

Міністерство охорони здоров'я України  
Запорізький державний медичний університет



ПОСАЦЬКА НАТАЛІЯ МИКОЛАЇВНА

УДК 615.322+582.945

ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВИДІВ РОДУ ВЕРБЕНА

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 фармації Івано-Франківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України

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

**Офіційні опоненти:**

доктор фармацевтичних наук, професор **Одинцова Віра Миколаївна**, Запорізький державний медичний університет, професор кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки;

доктор фармацевтичних наук, професор **Ільїна Тетяна Василівна**, Національний фармацевтичний університет, професор кафедри фармакогнозії.

Захист відбудеться «28» квітня 2021 року о 12 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 17.600.03 при Запорізькому державному медичному університеті (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26).

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

Автореферат розісланий «25» березня 2021 року.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради



С. О. Васюк

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** На сучасному етапі створення нових лікарських препаратів все більше уваги приділяється лікарським препаратам з лікарської рослинної сировини. Широке застосування лікарських рослин та препаратів на їх основі обумовлене наявністю в них різноманітних за хімічним складом і дією біологічно активних речовин, які мають здатність м'яко включатися в метаболізм і викликати мінімальну кількість побічних ефектів.

Серед чисельних лікарських рослин цінним джерелом БАР є рослини роду Вербена (*Verbena* L.) родини Вербенові (*Verbenaceae* J.St.-Hil.). На території України зростає три види вербени: вербена лікарська (*Verbena officinalis* L.), вербена лежача (*Verbena supina* L.), вербена гібридна (*Verbena hybrida* Hort.). Види роду Вербена проявляють широкий спектр фармакологічної активності – антимікробну, протизапальну, гепатопротекторну і гіполіпідемічну. Вербена лікарська є фармакопейною рослиною в Україні та Китаї.

Актуальним є проведення порівняльного фармакогностичного дослідження вербени лікарської, вербени лежачої та вербени гібридної з метою розширення сировинної бази і створення лікарських засобів із протизапальною, гепатопротекторною та гіполіпідемічною активністю.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.** Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри фармації ІФНМУ «Дослідження деяких дикорослих і культивованих лікарських рослин західного регіону України та розробка лікарських засобів на їх основі» (номер державної реєстрації 0110U006205) і «Дослідження культивованих і дикорослих лікарських рослин західного регіону України та розробка технологій їх застосування з лікувальною метою» (номер державної реєстрації 0118U003809). Дисертантом особисто проведено фармакогностичне дослідження видів роду Вербена.

**Мета і завдання дослідження.** Метою роботи було фармакогностичне дослідження видів роду Вербена флори України, обґрунтування можливості створення на їх основі субстанцій різної фармакологічної активності для подальшого розширення номенклатури вітчизняних лікарських засобів.

Для досягнення поставленої мети вирішували наступні завдання:

- здійснити аналіз наукових першоджерел щодо ботанічної характеристики, поширення, хімічного складу, застосування рослин роду Вербена в медицині;
- провести фітохімічне дослідження на наявність основних груп біологічно активних речовин у траві видів вербени;
- встановити кількісний вміст основних груп БАР у сировині видів вербени;
- дослідити мінеральний склад сировини видів роду *Verbena*;
- визначити технологічні параметри трави вербени лікарської, розробити технологічні параметри отримання екстрактів та провести їх стандартизацію;
- дослідити токсичність та визначити фармакологічну активність одержаних екстрактів;
- встановити діагностичні морфолого-анатомічні ознаки видів вербени;

– вивчити сировинні ресурси, встановити можливості культивування вербени лікарської;

– розробити проекти методу контролю якості на вербени лікарської сухий екстракт, інструкції із заготівлі та сушіння вербени лікарської трави.

*Об'єкт дослідження:* комплексне фармакогностичне дослідження вербени лікарської та вербени гібридної трави, вербени лежачої листя, ресурсознавчі дослідження видів роду Вербена.

