

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет

ПОЛОНЕЦЬ ОЛЬГА ВІТАЛІЙВНА



УДК: 615.014.07:582.998.14

ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ХРИЗАНТЕМИ САДОВОЇ
БАГАТОРІЧНОЇ (*CHRYSANTHEMUM × HORTORUM BAILEY*)

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Запоріжжя – 2021

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 Одинцова Віра Миколаївна, Запорізький державний медичний університет, професор кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки;

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

Захист відбудеться «19» квітня 2021 року о 12:00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 17.600.03 при Запорізькому державному медичному університеті (69035, м. Запоріжжя, вул. Маяковського, 26).

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

Автореферат розісланий «18» березня 2021 року.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради



С. О. Васюк

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. В останні роки препарати на основі лікарської рослинної сировини набувають все більшої популярності у фармакотерапії багатьох захворювань. За статистикою ВООЗ до 80 % населення планети віддають перевагу препаратам природного походження. Нині у розвинених країнах світу лікарські засоби рослинного походження займають суттєву частину загального фармацевтичного ринку. Зокрема частка фітопрепаратів у США становить близько 26 % внутрішнього ринку лікарських препаратів. У Німеччині частка зареєстрованих ЛЗРП становить близько 13 % від загальної кількості лікарських засобів (С. Я. Ольхович та ін., 2019; О. П. Баула, Т. М. Деркач, 2017; Звіт Антимонопольного комітету України, 2016; А. В. Гудзенко та ін., 2012).

Інтерес до застосування лікарських рослин і ліків, які одержують на їхній основі, обумовлений тим, що при правильному дозуванні вони практично нетоксичні, нешкідливі, відносно доступні, ефективні та у деяких випадках, завдяки комплексній дії, не мають конкурентів. Особливий інтерес викликає наявність у рослин широкого спектра дії нативних біологічно активних речовин, а саме: ефірної олії, флавоноїдів, антраглікозидів, дубильних речовин, сапонінів, полісахаридів, органічних кислот та інших активних компонентів. Підвищення попиту на ЛЗРП зумовлено також досить високою ефективністю, успішним багатовіковим досвідом використання багатьох з них у народній медицині.

Значні ресурси, доступність сировини, можливість культивування роблять рослинну сировину перспективним об'єктом дослідження з метою розробки нових ЛЗРП (С. Я. Ольхович та ін., 2019; Т. А. Шостак та ін., 2014; М. М. Васенда, 2013).

Важливе науково-практичне значення мають представники родини айстрові (*Asteraceae*), зокрема роду Хризантема (*Chrysanthemum* L.) – квітково-декоративні, ефіроолійні, лікарські рослини ландшафтної архітектури. Найважливішими їх характеристиками є тривалий період цвітіння, стійкість до хвороб, невибагливість до ґрунтово-кліматичних умов, бактерицидні та фунгіцидні властивості (В. Н. Шмигун, 1972).

Хризантеми квітки і листки використовують у народній медицині для лікування очних хвороб, малярії, алкоголізму, мігрені, захворювань шлунково-кишкового тракту; корені – як послаблювальний засіб. У науковій медицині хризантеми практично не використовуються, незважаючи на те, що містять цінні БАР.

У культурі широко використовують хризантему садову (*Chrysanthemum × hortorum* Bailey) або шовковицелисту, яку ще називають «хризантема китайська». Фармакологічні властивості цієї рослини обумовлені наявністю у її сировині різноманітних груп БАР. У зв'язку з цим актуальним є фармакогностичне вивчення даної рослини, її листків і квіток.

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). Особиста участь полягає у комплексному фармакогностичному дослідженні листків та квіток хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* та Пектораль, як перспективного джерела для отримання лікарських засобів, що проявляють протизапальну, седативну та антимікробну дію.

Мета та завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи було проведення комплексного фармакогностичного дослідження біологічно активних речовин хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* та Пектораль листків і квіток, одержання субстанцій на їх основі та вивчення їх фармакологічної активності.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- проаналізувати вітчизняні та закордонні джерела літератури щодо ботанічної характеристики, географічного розповсюдження, хімічного складу, біологічних особливостей та фармакологічної дії рослин роду Хризантема;
- провести фітохімічний аналіз хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* та Пектораль листків і квіток;
- визначити кількісний вміст основних біологічно активних речовин хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* та Пектораль листків і квіток;
- провести порівняльний морфолого-анатомічний аналіз хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* та Пектораль листків і квіток;
- визначити оптимальні умови одержання фармакологічно активних субстанцій з хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль листків і квіток;
- дослідити гостру токсичність отриманих субстанцій та вивчити їх фармакологічну активність;
- розробити проекти методик контролю якості на хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль листки і квітки та одержані з них субстанції.

Об'єкт дослідження – комплексне порівняльне фармакогностичне дослідження сировини хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* та Пектораль, фармакологічна активність рослинних субстанцій, одержаних з хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль листків і квіток.

Предмет дослідження – якісний та кількісний аналіз біологічно активних речовин; макро- та мікроскопічний аналіз досліджуваної сировини; технологічні аспекти визначення оптимальних умов одержання фітосубстанцій з хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль листків і квіток, вивчення їх безпечності, а також протизапальної, седативної та антимікробної активностей.

Методи дослідження. Вивчення якісного складу та визначення кількісного вмісту досліджуваних видів сировини хризантеми садової багаторічної та одержаних екстрактів проводили методами хроматографії (ПХ, ТШХ, ВЕРХ, ГХ/МС), спектрофотометрії, титриметрії, гравіметрії, перегонки з водяною парою, атомно-абсорбційної спектроскопії. Леткі сполуки хризантеми досліджували методом ГХ/МС на хроматографі Agilent Technology 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973inert.

Для вивчення морфологічної будови сировини використовували лупу та бінокулярний мікроскоп. Анатомічну будову мікропрепаратів досліджуваних видів сировини вивчали методом світлової мікроскопії з використанням загальноприйнятих фармакопейних методик мікроскопічного аналізу. Діагностичні мікроскопічні ознаки фіксували за допомогою мікроскопа «Granum» при збільшенні $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$ разів. Фотознімки робили за допомогою фотоапарата Sony DSC-W80.

Також використовували фармакологічні методи дослідження (*in vivo* та *in vitro*). Обробку результатів експериментальних досліджень здійснювали за допомогою програми Microsoft Excel 15,0. Використовували методи математичної статистики (обробка цифрових даних методом варіаційної статистики Ньюмана-Кейлса, непараметричного критерію Манна-Уїтні).

Наукова новизна одержаних результатів. У дисертаційній роботі представлено результати наукового обґрунтування дослідження нової ЛРС з метою створення у подальшому вітчизняних лікарських засобів на рослинній основі. Вперше проведено комплексне порівняльне фармакогностичне дослідження хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* та Пектораль листків і квіток. Проведено вивчення якісного складу і кількісного вмісту основних груп біологічно активних речовин сировини досліджуваних об'єктів. Виявлено в сировині наявність та визначено кількісний вміст вуглеводів (водорозчинних полісахаридів, пектинових речовин), аміно- і жирних кислот, органічних, в тому числі аскорбінової, кислот, фенольних сполук (гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, дубильних речовин), летких сполук, а також макро- і мікроелементів.

Вперше досліджено морфолого-анатомічну будову хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* та Пектораль листків і квіток, встановлено їх основні спільні та відмінні макро- і мікродіагностичні ознаки. Визначено числові показники якості досліджуваних видів сировини згідно з вимогами ДФУ.

Визначено оптимальні умови одержання сухого екстракту з листків і квіток хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль, досліджено їх фармакологічну активність, доведено протизапальну, седативну та антимікробну активності. Визначено гостру токсичність досліджуваних екстрактів з листків і квіток хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль.

Одержано позитивне рішення на заявку на 2 патенти України на корисну модель «Спосіб одержання фармакологічно активної субстанції з протизапальною та седативною дією із листя хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль» номер u202007307 та «Спосіб одержання рослинної субстанції протизапальною та седативною дією» номер u202007312.

Практичне значення одержаних результатів. Розроблено проекти МКЯ на нову лікарську рослинну сировину «Хризантеми садової багаторічної листки» та «Хризантеми садової багаторічної квітки».

Визначено оптимальні умови одержання сухого екстракту з листків і квіток хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль. На одержані субстанції розроблено проекти МКЯ «Хризантеми садової багаторічної листків екстракт сухий» та «Хризантеми садової багаторічної квіток екстракт сухий», встановлено їх протизапальну, седативну та антимікробну активності.

