D та β -гурьонен (відсоток співпадіння 98 %). Порівнюючи компонентний склад летких сполук у траві та кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого слід відмітити, що спільними компонентами підземних і надземних органів рослини є β -фарнезен, гермакрен-D, β -бісаболен, 1,3-диметилнафтаген та *n*-гексадеканова кислота.

Визначення сапонінів. Бедринець ломикаменевого містить незначну кількість сапонінів. У траві міститься $(0,99 \pm 0,02)$ % сапонінів у перерахунку на есцин; у кореневищах і коренях – $(1,89 \pm 0,12)$ %.

Визначення елементного складу бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів. З використанням методу ААС встановлено наявність та визначено кількісний вміст у досліджуваній сировині по 15 елементів – по 5 макро- (К, Са, Mg, Na, Р) та по 10 мікроелементів (Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Се, Cr, Со, Pb, Cd).

Згідно з одержаними результатами можна встановити таку закономірність за вмістом елементів у досліджуваній сировині: трава – К > Са > Mg > Р > Na > Fe > Mn > Zn > Cu > Se > Pb > Ni > Cr > Со > Cd; кореневища і корені – К > Са > Mg > Na > Р > Fe > Mn > Zn > Cu > Se > Pb > Cr > Ni > Со > Cd.

Домінуючими є такі макроелементи: калій (12929 мг/кг і 8095 мг/кг повітряно-сухої сировини), кальцій (8788 мг/кг і 1539 мг/кг) і магній (2930 мг/кг і 1125 мг/кг) відповідно у траві та кореневищах і коренях. З мікроелементів у досліджуваних об'єктах домінує ферум – 151 мг/кг і 181 мг/кг відповідно.

Вміст важких металів у досліджуваному об'єкті знаходився в межах вимог гранично допустимих концентрацій для сировини та харчових продуктів і відповідає вимогам ДФУ.

Морфолого-анатомічний аналіз бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifrage* L.) та визначення числових показників сировини

Проведено визначення морфолого-анатомічних діагностичних ознак бедринцю ломикаменевого трави і підземних органів.

Макроскопічні ознаки бедринцю ломикаменевого трави. Стебла тонкорестисті, розгалужені, короткоопушені. Листки перисті, довгочерешкові, край зубчастопилчастий. Квітки дрібні, п'ятипелюсткові, зібрані в складні зонтичні суцвіття. Плоди – дрібні яйцеподібні двосім'янки. Листкова пластинка зверху зелена, знизу – світло-зелена, квітки білі. Запах слабкий, приємний. Смак пряний, гіркуватий.

Основними анатомічними ознаками стебла є: на поперечному розрізі округле, багаторестисте у верхній та середній частині (рис. 5). Епідерма стебла

дрібноклітинна, продихи овальні, великі, нечасті. Продиховий апарат аномоцитного та анізоцитного типів. Епідерма опушена, трихоми розташовані поодинокі між ребрами і групами по ребрах.

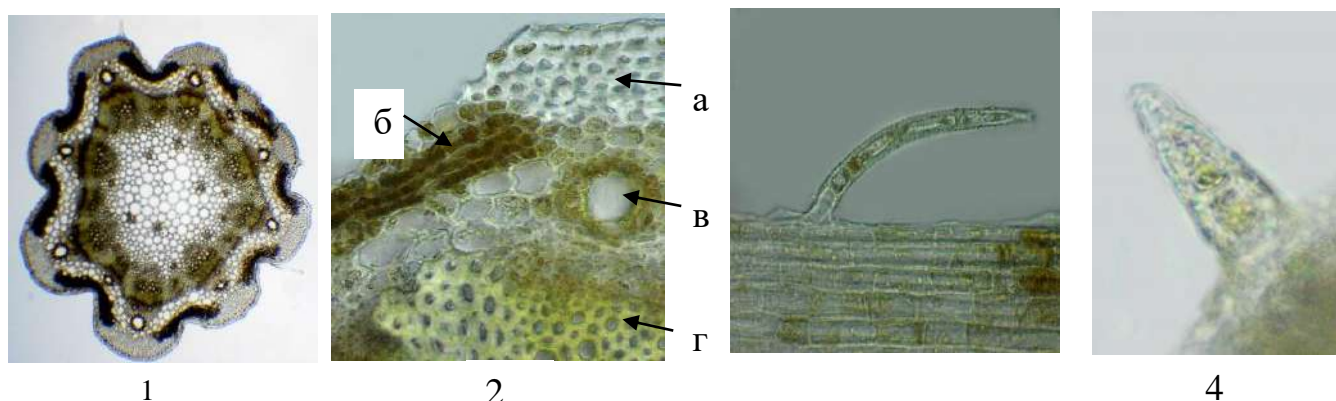


Рис. 5. Стебло бедринцю ломикаменевого: 1 – верхня частина; 2 – фрагмент корової паренхіма: а – кутова коленхіма, б – хлоренхіма, в – схизогенне вмістище, г – склеренхіма; 3 – довгий багатоклітинний волосок; 4 – 2-клітинний короткий волосок