*Предмет дослідження:* виявлення, ідентифікація і кількісний вміст БАР вербени лікарської та вербени гібридної трави, вербени лежачої листя; макро- та мікроскопічний аналіз сировини; екстракти, визначення параметрів їх стандартизації; індивідуальні БАР, умови зростання рослин.

**Методи дослідження.** Експериментальне дослідження включало такі методи дослідження: макро-, мікроскопічний та органолептичний – для ідентифікації рослин роду Вербена; ресурсознавчі – виявлення масивів заростей вербени лікарської та вербени лежачої, встановлення біологічного та експлуатаційного запасів рослинної сировини, можливого об'єму її щорічної заготівлі; фізико-хімічні методи (ТШХ, ПХ, ВЕРХ, спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій областях спектра, атомно-емісійна спектрофотометрія) – для встановлення хімічної структури та ідентифікації БАР; хімічні – реакції ідентифікації та кількісне визначення вмісту БАР у сировині; фізичні – визначення втрати в масі при висушуванні, загальної золи; фармакологічні дослідження проводили *in vivo* та *in vitro* з використанням стандартних методик – визначення антимікробної, протизапальної, гепатопротекторної та гіполіпідемічної активності екстрактів, токсикологічні – дослідження гострої токсичності. Обробку результатів експериментальних даних проводили за допомогою математично-статистичних методів за вимогами Державної Фармакопеї України.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше проведено фармакогностичне вивчення видів роду Вербена трави – в. лікарської, в. гібридної та листя в. лежачої, заготовлених на території України. Визначено кількісний вміст окиснюваних фенолів, суми поліфенолів, танінів, флавоноїдів, полісахаридів, органічних кислот, в тому числі кислоти аскорбінової, амінокислотний, жирнокислотний та мінеральний склад.

Вперше методом ВЕРХ з іонообмінною колонкою в сировині видів роду Вербена ідентифіковано та кількісно визначено вміст 16 амінокислот, з них моноамінокарбонових 10: аланін, валін, гліцин, ізолейцин, лейцин, метіонін, серин, тирозин, фенілаланін, цистин; моноамінодикарбонових 2: аспаргінову та глутамінову кислоти; діаміномонокарбонові 2: аргінін та лізин; гетероциклічні 2: гістидин та пролін. З визначених 16 амінокислот 7 відносяться до незамінних (лейцин, валін, треонін, лізин, метіонін, ізолейцин, фенілаланін). Встановлено, що домінуючими амінокислотами в сировині видів роду Вербена є глутамінова кислота, аргінін, аспарагінова кислота.

Вперше вивчено жирокислотний склад сировини видів роду Вербена методом газорідинної хроматографії – переважають ненасичені жирні кислоти: (в. лікарська

трава – 68,25 %, в. лежача листя – 82,45 %, в. гібридна трава – 66,64 %) по відношенню до загального вмісту ідентифікованих жирних кислот.

Вперше досліджено мінеральний склад сировини видів роду Вербена. Встановлено закономірності накопичення елементів в видах роду Вербена:  $K > Ca > P > Mg > Si > Na > Al > Mn > B > Fe > Zn > Ba > Cu > Cr$  та  $Se > Co > Sr > Mo > Cd > Be = Ni = I$ . Встановлено, що елементами сильного накопичення є Mg, B та Co, елементами слабого накопичення є Mn, Zn, Fe, Ba, Cu, Cr та Cd.

Методом ВЕРХ у вербени лікарської трави встановлено наявність та визначено кількісний вміст 16 індивідуальних сполук фенольної природи, у тому числі 7 прекурсорів танінів, 6 флавоноїдів, 1 кумарин та 2 гідроксикоричних кислот. У сировині виявлено найбільший вміст епігалокатехіну (0,811 %), галокатехіну (0,294 %), катехіну (0,266 %), а також розмаринової (0,364 %) та елагової кислот (0,192 %).