Результати фармакогностичних досліджень впроваджено у науково-дослідну роботу та навчальний процес кафедр хімії природних сполук та фармакогнозії Національного фармацевтичного університету, кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету, кафедр фармації та фармацевтичної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця.

Особистий внесок здобувача. Разом з науковим керівником здобувачем визначено мету, завдання, методики експериментальних досліджень. Дисертантом самостійно проведено інформаційно-патентний пошук та аналіз даних літератури щодо ботанічної характеристики, хімічного складу, особливостей використання рослин роду Хризантема в народній і науковій медицині різних країн світу та в косметології. Дисертантом проведено вивчення якісного складу і кількісного вмісту БАР досліджуваних сортів хризантеми садової багаторічної листків і квіток, здійснено статистичну обробку, аналіз та узагальнення одержаних результатів; проведено порівняльний аналіз морфолого-анатомічних особливостей будови хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* та Пектораль листків і квіток та розроблено проекти МКЯ на нову лікарську рослинну сировину. Обґрунтовано оптимальні умови одержання сухого екстракту з хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль листків і квіток, встановлено їх протизапальну, седативну та антимікробну дію. Розроблено проекти МКЯ на одержані екстракти з хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль листків і квіток.

Дослідження фармакологічної активності сухого екстракту з хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль листків і квіток проведено на базі ННПФ МБД Національного фармацевтичного університету за консультативної допомоги провідного фахівця Гращенкової С. А. Дослідження антимікробної активності сухих екстрактів з хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль листків і квіток 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 Л. М. Сірою, М. С. Гарник, І. С. Дахим, Т. С. Бердей, Г. Р. Козир, О. Л. Демидяк, О. В. Зарічанською, М. І. Луканюк, Т. К. Юдкевич, С. А. Гращенковою, І. О. Лебединець, 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 представлені та обговорені на XIX 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.); 46-th international symposium on essential oils «Natural volatiles & essential oils» (Lublin, Poland, 13- 16 September, 2015); 4th International conference and workshop «Plant – the source of research material» (Lublin, Poland) 20-23.10.2015); 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 XXI століття»: тенденції та перспективи» (Харків, 13-16 вересня 2016 р.); XIV з'їзді українського ботанічного товариства: (Київ, 25-26 квітня 2017 р.); I та II Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (Харків, 5 квітня 2018 р.; 11 березня 2020 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій» (Харків, 2-13 квітня 2018 р.); XXIII Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 15-17 квітня 2019 р.); Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченої пам'яті доктора хімічних наук, проф. Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження) «PLANTA+. Досягнення та перспективи» (Київ, 20-21 лютого 2020 р.); IV Міжнародній науково-практичній конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 12-13 березня 2020 р.).

Апробацію дисертаційної роботи проведено на спільному засіданні професорсько-викладацького складу кафедр фармацевтичного профілю Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського 16 грудня 2020 року.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 23 наукових роботи, 9 статей (8 статей у фахових виданнях, у тому числі 2 статті у профільних журналах, які входять до міжнародних наукометричних баз), 14 тез доповідей.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 215 сторінках друкованого тексту, складається зі вступу, огляду літератури, чотирьох розділів власних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел та 4 додатків (6 актів впровадження). Обсяг основного тексту дисертації складає 130 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 32 таблицями і 50 рисунками. Перелік використаних джерел містить 254 найменування, з яких кирилицею 166, латиницею – 88.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Ботанічна характеристика, розповсюдження, хімічний склад, використання у народній та науковій медицині рослин роду Хризантема (огляд літератури)

Наведено ботанічну характеристику, дані про хімічний склад, застосування у народній та науковій медицині, а також у косметології, кулінарії рослин роду Хризантема. Проведений аналіз даних джерел літератури показав, що рід Хризантема (*Chrysanthemum* L.) налічує більше 200 видів трав'янистих рослин та напівчагарників, які зростають у помірних субтропічних областях Китаю та Японії. Багато видів і сортів роду Хризантема є цінними декоративними рослинами, які сьогодні широко використовують в озелененні в країнах Європи і Азії, проте деякі види знайшли застосування як лікарські. Сьогодні відомо понад 10 тис. сортів хризантем. Широко культивують хризантему садову (*Chrysanthemum × hortorum* Bailey) або шовковицелисту, яку ще називають «хризантема китайська». Різні види роду Хризантема містять багато цінних БАР, серед яких амінокислоти, водорозчинні вуглеводи, ненасичені жирні кислоти, органічні кислоти, дубильні речовини, фенолокислоти, флавоноїди, кумарини, ефірну олію, а також макро- і мікроелементи. У народній медицині Китаю і Японії широко використовують листки і квітки хризантеми: при запальних захворюваннях шлунково-кишкового тракту, при малярії, невралгіях, головних болях, гіпертензії, при захворюваннях очей (кон'юнктивіт, глаукома); зовнішньо – при запальних захворюваннях шкіри (підермії, наривах), для лікування алергічних реакцій та подразнень шкіри. Ефірна олія, отримана з квіток хризантеми, при внутрішньому вживанні зміцнює імунну систему людини, підвищує захисні сили організму, благотворно впливає на нервову систему. У науковій медицині хризантеми практично не використовуються, незважаючи на те, що містять цінні БАР. Хімічний склад видів роду Хризантема вивчено недостатньо. Висвітлені в джерелах літератури фітохімічні та фармакологічні дослідження є неповними, що створює передумови для їх комплексного фармакогностичного дослідження та поглибленого вивчення БАР з метою подальшого створення на їх основі нових безпечних та ефективних вітчизняних фітопрепаратів.

Об'єкти та методи дослідження

Об'єктами для досліджень були хризантеми садової багаторічної (*Chrysanthemum × hortorum* Bailey) сортів *Belgo* та Пектораль листки і квітки, які заготовляли у фазі масового цвітіння рослин у вересні-жовтні 2015-2019 років на дослідних ділянках відділу квітничково-декоративних рослин Національного ботанічного саду імені М. М. Гришка НАН України (м. Київ). Сорт хризантеми садової Пектораль зареєстровано Національним ботанічним садом імені М. М. Гришка Національної академії наук України у 2001 році.

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

Вивчення якісного складу і кількісного вмісту біологічно активних речовин у хризантеми садової багаторічної (*Chrysanthemum×hortorum* Bailey) сортів *Belgo* і Пектораль листків і квіток

При проведенні попереднього якісного фітохімічного аналізу досліджуваної сировини встановлено наявність полісахаридів, флавоноїдів, дубильних речовин, органічних та гідроксикоричних кислот.

Визначення вуглеводів. Досліджено полісахаридні комплекси хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* та Пектораль листки і квітки, виділено фракції ВРПС і ПР, кількісний вміст яких становив: ВРПС – ХСВЛ – (14,27±0,25) %, ХСВК – (17,25±0,25) %; ХСПЛ – (19,24±0,35) %, ХСПК – (14,11±0,20) %; ПР – ХСВЛ – (8,41±0,33) %, ХСВК – (8,55±0,31) %, ХСПЛ – (6,42±0,23) %, ХСПК – (7,35±0,35) %. Вміст ВРПС у перерахунку на суху речовину був найбільший у ХСПЛ, ПР – у ХСВК; найменший ВРПС – у ХСПК, ПР – у ХСПЛ відповідно.

Методом ГХ/МС встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст моноцукрів та сахарози у хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* та Пектораль листках і квітках (табл. 1).

Таблиця 1

Якісний склад та кількісний вміст вільних цукрів у сировині хризантеми садової багаторічної (*Chrysanthemum×hortorum* Bailey) сортів *Belgo* та Пектораль

Цукри	Вміст цукрів, мг/г			
	<i>Belgo</i>		Пектораль	
	листки	квітки	листки	квітки
Моноцукри				
Арабіноза	н/в	н/в	н/в	1,24
Фукоза	н/в	н/в	н/в	1,98
Ксилоза	н/в	н/в	н/в	1,17
Маноза	0,59	н/в	0,41	1,94
Глюкоза	3,56	13,08	3,36	40,95
Галактоза	0,56	0,37	0,89	н/в
Фруктоза	1,52	12,18	4,26	34,57
Дицукор				
Сахароза	20,93	33,64	15,64	69,54

Примітка. н/в – не виявлено

У складі полісахаридного комплексу листків обох сортів хризантеми садової багаторічної ідентифіковано такі вільні цукри як маноза, глюкоза, галактоза, фруктоза та сахароза. У значних кількостях міститься сахароза (20,93 мг/г у листках хризантеми сорту *Belgo* та 15,64 мг/г у листках хризантеми сорту Пектораль). У квітках хризантеми сорту Пектораль визначено з вільних цукрів арабінозу, фукозу, ксилозу, манозу, глюкозу, фруктозу та сахарозу, у квітках хризантеми сорту *Belgo* – глюкозу, галактозу, фруктозу та сахарозу. Як видно з наведених даних (табл. 1), кількісний вміст вільних цукрів більший у квітках хризантеми сорту Пектораль.