Листок дорзивентрального типу. Верхня епідерма (рис. 6) представлена паренхімними клітинами різної форми від багатокутових до ізодіаметричної форми. Оболонки клітин слабо, чоткоподібно потовщені, з вираженими прямими порами. Продихів багато, великі, овальної форми. Тип продихового апарату парацичний і аномоцитний. Клітини нижньої епідерми витягнуті, прямокутні, з потовщеними оболонками. Листок нерівномірно опушений, більше трихом з нижнього боку, розташовані, в основному, групами вздовж жилок. За типом трихоми криючі 1 – 6-клітинні, товстостінні, бородавчасті, з закругленими верхівками.

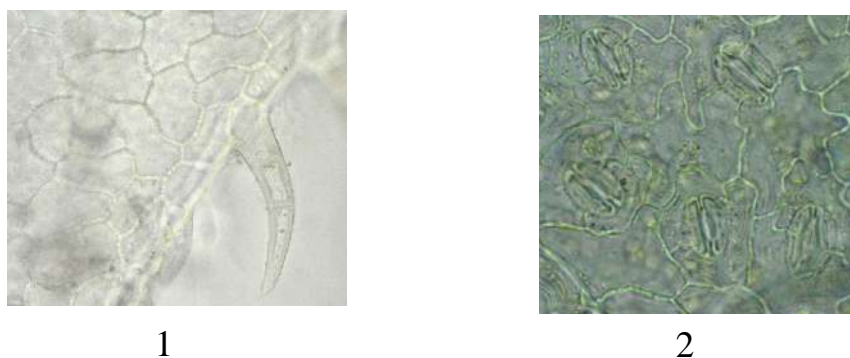


Рис. 6. Листок бедринцю ломикаменевого: 1 – верхня епідерма; 2 – нижня епідерма

Макроскопічні ознаки бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів. Веретеноподібні, поздовжньо-зморшкуваті кореневища до 5 см завдовжки, товщиною від 2 до 5 мм. Корені циліндричної форми, 5-20 см завдовжки, до 1 мм

у діаметрі. Зовні сірувато-бурого кольору, злам нерівний, жовтувато-білого кольору з жовто-бурими крапками. Запах сильний, ароматний, подразнюючий. Смак гострий, солодкувато-гіркий.

Основними анатомічними ознаками кореневища є: товстий шар перидерми, добре розвинена коро́ва паренхіма з великих паренхімних клітин, нижче дрібні клітини-елементи флоєми, що містить крохмаль, і, яка розділяється рівномірно широкими серцевинними променями. У верхній частині коро́ви паренхіми містяться видовжені повітряні порожнини; є численні невеликі схизогенні вмістища округлої форми; паренхімні клітини, що оточують їх, містять крохмаль. Центральний циліндр чітко відокремлений шаром камбію. У центрі кореневища чітко виражена порожнина.

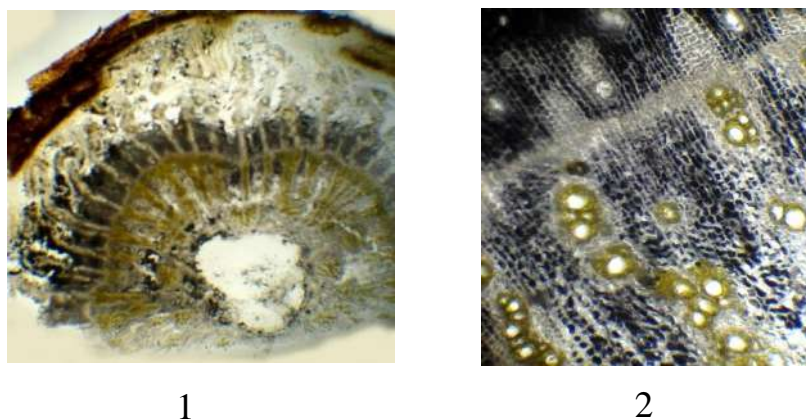


Рис. 7. Кореневище бедринця ломикаменевого: 1 – загальний вигляд ; 2 – фрагмент центрального циліндра

Визначено основні числові показники бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів – втрату в масі при висушуванні, вміст загальної золи та золи, нерозчинної в хлористоводневій кислоті.

На підставі проведених досліджень розроблено проекти МКЯ «Бедринцю ломикаменевого трава» і «Бедринцю ломикаменевого кореневища і корені».