Вперше ідентифіковано та встановлено вміст 8 компонентів летких сполук та 4 фітостеролів в траві вербени лікарської методом ГХ-МС.

Проведено вивчення токсичності екстрактів вербени лікарської, їх антимікробної, протизапальної, гепатопротекторної та гіполіпідемічної дії. Встановлено, що найбільш виражену гіполіпідемічну, гепатопротекторну та протизапальну активність проявляє сухий екстракт вербени лікарської ВЛТ-7 (екстрагент – 70 % етанол). Новизну досліджень підтверджено патентом України на корисну модель «Спосіб одержання екстракту трави вербени лікарської з гепатопротекторною дією» № 46370 від 25.12.2009 р. та зареєстрованою заявкою на патент на корисну модель «Спосіб одержання екстракту трави *Verbena officinalis* L. з гепатопротекторною активністю» (заявка № u 2021 00568 від 11.02.2021 р.).

Проведено порівняльне макроскопічне дослідження трави вербени лікарської, листя вербени лежачої і трави вербени гібридної та встановлено морфологічні діагностичні ознаки двох останніх. Вперше було проведено мікроскопічне вивчення трави вербени лікарської з використанням скануючої електронної мікроскопії, встановлено ультраструктуру поверхні листя, стебла та пелюсток оцвітини.

Досліджено динаміку накопичення БАР у вербени лікарської трави та вербени лежачої листі в залежності від місця зростання.

Встановлено місця зростання видів вербени, вивчено запаси вербени лікарської та доведено можливість культивування вербени лікарської в умовах Прикарпаття.

**Практичне значення отриманих результатів.** На основі проведених фітохімічних, фармакологічних та ресурсознавчих досліджень доведено можливість використання в. лікарської трави. Встановлено технологічні параметри сировини, оптимальні параметри екстракції БАР та отримано 2 екстракти вербени лікарської трави. Доведено можливість використання екстракту вербени лікарської трави (екстрагент – 70 % етанол) як лікарського засобу з гепатопротекторною та гіполіпідемічною активністю. Розроблено проекти методів контролю якості «Вербени лікарської екстракт сухий» та «Інструкції з заготівлі та сушіння трави вербени лікарської».

За матеріалами видано монографію «Природа лікує... Перспективи

використання рослин роду Вербена у медицині та фармації», яку разом з іншими результатами дослідження впроваджено у навчальний процес та наукову роботу кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету; кафедри фармакогнозії і ботаніки Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця; кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів НМАПО імені П. Л. Шупика; кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету, кафедри фармакогнозії, фармхімії і технології ліків ФПО Запорізького державного медичного університету; кафедри медичної біології, фармакогнозії та ботаніки Дніпропетровської медичної академії Міністерства охорони здоров'я України; кафедри ботаніки Національного фармацевтичного університету; кафедри організації економіки фармації і фармакогнозії Одеського національного медичного університету; кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії Луганського державного медичного університету; кафедри фармації Буковинського державного медичного університету; кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України; кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії Київського медичного університету; кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету (акти впровадження) та практичну роботу випробувального центру державного підприємства «Івано-Франківськстандартметрологія».

**Особистий внесок здобувача.** Наукові дослідження за темою дисертаційної роботи проводилися у співавторстві з науковим керівником – д. фарм. н., проф. Грициком А. Р., основна частина виконана автором особисто.

Здобувачем самостійно проведено інформаційно-патентний пошук і аналіз літературних джерел щодо розповсюдження, хімічного складу та використання видів роду Вербена у народній медицині, виконано порівняльне вивчення хімічного складу видів роду Вербена, виділено та ідентифіковано сполуки, встановлено кількісний вміст окремих груп БАР, встановлено оптимальні параметри одержання екстрактів з трави вербени лікарської та проведено їх стандартизацію, вивчено морфолого-анатомічні особливості будови трави видів вербени, встановлено запаси сировини трави вербени лікарської, розроблено проєкт інструкції із заготівлі та сушіння в. лікарської трави.