Визначення вмісту органічних та аскорбінової кислот у сировині хризантеми садової багаторічної. Проведено кількісне визначення вмісту суми вільних органічних та аскорбінової кислот у хризантеми садової багаторічної листках і квітках. Вміст суми вільних органічних кислот у перерахунку на кислоту яблучну становив у ХСВЛ ($1,61 \pm 0,21$) %, у ХСВК – ($1,40 \pm 0,12$) %; у ХСПЛ – ($0,93 \pm 0,04$) %, у ХСПК – ($1,33 \pm 0,03$) %; кислоти аскорбінової, визначеної спектрофотометричним методом, у ХСВЛ ($0,47 \pm 0,06$) %, у ХСВК – ($0,32 \pm 0,04$ %); у ХСПЛ – ($0,51 \pm 0,05$) %, у ХСПК – ($0,33 \pm 0,02$) %.

Дослідження ліпофільної фракції сировини хризантеми садової багаторічної. Виділено ліпофільні фракції із досліджуваної сировини хризантеми садової багаторічної. З ХСВЛ досліджуваного об'єкту одержано ($8,03 \pm 0,15$) % ліпофільних речовин, з ХСВК – ($12,31 \pm 0,22$) %, ХСПЛ – ($11,07 \pm 0,25$) %, ХСПК – ($11,52 \pm 0,19$) % (рис. 1).

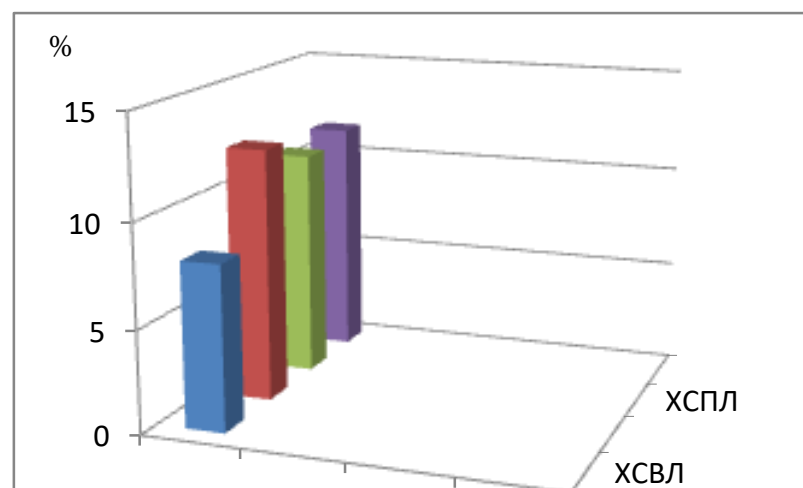


Рис. 1. Діаграма виходу ліпофільної фракції сировини хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* і Пектораль листків і квіток

Визначення кислот жирних. Методом ГХ/МС у ХСВЛ і ХСВК виявлено по 10 жирних кислот, у ХСПЛ – 14, у ХСПК – 11. У хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* квітках і листках у складі ліпофільних сполук переважають ненасичені жирні кислоти, сумарний вміст яких становив 10,6 мг/кг і 15,94 мг/кг відповідно. У хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль квітках характерне переважання насичених жирних кислот (14,78 мг/кг)

Визначення амінокислот. Методом ВЕРХ досліджено амінокислотний склад хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль квіток і листків. У ХСПК і ХСПЛ виявлено по 15 амінокислот у зв'язаному стані; у ХСПК – 11, у ХСПЛ – 14 – у вільному. Домінуючою в усіх об'єктах з виявлених амінокислот є пролін. У ХСПК і ХСПЛ досліджуваного сорту в значній кількості містяться зі зв'язаних глутамінова (6,38 мкг/мг і 7,29 мкг/мг) та аспаргінова (6,16 мкг/мг і 5,92 мкг/мг) кислоти відповідно; у найменшій – в обох об'єктах метіонін (0,28 мкг/мг і 0,29 мкг/мг). У квітках не виявлено з вільних амінокислот ізолейцину, лейцину, лізину, метіоніну та треоніну, у листках – лізину і метіоніну. Відмічено, що сумарний кількісний вміст амінокислот у листках був вищий, ніж у квітках (65,67 мкг/мг і 58,27 мкг/мг відповідно). Досліджений амінокислотний склад хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* (О. Л. Демидяк, 2014).

Дослідження фенольних сполук у хризантеми садової багаторічної листках і квітках. Встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, похідних фенолів, танінів та поліфенолів у досліджуваній сировині. Визначення кількісного вмісту суми зазначених речовин проводили методом спектрофотометрії. Якісний склад і кількісний вміст індивідуальних сполук фенольної природи визначали методом ВЕРХ.

У хризантеми садової багаторічної обох сортів листках і квітках спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст суми речовин фенольної природи. Результати досліджень наведено в табл. 2.

Таблиця 2

Кількісний вміст суми речовин фенольної природи у сировині хризантеми садової багаторічної (*Chrysanthemum × hortorum* Bailey) сортів *Belgo* та Пектораль

БАР	Кількісний вміст, % у перерахунку на абсолютно суху сировину (m=5)			
	<i>Belgo</i>		Пектораль	
	листки	квітки	листки	квітки
Сума фенольних сполук	5,82±0,	4,42±0,01	4,90±0,11	5,79±0,02
Сума гідроксикоричних кислот	9,08±0,01	6,52±0,07	7,61±0,01	8,30±0,04
Суми флавоноїдів	3,30±0,01	4,29±0,01	3,34±0,03	5,58±0,01
Таніни	3,23±0,01	1,23±0,03	1,29±0,09	1,63±0,05
Поліфеноли	7,19±0,02	11,02±0,02	5,79±0,09	11,37±0,04

Примітка. Вірогідність похибки $P < 0,05$.

У хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* і Пектораль листках і квітках методом ВЕРХ виявлено, встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст індивідуальних сполук фенольної природи (табл. 3).

Якісний склад та кількісний вміст індивідуальних фенольних речовин хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* і Пектораль листків і квіток

Назва речовини	УФ-спектр λ max, нм	Кількісний вміст, %			
		сорт <i>Belgo</i>		сорт Пектораль	
		листки	квітки	листки	квітки
1	2	3	4	5	6
Флавоноїди					
Кверцетин	255 нм	н/в	н/в	0,50	0,26
Лютеолін	255 нм	0,09	0,11	0,12	0,12
Рутин	255 нм	0,30	0,21	0,17	0,26
Ізокверцитрин	255 нм	н/в	0,46	0,94	0,23
Апігенін	330 нм	0,09	0,37	0,12	0,36
Кемпферол	255 нм	0,01	н/в	н/в	0,002
Нарінгін	255 нм	н/в	н/в	н/в	0,03
Неогесперидин		н/в	н/в	2,20	1,43
Гідроксикоричні кислоти					
Кислота хлорогенова	330 нм	2,54	0,81	0,48	н/в
Кислота кофейна	320 нм	0,02	н/в	0,03	0,05
Кислота <i>p</i> -кумарова	275 нм	0,01	н/в	н/в	0,08
Кислота ферулова	320 нм	1,02	0,03	н/в	н/в
Кислота розмаринова	330 нм	0,77	0,95	н/в	н/в
Кислота сирінгова	275 нм	н/в	н/в	0,06	0,25
Кислота транс-ферулова	275 нм	н/в	н/в	0,18	0,03
Кислота синапова	275 нм	н/в	н/в	1,09	0,43
Кислота транс-цинамова	275 нм	н/в	н/в	н/в	0,11
Кислота хінна	275 нм	н/в	н/в	0,10	0,02

За результатами ВЕРХ-аналізу у хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* квітках ідентифіковано такі складові дубильних речовин: епікатехін галат (1,61 %), галокатехін – 0,88 %, епігалокатехін – 1,02 %, катехін – 0,04 %, епікатехін – 0,23 %, катехін галат – 0,48 % та вільну галову кислоту (0,04 %). У листках рослини ідентифіковано: галокатехін (0,19 %), катехін (0,03 %), епігалокатехін (2,42 %), епікатехін (0,09 %), епікатехін галат (2,85 %) та вільні елагову (0,04 %) і галову (0,01 %) кислоти. Не виявлено у листках катехін галату. Встановлено, що в листках хризантеми сорту *Belgo* переважає епікатехін галат, вміст якого становив 2,85 % та епігалокатехін – 2,42 %. У хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль квітках ідентифіковано такі складові дубильних речовин: епікатехін галат (1,64 %), галокатехін (0,98 %), епігалокатехін (1,22 %), катехін (0,24 %), епікатехін (0,25 %), катехін галат (0,48 %) та вільну галову кислоту (0,04 %). У листках рослини ідентифіковано: галокатехін (0,25 %), катехін (0,23 %), епігалокатехін (2,42 %), епікатехін (0,09 %) та вільні галову (0,04 %) та елагову (0,06 %) кислоти. Не виявлено у листках катехін галату та епікатехін галату. Домінує у листках хризантеми сорту Пектораль епігалокатехін – 2,42 %.