Одержання біологічно активних субстанцій з надземних і підземних органів бедринцю ломикаменевого та вивчення їх фармакологічної активності

Обґрунтовано технологію одержання густого екстракту з трави бедринцю ломикаменевого; як екстрагент, що вилучає максимальну кількість БАР з досліджуваної сировини бедринцю ломикаменевого (суми сапонінів, суми флавоноїдів, суми кислот гідроксикоричних, суми кумаринів) та екстрактивних речовин обрано етанол 85 %.

Густий екстракт з трави бедринцю ломикаменевого – однорідна в'язка маса коричнево-зеленуватого кольору, гіркувато-солодкувата на смак, зі своєрідним запахом.

Стандартизацію густого екстракту, одержаного з бедринцю ломикаменевого трави, запропоновано проводити за вмістом суми гідроксикоричних кислот, що повинна становити не менше 4,31% та суми флавоноїдів (не менше 4,95 %) (табл. 5).

Таблиця 5

Вміст основних груп біологічно активних речовин у досліджуваних екстрактах з надземних органів бедринцю ломикаменевого

БАР, %	60 % етанол	70 % етанол	75% етанол	80 % етанол	85 % етанол	90% етанол
Сума гідроксикоричних кислот	2,17 ±0,02	2,53 ±0,05	2,77 ±0,02	2,57 ±0,03	4,31 ±0,04	3,51 ±0,05
Сума флавоноїдів	3,73 ±0,02	3,84 ±0,02	4,18 ±0,05	4,26 ±0,07	4,95 ±0,02	4,97 ±0,05
Сума кумаринів	1,87 ±0,05	1,86 ±0,05	1,88 ±0,15	2,10 ±0,06	2,12 ±0,15	2,06 ±0,05
Сапоніни	1,01 ±0,04	1,12 ±0,05	1,02 ±0,01	2,10 ±0,06	1,22 ±0,07	1,06 ±0,05
Екстрактивні речовини	47,09 ±1,15	46,18 ±3,17	42,99 ±4,00	47,09 ±3,15	46,18 ±3,55	42,99 ±2,45

Примітка. Вірогідність похибки $p < 0,05$

Обґрунтовано технологію одержання густого екстракту з бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів; як екстрагент, що вилучає максимальну кількість БАР, обрано 85 % етанол, тому для фармакологічних і мікробіологічних досліджень використовували екстракти, виготовлені таким способом.

Густий екстракт з бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів – масляниста маса зеленувато-бурого кольору, гіркувато-солодкувата на смак, зі специфічним запахом.

Таблиця 6

Вміст основних груп біологічно активних речовин у досліджуваних екстрактах з підземних органів бедринцю ломикаменевого

БАР, %	60 % етанол	65 % етанол	70 % етанол	75% етанол	80 % етанол	85 % етанол	90 % етанол
1	2	3	4	5	6	7	8
Сума гідроксикоричних кислот	1,85 ±0,02	1,98 ±0,01	2,17 ±0,02	2,48 ±0,03	2,55 ±0,01	2,97 ±0,02	2,50 ±0,04
Сума флавоноїдів	1,79 ±0,02	1,86 ±0,01	1,94 ±0,03	1,95 ±0,02	1,90 ±0,01	1,98 ±0,01	1,95 ±0,01

1	2	3	4	5	6	7	8
Сума кумаринів	3,23 ±0,02	3,96 ±0,03	4,49 ±0,04	5,02 ±0,03	5,07 ±0,03	5,23 ±0,02	5,24 ±0,03
Сапоніни	2,02 ±0,03	2,56 ±0,04	2,57 ±0,02	2,55 ±0,03	3,16 ±0,02	3,10 ±0,02	1,67 ±0,01
Екстрактивні речовини	47,15 ±1,01	47,09 ±3,11	46,18 ±2,99	42,99 ±3,56	47,09 ±4,01	46,18 ±1,34	42,54 ±2,01

Примітка. Вірогідність похибки $p < 0,05$

Стандартизацію густого екстракту з підземних органів бедринцю ломикаменевого запропоновано проводити за вмістом сапонінів (не менше 3,10 %) і суми кумаринів, що повинна становити не менше 5,23 % (табл. 6). У густому екстракті з бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів також визначено ефірну олію, вміст якої становив 4 мл/кг.

Розроблено проекти МКЯ «Бедринцю ломикаменевого трави екстракт густий» та «Бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів екстракт густий».

Комплекс проведених досліджень з вивчення гострої токсичності показав, що густий екстракт бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів за класифікацією К. К. Сидорова можна віднести до V класу токсичності – практично нешкідливі речовини ($LD_{50} \geq 5000$ мг/кг).

В експериментах на щурах і мишах досліджено відхаркувальну активність екстрактів бедринцю ломикаменевого (табл. 7).