Результати експериментальних досліджень самостійно оброблено, проаналізовано та систематизовано, оформлено у вигляді таблиць, рисунків, діаграм, актів впровадження, проєктів МКЯ, фотознімків. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, особистий внесок здобувача полягав у виконанні фітохімічних, фармакологічних, ресурсознавчих досліджень видів роду Вербена.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи викладено та обговорено на XXVII науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів» (Харків, 2010); 80-ій ювілейній науково-практичній конференції студентів і молодих учених за участю міжнародних спеціалістів «Працюємо,

творимо, презентуємо» (Івано-Франківськ, 2011); 81-й науково–практичній конференції студентів і молодих вчених з міжнародною участю «Сучасні проблеми медицини і фармації в наукових розробках студентів і молодих вчених» (Івано-Франківськ, 2012); 83-й та 86-й науково-практичній конференції студентів і молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 2014, 2017); науково-практичній регіональній конференції «Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення на регіональному рівні» (Івано-Франківськ, 2016); VII науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2018); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Бабенківські читання», присвяченій пам'яті академіка Г. О. Бабенка (Івано-Франківськ, 2019).

Апробацію дисертаційної роботи проведено на спільному засіданні професорсько-викладацького складу кафедр Івано-Франківського національного медичного університету і Національного фармацевтичного університету (20 січня 2021 року); Запорізького державного медичного університету (11 лютого 2021 року).

**Публікації.** За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 25 наукових праць, у тому числі 8 статей (з яких 6 – у фахових наукових виданнях України, 2 – в іноземних виданнях), 1 патент України на корисну модель, 14 тез доповідей, 1 монографію.

**Обсяг та структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 244 сторінках машинописного тексту, складається з анотації, вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 6 додатків (16 актів впровадження). Обсяг основного тексту дисертації складає 152 сторінки друкованого тексту. Робота проілюстрована 64 таблицями та 25 рисунками. Список використаних джерел налічує 260 найменування, з них 155 кирилицею та 105 латиницею.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

### Перспективи використання рослин роду Вербена у медицині та фармації (огляд літератури)

Проаналізовано дані наукових першоджерел щодо систематики, ботанічної характеристики та розповсюдження рослин роду Вербена. Наведено хімічний склад, застосування в офіцинальній та народній медицині видів вербени, результати порівняння вимог якості вербени лікарської трави за показниками різних нормативних документів. Застосування вербени трави зумовлено вмістом різних груп БАР, що є передумовою їх поглибленого фармакогностичного вивчення.

### Об'єкти і методи дослідження

У даному розділі наведено об'єкти та методи проведення фармакогностичних, технологічних, фармакологічних та ресурсознавчих досліджень з наведенням відомостей про використані прилади та реактиви. Сировину заготовляли на території Івано-Франківської, Тернопільської та Одеської областей в різні фази

вегетації з урахуванням особливостей заготівлі та бережливого ставлення до флори. Об'єктами для фітохімічних та макро- і мікроскопічних досліджень були в. лікарської трава, в. гібридної трава і листя в. лежачої. Об'єктами фітохімічних та фармакологічних досліджень стали сухі екстракти з вербени лікарської трави, отримані водою очищеною та 70 % етанолом.

### Вивчення хімічного складу та кількісне визначення біологічно активних речовин видів роду Вербена

За допомогою реакцій ідентифікації, одно- та двовимірної ПХ встановлено, що сировина видів роду Вербена містить фенольні сполуки: гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, таніни, кумарини; терпеноїди: іридоїди, тритерпенові сапоніни; карбонові кислоти; вільні моноцукри, ВРПС; амінокислоти; сліди алкалоїдів.