Визначення летких сполук у хризантеми садової багаторічної сортів Belgo і Пектораль листках і квітках. Методом ГХ/МС визначено якісний склад компонентів летких сполук у досліджуваній сировині. У квітках хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль ідентифіковано 26 компонентів летких сполук, у листках – 27, у хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* у квітках – 49 компонентів, у листках – 24. Загальний вміст летких компонентів у квітках хризантеми садової багаторічної сортів Пектораль і *Belgo* становив 1290,9 мг/кг і 2688,2 мг/кг та 2363,6 мг/кг і 2338,9 мг/кг у квітках і листках відповідно. Загальними компонентами для двох об'єктів хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* є неролідол, цис-пара-мен-2-ен-1-ол, транс-пара-мен-2-ен-1-ол, піперитол, дегідросабінакетон, каріофіленоксид, β -каріофілен, епі- α -кадінол, спатуленол, тимол, сквален і декан; для хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль – 1,8-цинеол, борніл ацетат, фітон, β -каріофілен, каріофіленоксид, бензиловий спирт, нонанол, диізобутилфталат, дибутилфталат, 1,2,5,5-тетраметил-1,3-циклопентадієн і н-тридекан.

Визначення елементного складу сировини хризантеми садової багаторічної проводили за допомогою ААС. У сировині хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* та Пектораль виявлено і визначено кількісний вміст 11 макро- та мікроелементів. З макроелементів у листках та квітках обох досліджуваних сортів хризантеми ідентифіковано К, Са, Mg, Na, з мікроелементів – Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Co, Cd.

З макроелементів у значних кількостях присутні такі елементи: калій (48287 мг/кг у листках і 23705 мг/кг у квітках хризантеми сорту *Belgo* та 37542 мг/кг і 30595 мг/кг для сорту Пектораль відповідно), кальцій (14512 мг/кг у листках і 4751 мг/кг у квітках хризантеми сорту *Belgo* та 16502 мг/кг і 2575 мг/кг для сорту Пектораль відповідно). З наведених даних видно, що кількісний вміст макроелементів у листках обох досліджуваних сортів хризантеми більший, ніж у квітках. Проте у квітках хризантеми сорту *Belgo* вміст магнію вищий, ніж у

листках (3309 мг/кг та 2999 мг/кг відповідно), у квітках сорту Пектораль вищий вміст натрію (1125 мг/кг та 559 мг/кг відповідно).

У листках хризантеми садової багаторічної (*Chrysanthemum × hortorum* Bailey) сортів *Belgo* та Пектораль кількісно переважають усі мікроелементи, за винятком мангану, якого вищий вміст у квітках хризантеми сорту Пектораль.

Морфолого-анатомічний аналіз хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* та Пектораль листків і квіток та вивчення їх числових показників

Проведено визначення морфологічних ознак хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* та Пектораль листків і квіток та визначено їх анатомічні діагностичні ознаки.

Листки обох сортів хризантеми багаторічної садової довгочерешкові, трійчасто- або перисто-лопатові, роздільні чи розсічені, по краю пилчасті (рис. 2). Верхня сторона зелена, опушена, нижня – сірувато-зелена від рясного опушення, з виступаючими жилками.

Кошики хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* мають слабо опукле, горбкувато-ямчасте, голе загальне ложе, укріплене листковою обгорткою із щільно стулених овально-циліндричних листочків, розміщених черепицеподібно. Листочки зовнішніх шарів зеленкувато-бурі, опушені, внутрішніх – дрібніші, буро-бордові, менш зелені. На ложі по спіралі розміщені сидячі квітки. Головну масу складають бордові несправжньоязичкові жіночі квітки, язичок яких з двома, рідше трьома невиразними зубцями або однозубі. Серединні квітки малочисельні, двостатеві, з трубчастим жовтим віночком і будовою, типовою для роду і родини. Сім'янка довжиною 1,8-2,8 мм зі слабкою опуклістю ребер, число яких не перебільшує 6.



Рис. 2. Листя середньої формації сортів *Belgo* (А) і Пектораль (Б)

Кошики хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль густо махрові, яскраві, складаються з безлічі сидячих язичкових і трубчастих квіток, розміщених на опуклому, голому ложі по спіралі. Першими зацвітають квітки периферійних кіл, потім середніх і центральних. Обгортка суцвіття щільна, утворена черепитчасто розташованими видозміненими шкірястими листочками довгасто-овальної форми з півчастою облямівкою. По краю кошика розташовані червоно-помаранчеві зигоморфні несправжньоязичкові жіночі квітки. Серединні квітки

кошика жовті, двостатеві, із зрослопелюстковим п'ятичленным трубчастим віночком. Сім'янка без летючки.

Листкова пластинка. Загальна будова листків обох сортів подібна. Відмінності стосуються кількості та особливостей локалізації деяких діагностичних складових – продихів, трихом, механічної тканини тощо.

Будова листкової пластинки дорзовентральна, амфістоматична. Мезофіл з нестабільною диференціацією стовпчастої хлоренхіми.

Епідермальний комплекс нижньої і верхньої сторін пластинки складають: базисні клітини, оболонки яких тонкі, звивисті тією чи іншою мірою; продихи аномоцитного типу, оточені 4-5 епідермальними клітинами; криючі Т-подібні волоски та ефіроолійні залозки. Кутикула на поверхні гладка або місцями штрихувато-складчаста. У досліджених сортах щільність простих волосків менша на листках сорту *Belgo* (рис. 3А) і більша на листках сорту Пектораль, особливо по жилках і краю пластинки (рис. 3Б).

Для квіток обох сортів хризантеми садової багаторічної характерними анатомічними ознаками є наявність на верхівці і краях несправжньоязичкових квіток клітин епідерми з сосочкуватими опуклостями та нижніх складочках кутикули; прямокутніх клітин зі стовщеною лігніфікованою оболонкою при основі квітки; на поверхні наявні типові для родини *Asteraceae* ефіроолійні залозки.