Таблиця 7

Вплив густих екстрактів бедринцю ломикаменевого на секреторну функцію бронхів

Групи тварин (n=5)	Доза, мг/кг	Оптична густина, од. А	Здатність секретувати мокроту, %
Контроль	–	0,171±0,037#	100%
БЕГТ	100 мг/кг	0,341±0,049*#	98,9%
БЕГТ	200 мг/кг	0,391±0,020*#	128,1%
БЕГК	100 мг/кг	0,383±0,018*#	123,2%
БЕГК	200 мг/кг	0,419±0,010*	144,5%
«Геделікс» краплі	100 мг/кг	0,408±0,043*	137,8%
«Геделікс» краплі	200 мг/кг	0,447±0,028*	161,0%

Примітка. 1. * – достовірні відмінності ($p < 0,05$) відносно контролю; 2. # – достовірні відмінності ($p < 0,05$) відносно «Геделікс» краплі

Відхаркувальну дію густих екстрактів бедринцю ломикаменевого у порівнянні з референс-препаратом «Геделікс» краплями вивчали за їх впливом на

секреторну функцію бронхів та активність моторики війчастого епітелію. Встановлено, що обидва екстракти проявили відхаркувальну дію у дозі 200 мг/кг і показали спроможність збільшувати як секреторну, так і моторну функцію епітелію дихальних шляхів

Встановлено, що густий екстракт з кореневищ і коренів має високу здатність секретувати мокроту, яка незначно поступається здатності препарату порівняння «Геделікс» краплі – 144,5 % і 161,0 % відповідно (табл. 7). Вплив на секреторну функцію бронхів густого екстракту з трави бедринцю ломикаменевого був значно менший (128,1%).

Відхаркувальна активність бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів екстракту густого перевищувала у 1,7 раза аналогічну активність екстракту, одержаного з трави рослини (табл. 8). За величиною відхаркувальної дії бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів екстракт густий у дозі 200 мг/кг дещо поступаються референс-препарату – «Геделікс» краплям – 31,87 % і 40,89 % відповідно.

Таблиця 8

Вплив густих екстрактів бедринцю ломикаменевого на час просування макових зернят по війчастому епітелію трахеї щурів

Групи тварин (n=5)	Доза, мг на 250 мл інкубаційної суміші	Час просування макового зернятка по війчастому епітелію трахеї щура, хв
Контроль (розчин Тіроде)		23,3±0,59
БЕГТ	200	18,8±0,23*# (19,24%)
БЕГК	200	15,9±0,97* (31,87%)
«Геделікс» краплі	200	13,8±0,58* (40,89%)

Примітка. 1. * – достовірні відмінності ($p < 0,05$) відносно контролю; 2. # – достовірні відмінності ($p < 0,05$) відносно «Геделікс» краплі

На моделі карагенінового набряку встановлено антиексудативні властивості густих екстрактів з трави та з кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого. Встановлено, що кращу протизапальну активність проявляла субстанція з трави бедринцю ломикаменевого (21,9 %).

У досліджах *in vitro* методом дифузії в агар та методом серійних розведень доведена антимікробна активність бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів екстракту густого. Результати досліджень показали, що грампозитивні бактеріальні штами *S. aureus*, *C. albicans*, *B. subtilis* є достатньо чутливими до нативного густого екстракту з підземних органів рослини (діаметри зони пригнічення росту культур склали від 20,3±0,7 мм до 25,0±0,5 мм) (табл. 9).

Дослідження антимікробної активності бедринцю ломикаменевого підземних органів екстракту густого методом дифузії в агар – метод «колодязів»

Зразок	Культури мікроорганізмів				
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
	діаметри зон затримки росту, мм				
ГЕ з кореневищ і коренів	25,0±0,5	21,1±0,6	18,0±0,7	15,2±0,8	20,3±0,7

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та вирішення наукових завдань, що виявляється у комплексному фармакогностичному дослідженні бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів, дослідженні різних груп біологічно активних речовин та одержанні лікарських субстанцій на їх основі.

1. Уперше проведено комплексне фармакогностичне вивчення бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів. У результаті досліджень у траві та кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого виявлено: органічні та жирні кислоти, вуглеводи, амінокислоти, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, кумарини, дубильні речовини, сапоніни, ефірна олія.

2. Встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст амінокислот і полісахаридів у надземних і підземних органах бедринцю ломикаменевого. У траві виявлено 17 зв'язаних амінокислот та 15 вільних; у підземних органах – 13 вільних і 17 зв'язаних амінокислот. 3 вільних амінокислот у бедринцю ломикаменевого траві кількісно переважають пролін і глутамінова кислота; не виявлено цистину і метіоніну. У підземних органах з вільних амінокислот найбільше є аргініну, не виявлено гістидину, цистину, метіоніну і лізину. Зі зв'язаних амінокислот у траві і підземних органах домінують глутамінова кислота і цистин. Результати дослідження полісахаридного комплексу бедринцю ломикаменевого трави показали, що вміст водорозчинних полісахаридів у траві становив 6,95 %, у кореневищах і коренях – 11,25 %; пектинових речовин – 11,89 % і 4,41 % відповідно. Методом ГХ/МС виявлено 13 цукрів, ідентифіковано 3 у траві та виявлено 5 цукрів, ідентифіковано 2 у підземних органах.