Методом ВЕРХ при  $\lambda = 255$  нм та  $\lambda = 340$  нм визначено 6 флавоноїдів, серед яких домінуючими є рутин (169,14 мг/кг) та лютеолін (159,99 мг/кг) (рис. 1, табл. 1).

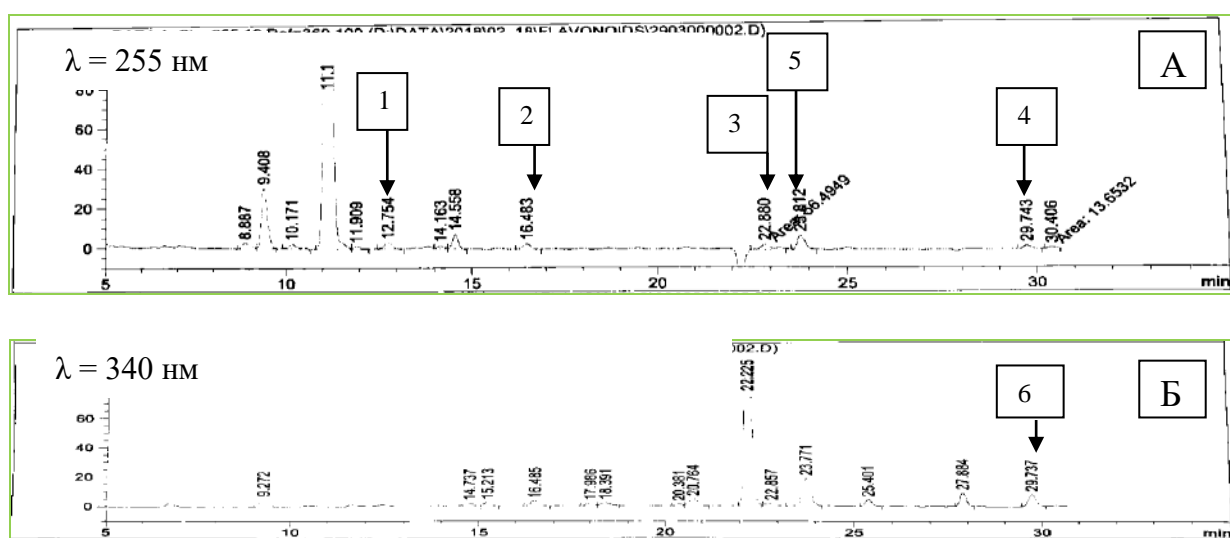


Рис. 1. ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів вербени лікарської трави: А – довжина хвилі 255 нм, Б – довжина хвилі 340 нм: 1 – гіперозид, 2 – рутин, 3 – кверцетин, 4 – кемпферол, 5 – лютеолін, 6 – апігенін

Таблиця 1

### Вміст флавоноїдів у вербени лікарської трави

Назва речовини	Загальна формула	Час утримування, хв	Кількісний вміст	
			мг/кг	% *
Гіперозид (кверцетин-3-О- $\beta$ -галактопіранозид)	$C_{21}H_{20}O_{12}$	12,754	50,51	7,55
Рутин (3-рамноглюкозид кверцетину)	$C_{27}H_{30}O_{16}$	16,483	169,14	25,29
Кверцетин (3,5,7,3',4'-пентагідроксифлавонон)	$C_{15}H_{10}O_7$	22,880	149,25	22,32
Кемпферол (3,5,7,4'-тетрагідроксифлавонон)	$C_{15}H_{10}O_6$	29,743	74,73	11,18
Лютеолін (5,7,3',4'-тетрагідроксифлавонон)	$C_{15}H_{10}O_6$	23,812	159,99	23,92
Апігенін (5,7,4'-тригідроксифлавонон)	$C_{15}H_{10}O_5$	29,737	65,13	9,74

Примітка. \* – по відношенню до загального вмісту ідентифікованих флавоноїдів у сировині



Методом ВЕРХ при  $\lambda = 320$  нм та  $\lambda = 330$  нм у вербени лікарської трави визначено 2 гідроксикоричні кислоти, 1 флавоноїд та 1 кумарин (табл. 2, рис. 2).