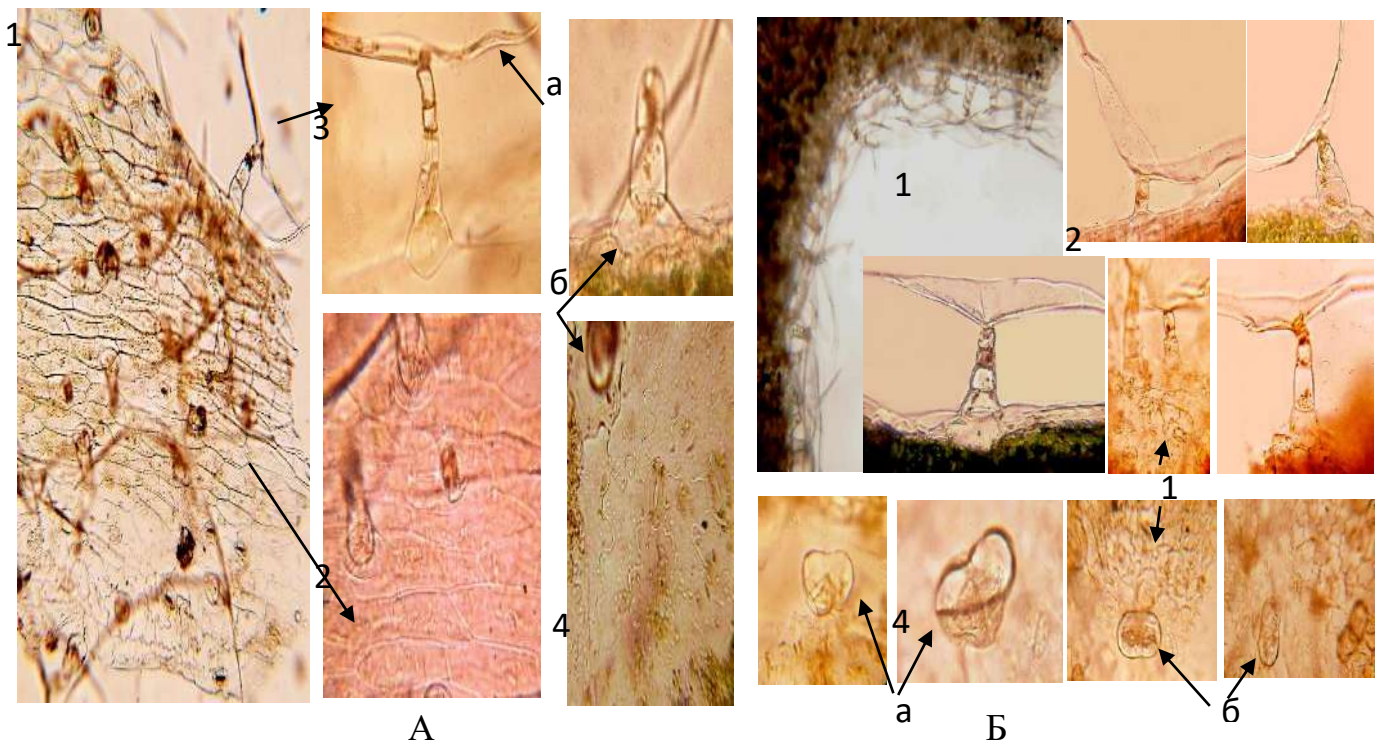


Рис. 3. Фрагменти епідерми листкової пластинки хризантеми сорту *Belgo* (А) і Пектораль (Б): А – 1 – загальний вигляд нижньої епідерми, 2 – клітини над жилками, 3 – Т-подібний волосок: а – головка, б – базисна клітина ніжки, 4 – епідерма між жилками з продихами; Б – 1 – край пластинки, 2 – Т-подібні волоски, 3 – епідерма між жилками з продихами, 4 – залозки: вид збоку (а) і зверху (б)

Для хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* характерним є незначна кількість ефіроолійних залозок в епідермі на листочках обгортки суцвіть, наявність специфічних за будовою великих кулястих багатоклітинних, шаруватих емергенців, наявність на межі віночка і зав'язі великих багатоклітинних пельтатних залозок; для хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль – багато ефіроолійних залозок в епідермі на листочках обгортки суцвіть, наявність у клітинах, що на межі віночка і зав'язі, дрібних друз.

Визначено основні числові показники досліджуваних об'єктів, – втрата в масі при висушуванні, вміст загальної золи та золи, нерозчинної в 10 % розчині хлористоводневої кислоти.

На основі проведених досліджень розроблено проекти МКЯ «Хризантеми садової багаторічної листки» та «Хризантеми садової багаторічної квітки».

Одержання субстанцій хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль листків і квіток та вивчення їх активності

Оскільки у сировині хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль вищий вміст основних БАР та кращий сировинний потенціал, для одержання рослинних екстрактів було обрано квітки і листки даного сорту.

Визначено оптимальні умови одержання СЕ з хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль листків; як екстрагент, що вилучає максимальну кількість БАР (суму флавоноїдів, суму гідроксикоричних кислот, суму фенольних сполук), обрано 60 % етанол та метод ремацерації. Вихід з листків СЕ склав 41,68 %. Стандартизацію одержаного екстракту запропоновано проводити за вмістом суми фенольних сполук і суми гідроксикоричних кислот, що повинна становити не менше 9,68 % і 8,98 % відповідно.

Сухий екстракт хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль листків – однорідний порошок темно-зеленого кольору, солодкуватий на смак, зі своєрідним приємним запахом, втрата в масі при висушуванні складає не більше 5 %.

Визначено оптимальні умови одержання СЕ з хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль квіток; як екстрагент, що вилучає максимальну кількість БАР (суму флавоноїдів, суму гідроксикоричних кислот, суму фенольних сполук), обрано 70 % етанол та метод дробної мацерації. Вихід з листків СЕ склав 28,7 %. Стандартизацію одержаного екстракту запропоновано проводити за вмістом суми фенольних сполук і суми гідроксикоричних кислот, що повинна становити не менше 11,08 % і 9,53 % відповідно.

Сухий екстракт хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль квіток – однорідний порошок темно-коричневого кольору, солодкуватий на смак, зі своєрідним приємним запахом, втрата в масі при висушуванні складає не більше 5 %.

Досліджено фармакологічну активність одержаних сухих екстрактів хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль листків і квіток. При визначенні гострої токсичності встановлено, що середньолетальна доза обох екстрактів лежить за межами IV класу токсичності (5000 мг/кг < ЛД₅₀).

В експерименті на щурах на моделі карагенінового набряку стопи визначено антиексудативну активність одержаних СЕЛХ і СЕКХ. Аналіз отриманих результатів свідчить про помірну протизапальну активність СЕЛХ у дозі 300 мг/кг та СЕКХ у дозі 150 мг/кг протягом усього дослідження, яка становила 24 % та 16 % відповідно. Крім того, СЕЛХ у дозі 300 мг/кг за своєю активністю не поступався протизапальній дії препарату порівняння кверцетину (гранули «Кверцетину» виробництва Борщагівського ХФЗ, м. Київ, Україна), а в перші дві год – натрію диклофенаку (таблетки «Ортофен» виробництва ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я», м. Харків, Україна, серія 571112).

При вивченні впливу СЕЛХ та СЕКХ у дозі 150 мг/кг на поведінкову реакцію щурів встановлено, що після 4 денного введення досліджувані екстракти виявили помірну седативну дію, яка м'яко впливала на всі показники функціонального стану ЦНС у щурів. Доведено, що активність СЕЛХ тенденційно переважає активність СЕКХ.

У досліджах *in vitro* методом серійних розведень доведена антимікробна активність СЕЛХ та СЕКХ. Проведені дослідження показали, що 10 % та 20 % водні розчини СЕЛХ та СЕКХ проявляють антибактеріальну активність проти грампозитивних стафілококів, мікрококів, бацил та проти грамнегативних кишкових паличок. При розведенні 1:1 та 1:2 нативних розчинів протибактеріальний ефект менш виражений або зовсім відсутній. Дані розчини не впливали на клібсїєли, коринебактерії, серації та гриби роду *Candida*.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та вирішення наукових завдань, які реалізуються шляхом комплексного порівняльного фармакогностичного дослідження хризантеми садової багаторічної (*Chrysanthemum × hortorum* Bailey) сортів *Belgo* та Пектораль листків і квіток, як перспективних джерел БАР з достатньою сировинною базою, та одержанні нових лікарських субстанцій на їх основі.

1. На основі аналізу джерел літератури встановлено актуальність дослідження видів роду Хризантема, як перспективних лікарських рослин. Фітохімічними методами аналізу встановлено наявність у хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* і Пектораль листків і квіток конденсованих дубильних речовин, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, полісахаридів, органічних та амінокислот.

2. Досліджено полісахаридні комплекси хризантеми садової багаторічної сортів сортів *Belgo* і Пектораль листків і квіток та виділено фракції ВРПС і ПР, кількісний вміст яких становив: ВРПС – листки – (14,27±0,25) % і (19,24±0,35) %; ПР – листки – (8,41±0,33) % і (6,42±0,23) %; ВРПС – квітки – (14,27±0,25) % і (19,24±0,35) %; ПР – квітки – (8,55±0,31) % і (7,35±0,35) % відповідно. Методом ГХ/МС у складі полісахаридного комплексу листків обох сортів хризантеми ідентифіковано манозу, глюкозу, галактозу, фруктозу та сахарозу. У квітках хризантеми сорту Пектораль визначено 6 вільних цукрів

(арабінозу, фукозу, ксилозу, манозу, глюкозу, фруктозу) та сахарозу, у квітках хризантеми сорту *Belgo* – 3 (глюкозу, галактозу, фруктозу) та сахарозу. Встановлено амінокислотний склад хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* і Пектораль листків і квіток. Виявлено по 15 амінокислот у зв'язаному стані; у квітках – 11, у листках – 14 – у вільному. У квітках і листках досліджуваного сорту в значній кількості містяться зі зв'язаних глютамінова (6,38 мкг/мг і 7,29 мкг/мг) та аспарагінова (6,16 мкг/мг і 5,92 мкг/мг) кислоти відповідно; у найменшій в обох об'єктах – метіонін (0,28 мкг/мг і 0,29 мкг/мг).