3. Вперше встановлено компонентний склад та визначено кількісний вміст органічних і жирних кислот у траві та підземних органах бедринцю ломикаменевого. Методом ТШХ виявлено наявність щавлевої, лимонної, бурштинової, бензойної, винної та слідів саліцилової кислот у траві та щавлевої, лимонної, бурштинової, винної у кореневищах і коренях. Визначено кількісний вміст суми вільних кислот органічних у бедринцю ломикаменевого траві, що

становило 0,37 %, у кореневищах і коренях – 0,44 %. Встановлено, що у ліпофільному екстракті бедринцю ломикаменевого трави і кореневищ і коренів кількісно переважала лінолева кислота, вміст якої становив 5,59 мг/кг і 43,10 мг/кг відповідно. З насичених жирних кислот в обох об'єктах домінує пальмітинова – 4,05 мг/кг і 7,15 мг/кг відповідно.

4. Спектрофотометричним методом встановлено кількісний вміст сполук фенольної природи у бедринцю ломикаменевого трави і кореневищах і коренях: флавоноїдів – 2,19 %, гідроксикоричних кислот – 4,62 % і 1,52 %, суми кумаринів – 1,81 % і 3,64 %, танінів – 2,04 % і 1,86 %, поліфенолів – 4,85 і 3,72 %. Методом ВЕРХ вперше ідентифіковано та встановлено кількісний вміст у досліджуваних об'єктах вільних галової і елагової кислот; гідроксикоричних кислот (хлорогенової і розмаринової), флавоноїдів (рутину, гіперозиду, ізокверцитрину, лютеоліну), кумаринів (скополетину, псоралену, бергаптену). У підземних органах не виявлено флавоноїдів. У бедринцю ломикаменевого трави та кореневищах і коренях встановлено наявність та визначено кількісний вміст сапонінів – 0,99 % і 1,89 % відповідно.

5. Методом газової хромато-мас-спектрометрії досліджено якісний склад летких сполук бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів. У траві виявлено 59 компонентів, ідентифіковано 26. У кореневищах і коренях ідентифіковано 27 компонентів з 65 виявлених. Основними компонентами бедринцю ломикаменевого трави є гермакрен-Д, β -бісаболен, гептакозан, нонакозан; кореневищ і коренів – каріофілен, гермакрен-Д та β -гурьонен. Встановлено маркерну сполуку легкої фракції з трави бедринцю ломикаменевого – α -бергамотол.

6. Методом ААС визначено елементний склад бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів. Виявлено по 15 елементів: по 5 макро- (К, Са, Na, Mg, P) та по 10 (Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Se, Cr, Co, Pb, Cd) мікроелементів. Встановлено значне накопичення калію, кальцію і магнію.

7. Визначено основні діагностичні морфологічні та структурні анатомічні ознаки сировини. Розроблено проекти МКЯ на нову ЛРС «Бедринцю ломикаменевого трава» і «Бедринцю ломикаменевого кореневища і корені».

8. Розроблено технологію одержання густих екстрактів з бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів, проведено їх стандартизацію. Розроблено проекти МКЯ «Бедринцю ломикаменевого трави екстракт густий» та «Бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів екстракт густий». Проведено фармакологічні дослідження густих екстрактів з трави та з кореневищ і коренів, встановлено наявність відхаркувальної, протизапальної та антимікробної активності.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Марчишин С. М., Гонтова Т. М., Панасюк Е. А. Морфолого-анатомічне дослідження бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.). *Фармацевтичний часопис*. 2015. №2. С. 9-16 (Особистий внесок – здійснювала

літературний огляд, виконувала експериментальну частину, брала участь в обговоренні отриманих результатів та підготувала статтю до друку).

2. Вміст кислот гідроксикоричних у траві та кореневищах і коренях бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.) / Паращук Е. А., Марчишин С. М., Кирилів М. В., Бекус І. Р. *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20. № 3. С. 90-95 (Особистий внесок – виконувала експериментальну частину, брала участь в обговоренні отриманих результатів та підготувала статтю до друку).

3. Паращук Е. А., Марчишин С. М., Слободянюк Л. В. Дослідження летких компонентів бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.). *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20. № 4. С. 107-113 (Особистий внесок – виконувала експериментальну частину, брала участь в обговоренні отриманих результатів та підготувала статтю до друку).

4. Визначення антимікробної активності бедринцю ломикаменевого екстракту густого / Паращук Е. А., Ткачук Н. І., Марчишин С. М., Козир Г. Р. *Фармацевтичний часопис*. 2019. № 1 (49). С. 85-91 (Особистий внесок – виконала експериментальну частину, провела аналіз результатів дослідження протимікробної та протигрибкової дії, підготувала статтю до друку).

5. Паращук Е. А., Марчишин С. М., Слободянюк Л. В. Дослідження похідних кумаринів бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.). *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 1. С. 66-70 (Особистий внесок – виконала експериментальну частину, описала одержані результати, брала участь в написанні статті).

6. Phenolic compounds from *Pimpinella saxifraga* L. / S. Marchyshyn, E. Parashchuk, I. Dakhym, L. Husak. *The Pharma Innovation Journal*. 2018. № 7 (6). P. 600-602 (Особистий внесок - виконувала експериментальну частину, брала участь в узагальненні одержаних результатів та в написанні статті).

7. Пат. На корисну модель № 139946 Україна, МПК А61К 36/00, С11В 1/04, С11В 1/10, А61Р 11/10. Спосіб одержання рослинної субстанції з відхаркувальною та антимікробною активністю / Марчишин С. М., Паращук Е. А., Козир Г. Р., Слободянюк Л. В., Ткачук Н. І., Волощук Н. І. № u 2019 08377 ; заявл. 16.07.19 ; опубл. 27.01.20, Бюл. № 2 (Особистий внесок – брала участь в патентному пошуку, одержанні засобу та в оформленні патенту).

8. Панасюк Е. А. Вміст дубильних речовин у траві і підземних органах бедринцю ломикаменевого. *XIX Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених, присвячений пам'яті ректора, члена-кореспондента НАМН України, професора Леоніда Якимовича Ковальчука: матер. XIX конгр.*, 27-29 квіт. 2015 р. Т., «Укрмедкнига», 2015. С. 339.

9. Panasyuk E. Carbohydrate in above-ground and underground organs of *Pimpinella saxifraga* L. *Plant – the source of research material: 4th International Conference and Workshop*. 20-23.09. 2015. Lublin. P. 92.

10. Марчишин С. М., Панасюк Е. А. Визначення вмісту гідроксикоричних кислот у траві та підземних органах бедринцю ломикаменевого. *Хімія природних сполук: матеріали IV Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародною участю*, 21-22 квіт. 2016 р. Т., «Укрмедкнига», 2016. С. 142 (Особистий внесок – виконала

експериментальну частину, описала одержані результати, брала участь в написанні тез).

11. Марчишин С. М., Панасюк Е. А. Дослідження карбонових кислот у надземних і підземних органах бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.) *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, 13-16 верес. 2016 р. Х., 2016. С. 112 (Особистий внесок – виконала експериментальну частину, описала одержані результати, брала участь в написанні тез).

12. Марчишин С. М., Панасюк Е. А., Демидяк О. Л. Дослідження елементного складу бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.). *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнародною участю, 10-11 листоп. 2016 р. Т., «Укрмедкнига», 2019. С. 46-47 (Особистий внесок – виконала експериментальну частину, описала одержані результати, брала участь в написанні тез).

13. Балик Ю. Паращук Е. Визначення технологічних характеристик бедринцю ломикаменевого підземних органів. *XXIII Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених* : матер. XXIII конгр., 15-17 квіт. 2019 р. Т., «Укрмедкнига», 2019. С. 209 (Особистий внесок – виконала експериментальну частину, описала одержані результати, брала участь в написанні тез).

14. Паращук Е. А. Визначення вмісту біологічно активних речовин вторинного синтезу у траві та підземних органах бедринцю. *Хімія природних сполук*: матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародною участю, 30-31 квіт. 2019 р. Т., «Укрмедкнига», 2019. С. 46.

15. Паращук Е. А., Марчишин С. М. Дослідження відхаркувального ефекту густих екстрактів з трави та кореневищ і коренів бедринцю ломикаменевого. *Актуальні питання фармакології та фармакотерапії*: матеріали Всеукр. науково-практ. конф., 26-27 верес. 2019 р. Т., «Укрмедкнига», 2019 С. 60-61. (Особистий внесок – виконала експериментальну частину, описала одержані результати, брала участь в написанні тез).

АНОТАЦІЯ

Паращук Е. А. «Фармакогностичне дослідження бедринця ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga*)». – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 «Фармацевтична хімія та фармакогнозія» (226 – Фармація, промислова фармація). – Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2020.

Уперше проведено комплексне фармакогностичне дослідження трави та кореневищ і коренів рослини родини селерові (*Ariaceae*) бедринцю ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga* L.). Встановлено у досліджуваній сировині

якісний склад і визначено кількісний вміст амінокислот, полісахаридів, органічних і жирних кислот, летких сполук, речовин фенольної природи (гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, танінів, поліфенолів, кумаринів), сапонінів, а також вивчено елементний склад рослини.