3. Встановлено кількісний вміст аскорбінової та суми вільних органічних кислот у хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* і Пектораль листків і квіток – $(0,47 \pm 0,06)$ %, і $(0,51 \pm 0,05)$ % та $(0,32 \pm 0,04)$ % і $(0,33 \pm 0,02)$ %; $(1,61 \pm 0,21)$ % і $(0,93 \pm 0,04)$ % та $(1,40 \pm 0,12)$ % і $(1,33 \pm 0,03)$ % відповідно. Основними органічними кислотами у хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* листках є щавлева, бензойна, яблучна, винна, лимонна; у квітках – щавлева, бензойна, яблучна, лимонна; у хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль листках – щавлева, яблучна, саліцилова, лимонна; у квітках – щавлева, саліцилова, яблучна, лимонна, бурштинова. Методом ГХ/МС у сировині досліджуваних сортів хризантеми садової багаторічної виявлено 49 ліпофільних компонентів, з них ідентифіковано 15. У квітках і листках хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* переважають ненасичені жирні кислоти, сумарний вміст яких становив 10,6 мг/кг і 15,94 мг/кг відповідно. У квітках хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль – насичені жирні кислоти (14,78 мг/кг). З ненасичених жирних кислот у всіх досліджуваних зразках домінуючими є лінолева, ліноленова та лінолелаїнова кислоти.

4. У хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* і Пектораль листків і квіток встановлено якісний склад та визначено кількісний вміст сполук фенольної природи: суми фенольних сполук (у квітках – $(4,42 \pm 0,01)$ % і $(5,79 \pm 0,02)$ %; у листках – $(5,82 \pm 0,1)$ % і $(4,90 \pm 0,11)$ %; суми гідроксикоричних кислот (у квітках – $(6,52 \pm 0,07)$ % і $(8,30 \pm 0,04)$ %; у листках – $(9,08 \pm 0,01)$ % і $(7,61 \pm 0,01)$ %; суми флавоноїдів (у квітках – $(4,29 \pm 0,01)$ % і $(5,58 \pm 0,01)$ %; у листках – $(3,30 \pm 0,01)$ % і $(3,34 \pm 0,03)$ %; танінів (у квітках – $(1,23 \pm 0,03)$ % і $(1,63 \pm 0,05)$ %; у листках – $(3,23 \pm 0,01)$ % і $(1,29 \pm 0,09)$ %; поліфенолів (у квітках – $(11,02 \pm 0,02)$ % і $(11,37 \pm 0,04)$ %; у листках – $(7,19 \pm 0,02)$ % і $(5,79 \pm 0,09)$ % відповідно). Методом ВЕРХ виявлено і встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст індивідуальних сполук фенольної природи – компонентів дубильних речовин у хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* листках та квітках (галокатехін, епігалокатехін, катехін, епікатехін, епікатехін галат) та вільна галова кислота; флавоноїдів (апигенін, лютеолін та кемпферол, рутин, ізокверцитрин); гідроксикоричних кислот у листках (хлорогенова, кофейна, *p*-кумарова, ферулова, розмаринова), у квітках (хлорогенова, ферулова та розмаринова). У хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль листках та квітках визначено компоненти дубильних речовин (галокатехін, епігалокатехін, катехін, епікатехін) та вільну галову кислоту; флавоноїди (кверцетин, лютеолін, рутин, ізокверцитрин, апигенін, неогесперидин); гідроксикоричні кислоти (кофейна, транс-ферулова, сирінгова, синапові, хінна).

5. Методом ГХ/МС встановлено якісний склад та визначено кількісний вміст летких сполук сировини досліджуваних сортів хризантеми садової багаторічної. У результаті дослідження у квітках хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль ідентифіковано 26 компонентів летких сполук, у листках – 27. Загальний вміст летких компонентів становив 1290,9 мг/кг і 2688,2 мг/кг у квітках і листках відповідно. Загальними компонентами для двох об'єктів хризантеми садової сорту Пектораль є 1,8-цинеол, борнілацетат, фітон, β -каріофілен, каріофіленоксид, бензиловий спирт, *n*-тридекан. У хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo* квітках ідентифіковано 49 компонентів летких сполук, у листках – 24. Загальний вміст ідентифікованих летких компонентів становив 2363,6 мг/кг і 2338,9 мг/кг у квітках і листках відповідно. Загальними компонентами для двох об'єктів хризантеми садової сорту *Belgo* є неролідол, цис-пара-мен-2-ен-1-ол, транс-пара-мен-2-ен-1-ол, піперитол, дегідросабінакетон, каріофіленоксид, β -каріофілен, епі- α -кадінол, спатуленол, тимол, сквален і декан. У сировині досліджуваних сортів хризантеми садової багаторічної виявлено 11 макро- та мікроелементів. З макроелементів у листках та квітках обох досліджуваних сортів ідентифіковано К, Са, Mg, Na, з мікроелементів – Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Co, Cd.

6. Досліджено морфолого-анатомічні особливості будови хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* і Пектораль листків і квіток, визначено основні діагностичні ознаки морфологічної та анатомічної будови, що використано для ідентифікації та стандартизації даних видів рослинної сировини. Розроблено проекти МКЯ на нову лікарську рослинну сировину «Хризантеми садової багаторічної листки» та «Хризантеми садової багаторічної квітки».

7. Визначено оптимальні умови одержання сухого екстракту з листків та з квіток хризантеми багаторічної сорту Пектораль, визначено кількісний вміст основних груп БАР. Розроблено проекти МКЯ на одержані субстанції «Хризантеми садової багаторічної листків екстракт сухий» та «Хризантеми садової багаторічної квіток екстракт сухий».

8. Проведено фармакологічні дослідження та визначено гостру токсичність сухих екстрактів з хризантеми садової багаторічної листків та з квіток, встановлено наявність протизапальних, седативних та антимікробних властивостей. Середньо-летальна доза досліджуваних екстрактів лежить за межами IV класу токсичності (5000 мг/кг < ЛД₅₀). Встановлено, що досліджувані екстракти з хризантеми садової багаторічної листків і квіток проявляють помірну протизапальну активність протягом дослідження, яка становила 24 % та 16 % відповідно, та помірну седативну дію, яка м'яко впливала на всі показники функціонального стану ЦНС у щурів.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Дослідження фенольних сполук хризантеми багаторічної (*Chrysanthemum Hortorum* Bailey) / С. М. Марчишин, О. Л. Демидяк, О. В. Полонець, М. С. Гарник. *Медична та клінічна хімія*. 2016. Т. 18, № 2. С. 48-53 (Особистий внесок – проведення досліджень, участь в обробці результатів та написанні статті).

2. GS/MS analysis of fatty acids in flowers and leaves of *Chrysanthemum × hortorum* Bailey *Belgo* and *Pectoral'* variant / S. Marchyshyn, O. Polonets, O. Zarichanska, M. Garnyk *The Pharma Innovation International Journal*. 2017. Vol. 6, Issue 11, Part G. P 463-466 (*Особистий внесок – проведення досліджень, участь в обробці результатів та написанні статті*).

3. Елементний склад квіток та листків хризантеми садової багаторічної (*Chrysantemum × hortorum* Bailey) / С. М. Марчишин, О. В. Полонець, М. С. Гарник, О. Л. Демидяк. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. № 5 (52). С. 46-49 (*Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті*).

4. Морфолого-анатомічні ознаки листків хризантеми багаторічної садової сортів *Belgo* і *Пектораль* / О. В. Полонець, С. М. Марчишин, Л. М. Сіра, О. Л. Демидяк. *Фармацевтичний часопис*. 2018. № 2. С. 17-22 (*Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті*).

5. Леткі сполуки хризантем садової багаторічної (*Chrysantemum × hortorum* Bailey) сорту *Пектораль* / С. М. Марчишин, О. В. Полонець, М. С. Гарник, О. В. Зарічанська. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 3. С. 38-42 (*Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті*).

6. Study of the morphological and anatomic signs of the flowers of the *Chrysanthemum hortorum* Dailey sort *Pectoral* (pharmacognostic analysis) / S. Marchyshyn, O. Polonets, M. Harnyk, L. Sira. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2020. № 4 (26). P. 47-53 (*Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті*).

7. Исследование острой токсичности экстрактов из цветов и листьев хризантемы садовой многолетней (*Chrysanthemum × hortorum* Bailey) / Т. К. Юдкевич, С. А. Гращенкова, И. А. Лебединец, О. В. Полонец, С. М. Марчишин. *Вестник фармации*. № 3 (89). 2020. С. 76-80 (*Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті*).

8. Determination of Carbohydrates of *Chrysanthemum morifolium* L. Leaves and Flowers by GS/MS. / S. Marchyshyn, O. Polonets, A. Savych, S. Nakonechna. *Pharmakeftiki*. 2020. № 32. P. 202-212 (*Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті*).