Вперше проведено системне морфолого-анатомічне дослідження бедринцю ломикаменевого трави та кореневищ і коренів, встановлено їх основні морфологічні та анатомічні діагностичні ознаки.

Розроблено технологію одержання субстанцій з надземних і підземних органів бедринцю ломикаменевого – густих екстрактів, для яких визначено безпечність і фармакологічну дію (відхаркувальну і протизапальну) та антимікробну активність. За дослідженням гострої токсичності досліджувані екстракти за класифікацією К. К. Сидорова віднесено до V класу токсичності – практично нешкідливі речовини, $LD_{50} \geq 5000$ мг/кг.

Розроблено проекти методів контролю якості «Бедринцю ломикаменевого трава», «Бедринцю ломикаменевого кореневища і корені», «Бедринцю ломикаменевого трави екстракт густий» та «Бедринцю ломикаменевого кореневищ і коренів екстракт густий».

Ключові слова: бедринець ломикаменевий, трава, кореневища і корені, густий екстракт, фармакогностичне і фармакологічне дослідження, морфолого-анатомічний аналіз.

АННОТАЦІЯ

Паращук Е. А. «Фармакогностическое исследование бедренца ломикаменевого (*Pimpinella saxifraga*)». – Квалификационный научный труд на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 «Фармацевтическая химия и фармакогнозия» (226 – Фармация, промышленная фармация). – Тернопольский национальный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МЗ Украины, Запорожский государственный медицинский университет МЗ Украины, Запорожье, 2020.

Впервые проведено комплексное фармакогностическое исследование травы и корневых и корневых растений семейства сельдерейные (*Ariaceae*) бедренца камнеломкового (*Pimpinella saxifraga* L.). Установлен в исследуемой сырье качественный состав и определено количественное содержание аминокислот, полисахаридов, органических и жирных кислот, летучих соединений, веществ фенольной природы (гидроксикоричных кислот, флавоноидов, танинов, полифенолов, кумаринов), сапонинов, а также изучен элементный состав растения.

Впервые проведено системное морфолого-анатомическое исследование бедренца камнеломкового травы и корневых и корневых, установлены их основные морфологические и анатомические диагностические признаки.

Разработана технология получения субстанций из надземных и подземных органов бедренца камнеломкового – густых экстрактов, для которых определены

безопасность и фармакологическое действие (отхаркивающее и противовоспалительное), а также антимикробная активность. По исследованию острой токсичности исследуемые экстракты по классификации К. К. Сидорова отнесены к V классу токсичности – практически безвредные вещества, ЛД₅₀ ≥ 5000 мг/кг.

Разработаны проекты методов контроля качества «Бедренца камнеломкового трава», «Бедренца камнеломкового корневища и корни», «Бедренца камнеломкового травы экстракт густой» и «Бедренца камнеломкового корневищ и корней экстракт густой».

Ключевые слова: бедренец камнеломковый, трава, корневища и корни, густой экстракт, фармакогностические и фармакологические исследования, морфолого-анатомический анализ.

ANNOTATION

Parashchuk E. A. Pharmacognostic study of burnet saxifrage (*Pimpinella saxifraga*). – Qualifying thesis manuscript copyright.

Thesis for the Candidate Degree in Pharmaceutical Sciences, specialty «Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy» (226 – Pharmacy, industrial pharmacy). – I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2020.

The thesis is devoted to the study of a valuable medicinal plant from the family of celery (*Apiaceae*) burnet saxifrage (*Pimpinella saxifraga* L.). Complex pharmacognostic analysis of herb and rhizomes and roots of the studied plant was carried out and the qualitative composition was determined and the quantitative content of biologically active substances was identified: amino acids, polysaccharides, hydroxycinnamic acids, flavonoids, coumarins, tannins, fatty and organic acids, saponins, essential oil. The elemental composition of the above-ground and underground organs of the plant were determined.

The fractions of water-soluble polysaccharides (WSPS) and pectic substances (PS) in the herb and rhizomes and roots of burnet saxifrage were distinguished, the quantitative content of which was: WSPS – herb – 6.95 %, rhizomes and roots – 11.25 %; PS – herb 11.89 %, rhizomes and roots – 4.41 %. The GC/MS method determined the monomer composition of polysaccharides of the studied plant. The composition of polysaccharide complexes of rhizomes and roots revealed 5 sugars, of which 2 were identified; in the herb – 13 sugars, identified – 3. In both samples of the raw materials D-glucose and sucrose were identified.

The quantitative content of the amount of free organic acids of the burnet saxifrage herb and rhizomes and roots was determined, which was 0.37 % and 0.44 %, respectively. The TLC method revealed the presence of oxalic, citric, succinic, benzoic, tartaric and traces of salicylic acids in the burnet saxifrage herb and oxalic, citric, succinic, tartaric – in rhizomes and roots.