9. Досвід використання декоративних рослин у медичній практиці (огляд літератури) / С. М. Марчишин, М. С. Гарник, О. В. Полонець, Х. Ю. Амбок. *Перспективні напрямки наукових досліджень лікарських та ефіроолійних культур*: матеріали IV Всеукр. науково-практ. конф. молодих вчених (Березоточа, 25 березня 2020 року) ДСЛР ІАП НААН. Лубни: комунальне вид-во «Лубни», 2020. С. 219-224 (*Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті*).

10. Луканюк М. Н., Духніч М. Р., Полонець О. В. Дослідження біологічно активних речовин у квітках та листках хризантеми садової багаторічної сорту *Belgo*. XIX Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених присвячений пам'яті ректора, члена-кореспондента НАМН України, професора Леоніда Якимовича Ковальчука: матеріали XIX конгр., м. Тернопіль, 27-29 квітня

2015 р. Т., 2015. С. 267-268 (*Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, аналізі результатів і написанні тез*).

11. Marchyshyn S., Demydiak O., Polonets O. Tannins of perennial garden chrisantemum. *Plant – the source of research material*. Lublin. 21-23.10.2015. Lublin, 2015. P. 154 (*Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, аналізі результатів і написанні тез*).

12. Marchyshyn S. Investigation of essential oils of decorative herbs / S. Marchyshyn, O. Demydiak, H. Kozyr, T. Berdei, I. Dakhym, O. Polonets. *Natural volatiles & essential oils: 46-th international symposium on essential oils*, 13-16 September, 2015. 2015. Vol. 2, issue 3. P. 104 (*Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, аналізі результатів і написанні тез*).

13. Полонець О. В., Демидяк, О. Л., Гарник М. С. Вміст дубильних речовин у квітках та листках різних сортів хризантеми садової (*Chrysanthemum L.*). *Хімія природних сполук: матеріали IV Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародною участю*, 21-22 квітня. 2016 р. Т., 2016. С. 46-47 (*Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, аналізі результатів і написанні тез*).

14. Визначення вмісту вільних органічних кислот у квітках та листках різних сортів хризантеми садової багаторічної (*Chrysanthemum L.*) / С. М. Марчишин, О. В. Полонець, М. С. Гарник, О. Л. Демидяк. *Фармація XXI століття : тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, 13-16 вересня, 2016 р. : у 2 т. Т. 1. Х., 2016.

15. Марчишин С. М., Полонець О. В. Амінокислотний склад хризантеми садової багаторічної сорту «Пектораль». *XIV З'їзд українського ботанічного товариства: матеріали XIV з'їзду українського ботанічного товариства*, 25-26 квітня 2017 р. К., 2017. С. 196 (*Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, аналізі результатів і написанні тез*).

16. Дослідження ліпофільної фракції хризантеми садової багаторічної (*Chrysanthemum × hortorum Bailey*) / О. В. Полонець, М. С. Гарник, О. Л. Демидяк, В. В. Юрків. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали I Міжнародної науково-практичної інтернет-конф., 5 квітня 2018 р., м. Харків. Х., 2018. С. 106-108 (*Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, аналізі результатів і написанні тез*).

17. Дослідження сортів хризантеми садової у якості перспективної лікарської рослинної сировини / О. В. Полонець, Л. М. Сіра, С. М. Марчишин, О. Л. Демидяк. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій: тези доповідей Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича* (12-13 квітня 2018 р.). Х., 2018. С. 284-285 (*Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, аналізі результатів і написанні тез*).

18. Полонець О. В., Демидяк О. Л., Гарник М. С. Дослідження жирних кислот екстракту хризантеми садової багаторічної (*Chrysanthemum × hortorum Bailey*) сорту Пектораль. *Хімія природних сполук: матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародною участю*, 30-31 квітня 2019 р. Т., 2019. С. 53-54

(Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, аналізі результатів і написанні тез).

19. Дослідження деяких параметрів хризантеми листя та квітів для створення нової лікарської субстанції / Г. П. Козир, О. В. Полонець, Ю. Кравченко, Ю. Каріна. *Хімія природних сполук: матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародною участю, 30-31 квітня. 2019 р. Т., 2019. С. 130-131 (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, аналізі результатів і написанні тез).*

20. Кравченко Ю., Полонець О., Козир Г. Визначення основних параметрів хризантеми листя для створення нової лікарської субстанції. *XXIII Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених: матеріали XXIII Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених, 15-17 квітня 2019 р. Т., 2019. С. 223 (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, аналізі результатів і написанні тез).*

21. Полонець О. В., Марчишин С. М., Гарник М. С. Порівняльний аналіз якісного складу та кількісного вмісту біологічно активних речовин у деяких сортах хризантеми садової багаторічної. *PLANTA+. Досягнення та перспективи: матеріали Міжнар. науково-практ. конф., присвяченої пам'яті доктора хімічних наук, проф. Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження), 20-21 лютого 2020 р. К., 2020. С. 127-129 (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, аналізі результатів і написанні тез).*

22. Вивчення впливу екстрактів з листя та квітів хризантеми на функціональний стан ЦНС щурів / Т. К. Юдкевич, С. А. Гращенкова, І. О. Лебединець, О. В. Полонець *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження : матеріали II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 11 березня 2020 р. Х., 2020. С.199 (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, аналізі результатів і написанні тез).*

23. Вивчення протизапальної дії екстрактів з квіток та листя хризантеми на моделі карагенінового набряку у щурів / С. А. Гращенкова, Т. К. Юдкевич, І. О. Лебединець, О. В. Полонець. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів : матеріали IV Міжнар. наук.-практ. конф., 12-13 березня 2020 року : у 2-х т. Х., 2020. Т. 2. 696 с. (Серія «Наука»). С. 195 (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, аналізі результатів і написанні тез).*

АНОТАЦІЯ

Полонець О. В. Фармакогностичне дослідження хризантеми садової багаторічної (*Chrysanthemum hortorum* Bailey). – 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, 2021.

Уперше проведено комплексне порівняльне фармакогностичне дослідження хризантеми садової багаторічної (*Chrysanthemum × hortorum* Bailey) сортів *Belgo* та Пектораль листків і квіток. У досліджуваній сировині встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст вуглеводів, амінокислот, органічних та аскорбінової кислот, ліпофільних сполук (жирних кислот), фенольних речовин (гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, танінів і поліфенолів), летких сполук, макро- і мікроелементів.

Уперше проведено системне порівняльне морфолого-анатомічне дослідження хризантеми садової багаторічної сортів *Belgo* та Пектораль листків і квіток, встановлено їх спільні та відмінні макро- і мікродіагностичні ознаки.

Визначено оптимальні умови технології одержання субстанцій – сухих екстрактів з хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль листків і квіток. Встановлено, що середньолетальна доза досліджуваних екстрактів лежить за межами IV класу токсичності (5000 мг/кг < ЛД₅₀). Визначено наявність протизапальних, седативних та антимікробних властивостей сухих екстрактів хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль листків і квіток.

Розроблено проекти методів контролю якості «Хризантеми садової багаторічної листки», «Хризантеми садової багаторічної квітки», «Хризантеми садової багаторічної листків екстракт сухий» та «Хризантеми садової багаторічної квіток екстракт сухий».

Ключові слова: хризантема садова багаторічна сортів *Belgo* та Пектораль, листки, квітки, фармакогностичне дослідження, морфолого-анатомічне дослідження, екстракт, фармакологічна активність.

АННОТАЦІЯ

Полонец О. В. Фармакогностическое исследование хризантемы садовой многолетней (*Chrysanthemum × hortorum* Bailey). – Квалификационный научный работа 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, 2021.

Впервые проведено комплексное сравнительное фармакогностическое исследование хризантемы садовой многолетней (*Chrysanthemum × hortorum* Bailey) сортов *Belgo* и Пектораль листьев и цветков. В исследуемом сырье установлен качественный состав и определено количественное содержание углеводов, аминокислот, органических и аскорбиновой кислот, липофильных соединений (жирных кислот), фенольных веществ (гидроксикоричных кислот, флавоноидов, танинов и полифенолов), летучих соединений, макро- и микроэлементов.

Впервые проведено системное сравнительное морфолого-анатомическое исследование хризантемы садовой многолетней сортов Belgo и Пектораль листьев и цветков, установлены их общие и отличительные макро- и микродиагностические признаки.

Разработана оптимальная технология получения субстанций – сухих экстрактов из хризантемы садовой многолетней сорта Пектораль листьев и цветков. Установлено, что среднелетальная доза исследуемых экстрактов лежит за пределами IV класса токсичности ($5000 \text{ мг/кг} < \text{ЛД}_{50}$). Определено наличие противовоспалительных, седативных и антимикробных свойств сухих экстрактов хризантемы садовой многолетней сорта Пектораль листьев и цветков.

Разработаны проекты методов контроля качества «Хризантемы садовой многолетней листья», «Хризантемы садовой многолетней цветки», «Хризантемы садовой многолетней листьев экстракт сухой» и «Хризантемы садовой многолетней цветков экстракт сухой».

Ключевые слова: хризантема садовая многолетняя сортов Belgo и Пектораль, листья, цветки, фармакогностическое исследование, морфолого-анатомическое исследование, экстракт, фармакологическая активность.

ANNOTATION

Polonets O. V. Pharmacognostic research of perennial garden chrysanthemums (*Chrysanthemum × hortorum* Bailey). – Qualifying research paper, manuscript copyright.

Thesis for the Candidate Degree in Pharmaceutical Sciences (Philosophy Doctor) specialty 15.00.02 – pharmaceutical chemistry and pharmacognosy. – I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2021.

A comprehensive comparative pharmacognostic study of perennial garden chrysanthemum (*Chrysanthemum × hortorum* Bailey) varieties Belgo and Pectoral of leaves and flowers was carried out for the first time. The qualitative composition and quantitative content of carbohydrates, amino acids, organic and ascorbic acids, lipophilic compounds (fatty acids), phenolic substances were determined. (hydroxycinnamic acids, flavonoids, tannins and polyphenols), volatile compounds, macro- and microelements.

Polysaccharide complexes of perennial garden chrysanthemum varieties Belgo and Pectoral of leaves and flowers were investigated, fractions of water-soluble polysaccharides (WSPS) and pectin substances (PS) were isolated, the quantitative content of which was: WSPS – leaves – $(14.27 \pm 0.25) \%$ and $(19, 24 \pm 0.35) \%$; PS – leaves – $(8.41 \pm 0.33) \%$ and $(6.42 \pm 0.23) \%$; WSPS – flowers – $(14.27 \pm 0.25) \%$ and $(19.24 \pm 0.35) \%$; PS – flowers – $(8.55 \pm 0.31) \%$ and $(7.35 \pm 0.35) \%$, respectively. Free sugars such as mannose, glucose, galactose, fructose, and sucrose were identified by GC/MS in polysaccharide complexes of leaves of both varieties of chrysanthemum. Six free sugars (arabinose, fucose, xylose, mannose, glucose, fructose) and sucrose were identified in the flowers of the Pectoral chrysanthemum variety, and 3 (glucose, galactose, fructose) and sucrose in the Belgo chrysanthemum flowers.

The amino acid composition of perennial garden chrysanthemum varieties Belgo and Pectoral of leaves and flowers has been determined. In chrysanthemum garden perennial variety Pectoral, flowers and leaves were found to contain 15 amino acids in a bound state; in flowers - 11, in leaves - 14 in a free state. Proline is the dominant amino acid found.

The quantitative content of ascorbic and the amount of free organic acids in the leaves and flowers of perennial garden chrysanthemum varieties Belgo and Pectoral was determined: (0.47 ± 0.06) %, and (0.51 ± 0.05) % and (0.32 ± 0.04) % and (0.33 ± 0.02) %; (1.61 ± 0.21) % and (0.93 ± 0.04) % and (1.40 ± 0.12) % and (1.33 ± 0.03) %, respectively. The main organic acids in the leaves of the perennial garden chrysanthemum Belgo are oxalic, benzoic, malic, tartaric, citric; in flowers - oxalic, benzoic, malic, citric acids; in chrysanthemum garden perennial varieties Pectoral leaves - sorrel, apple, salicylic and lemon; in flowers - oxalic, salicylic, malic, citric and succinic organic acids.

The GC/MS method revealed 49 lipophilic components in the raw materials of the studied varieties of perennial garden chrysanthemum, of which 15 were identified. Unsaturated fatty acids prevail in the flowers and leaves of the perennial garden chrysanthemum variety Belgo, and saturated acids prevail in the flowers of the perennial garden chrysanthemum variety Pectoral.

Using the spectrophotometric method, we have determined in perennial garden chrysanthemum varieties Belgo and Pectoral the quantitative content of phenolic compounds: the sum of phenolic compounds (in flowers – (4.42 ± 0.01) % and (5.79 ± 0.02) %, in leaves – (5.82 ± 0.1) % and (4.90 ± 0.11) %, the sum of hydroxycinnamic acids (in flowers – (6.52 ± 0.07) % and (8.30 ± 0.04) %; in leaves – (9.08 ± 0.01) % and (7.61 ± 0.01) %, sum of flavonoids (in flowers – (4.29 ± 0.01) % and (5.58 ± 0.01) %), in leaves – (3.30 ± 0.01) % and (3.34 ± 0.03) %; tannins (in flowers – (1.23 ± 0.03) % and (1.63 ± 0.05) %, in leaves – (3.23 ± 0.01) % and (1.29 ± 0.09) %; polyphenols (in flowers – (11.02 ± 0.02) % and (11.37 ± 0.04) %, in the leaves – (7.19 ± 0.02) % and (5.79 ± 0.09) %, respectively) Individual phenolic compounds were determined in leaves and flowers in chrysanthemums of the garden perennial cultivar Belgo by HPLC method: galocatechin, epigallocatechin, catechin, epicatechin, epicatechin gallate, free gallic acid, apigenin, luteolin, kaempferol, rutin, isoquercitrin, chlorogenic, caffeic, p-coumaric, ferulic, rosmarinic acids. In the chrysanthemum of the perennial garden variety Pectoral, the following are identified in the leaves and flowers: halocatechin, epigallocatechin, catechin, epicatechin, free gallic acid, quercetin, luteolin, rutin, isoquercitrin, apigenin, neohesperidin, caffeic, trans-ferulic, hydrocyanic acid, syringic acid.

The GC/MS method was used to establish the qualitative composition and to determine the quantitative content of volatile compounds of the raw materials of the studied varieties of perennial garden chrysanthemum. As a result of research, 26 volatile compounds were identified in the leaves of the garden perennial variety Pectoral in the flowers of the perennial garden chrysanthemum – 27. 49 components of volatile compounds were identified in the flowers of the garden perennial chrysanthemum Belgo, and 24 in the leaves.

A systematic comparative morphological and anatomical study of perennial garden chrysanthemum varieties Belgo and Pectoral of leaves and flowers was carried out for the first time. Their general and distinctive macro- and microdiagnostical features were

established.

An optimal technology has been developed for obtaining substances - dry extracts from perennial garden chrysanthemum varieties Pectoral of leaves and flowers. It was found that the median lethal dose of the investigated extracts lies outside the limits of class IV toxicity ($5000 \text{ mg/kg} < \text{LD}_{50}$). The presence of anti-inflammatory, sedative and antimicrobial properties of dry extracts of chrysanthemum garden perennial variety Pectoral of leaves and flowers was determined.

The projects of quality control methods have been developed for "Garden perennial chrysanthemum leaves", "Garden perennial chrysanthemums flowers", "Garden perennial chrysanthemums leaves dry extract" and "Garden perennial flower chrysanthemums dry extract".

Key words: perennial garden chrysanthemum varieties Belgo and Pectoral, leaves, flowers, pharmacognostic research, morphological and anatomical research, extract, pharmacological activity.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ААС	– атомно-абсорбційна спектрофотометрія;
БАР	– біологічно активні речовини;
ВЕРХ	– високоефективна рідинна хроматографія;
ВРПС	– водорозчинні полісахариди;
ВООЗ	– Всесвітня організація охорони здоров'я;
ГХ/МС	– газова хромато-мас-спектрометрія;
ДФУ	– Державна Фармакопея України;
ЛЗ	– лікарський засіб;
ЛЗРП	– лікарський засіб рослинного походження;
ЛР	– лікарська рослина;
ЛРС	– лікарська рослинна сировина;
МБД	– медико-біологічні дослідження;
МКЯ	– методи контролю якості;
ННІПФ	– навчально-науковий інститут прикладної фармації;
ПР	– пектинові речовини;
ПХ	– паперова хроматографія;
СЕ	– сухий екстракт;
СЕКХ	– хризантеми садової багаторічної квіток екстракт сухий;
СЕЛХ	– хризантеми садової багаторічної листків екстракт сухий;
ТШХ	– тонкошарова хроматографія;
ХСВК	– хризантеми садової багаторічної сорту <i>Belgo</i> квітки;
ХСВЛ	– хризантеми садової багаторічної сорту <i>Belgo</i> листки;
ХСПК	– хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль квітки;
ХСПЛ	– хризантеми садової багаторічної сорту Пектораль листки;
ЦНС	– центральна нервова система.