The qualitative composition and quantitative content of fatty acids in the raw material of the burnet saxifrage were determined. Polyunsaturated fatty acid – linoleic (5.59 mg/kg and 43.10 mg/kg, respectively) is found to be predominant in herb and rhizomes and roots; of the saturated – palmitic (4.05 mg/kg and 7.15 mg/kg, respectively).

Using the spectrophotometric method in herb and subterranean organs of the burnet saxifrage, we defined the quantitative content of phenolic compounds: sums of hydroxybutyric acids, sums of coumarins, sums of tannins, polyphenols and sums of flavonoids, which amounted to 4.62 %, 1.81 %, 2.04 %, 4.85 in the herb % and 2.19 % respectively; in underground organs – 1.52 %, 3.64 %, 1.86 % and 3.72 % in terms of dry raw materials, respectively.

Using the HPLC in the herb of burnet saxifrage we defined the qualitative composition and quantitative content of individual phenolic compounds: hydroxycinnamic acids – rosmarinic (0.11 %) and chlorogenic (3.13 %); flavonoids – rutin (0.44 %), luteolin (0.28 %), hyperoside (0.19 %), isoquercitrin (0.09 %); coumarins – scopoletin (0.001 %), psoralen (0.0002 %); taninns – free gallic and ellagic (0.07 % and 0.03 % respectively); bergapten was not determined. In the rhizomes and roots of the plant, 0.34 % of chlorogenic acid, 0.009 % of scopoletin, 0.007 % of psolarine, 0.008 % of bergapten, taninns – free gallic and ellagic acids (0.03 % for both), were identified and determined. Flavonoids were not found out in underground organs.

The GC/MS method determined the qualitative and quantitative content of volatile compounds components in the raw material of burnet saxifrage 59 components were found in the herb, 26 were identified; 65 components were identified in the underground organs, 27 – identified. In the herb, the main components are germacrene-D, β -bisabolene, heptacosane, nonacosane (99 % coincidence); in rhizomes and roots – caryophyllene, *n*-hexadecanoic acid and 9,12- octadecadienoic acid (99 % coincidence); germacrene-D and β - guryunene (98 % coincidence).

The quantitative content of saponins was detected and determined by spectrophotometric method in the raw material under study, which in the herb was 0.99 % in terms of escin; in rhizomes and roots – 1.89 %.

The elemental composition of the investigated raw material of the burnet saxifrage was investigated. In both samples, 15 chemical elements were identified. In the herb and rhizomes and roots of the burnet saxifrage, 5 macro- (K, Ca, Mg, Na, P) and 10 trace elements (Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Ce, Cr, Co, Pb, Cd) were detected. Macroelements of calcium, magnesium and potassium accumulate in the studied objects.

Macro- and microscopic analysis of the burnet saxifrage herb and rhizomes and roots was performed, the main diagnostic features of their morphological and anatomical structure were determined.

Acute toxicity of dense extracts from herb and rhizomes and roots of the burnet saxifrage was established. The investigated extracts are classified according to the K. K. Sydorov classification to the class V of toxicity of the compounds almost harmless substances, $LD_{50} \geq 5000$ mg/kg .

The technology of obtaining thick extracts from herb and from rhizomes and roots of the burnet saxifrage and the projects of quality control methods on the substance “Burnet saxifrage thick extract” and “Burnet saxifrage rhizomes and roots thick extract” was developed.

Key words: burnet saxifrage, herb, rhizomes and roots, thick extract, pharmacognostic and pharmacological research, morphological and anatomical analysis.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ААС	–	атомно-абсорбційна спектрофотометрія;
АЕА	–	антиексудативна активність;
БАР	–	біологічно активні речовини;
БЕГК	–	бедринцю екстракт густий кореневищ і коренів;
БЕГТ	–	бедринцю екстракт густий трави;
ВЕРХ	–	високоєфективна рідинна хроматографія;
ВРПС	–	водорозчинні полісахариди;
ГХ	–	газова хроматографія;
ГХ/МС	–	газова хроматографія з мас-спектрометрією;
ДФУ	–	Державна Фармакопея України;
ЕД ₅₀	–	ефективна доза;
КМ	–	коефіцієнт маси;
КП	–	контрольна патологія;
ЛД ₅₀	–	середня летальна доза;
ЛР	–	лікарські рослини;
ЛРС	–	лікарська рослинна сировина;
МКЯ	–	методи контролю якості;
МПА	–	м'ясо-пептонний агар;
МС	–	мас-спектри;
ПК	–	позитивний контроль;
ПР	–	пектинові речовини;
ПХ	–	хроматографія на папері;
ТШХ	–	тонкошарова хроматографія;
УФ	–	ультрафіолетовий;
ФЕК	–	фотоелектроколориметр;
ФСЗ	–	фармакопейний стандартний зразок;
ФСЗ ДФУ	–	фармакопейний стандартний зразок ДФУ;
ШКТ	–	шлунково-кишковий тракт.