Таблиця 2

### Вміст фенольних сполук у вербени лікарської трави

Назва речовини	Загальна формула	Час утримування, хв	Кількісний вміст	
			мг/кг	% *
Розмаринова кислота	$C_{18}H_{16}O_8$	37,709	364,87	82,51
Хлорогенова кислота (5-О-кофеїл-D-хінна кислота)	$C_{16}H_{18}O_9$	39,733	207,19	4,68
Апігенін	$C_{15}H_{10}O_5$	40,715	150,67	6,83
Умбеліферон	$C_9H_6O_3$	46,920	264,44	5,98

Примітка. \* – по відношенню до загального вмісту ідентифікованих фенольних сполук у сировині

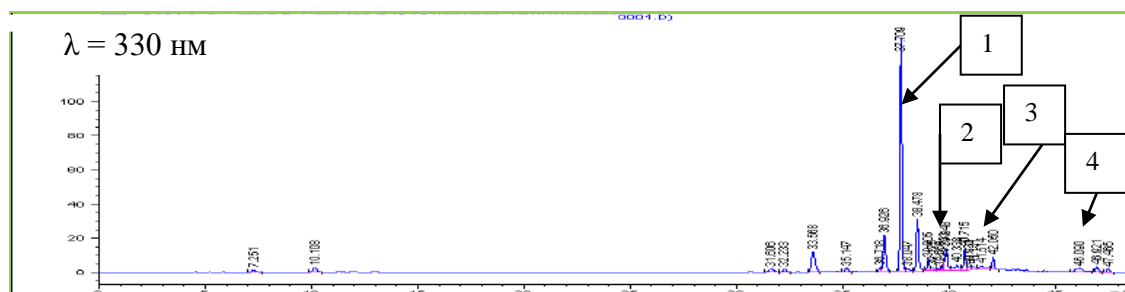


Рис. 2. ВЕРХ-хроматограма компонентів фенольних сполук вербени лікарської трави: 1 – розмаринова кислота, 2 – апігенін, 3 – хлорогенова кислота, 4 – умбеліферон

Дослідження метаболітів танінів проводили методом ВЕРХ при  $\lambda = 280$  нм та  $\lambda = 255$  нм (табл. 3).

Таблиця 3

### Вміст танінів у вербени лікарської трави

Назва речовини	Загальна формула	Час утримування, хв	Кількісний вміст	
			мг/кг	% *
Таніни, що гідролізуються				
Галова кислота	$C_7H_6O_5$	7,621	43,94	2,45
Елагова кислота	$C_{14}H_6O_8$	17,185	192,07	10,74
Конденсовані таніни (похідні флаван-3-олу)				
Галокатехін	$C_{16}H_{28}O_7$	12,650	294,37	16,46
Епігалокатехін	$C_{15}H_{14}O_7$	13,649	811,20	45,37
Катехін	$C_{15}H_{14}O_6$	16,127	266,41	14,92
Епікатехін	$C_{15}H_{14}O_6$	19,078	91,34	5,11
Епікатехіну галат	$C_{22}H_{18}O_{10}$	24,041	88,60	4,95

Примітка. \* – по відношенню до загального вмісту ідентифікованих танінів у сировині

У траві вербени лікарської ідентифіковано 7 сполук, серед яких домінуючими є епігалокатехін (811,20 мг/кг), галокатехін (294,37 мг/кг) та катехін (266,41 мг/кг).

За допомогою амінокислотного аналізатора Т-ААА 339 М (Чехія) в порівнянні зі стандартами амінокислотних гідролізатів відповідно до ДСТУ ISO 13903 : 2005 встановлено амінокислотний склад сировини видів роду Вербена. Результати представлено в рис. 3.

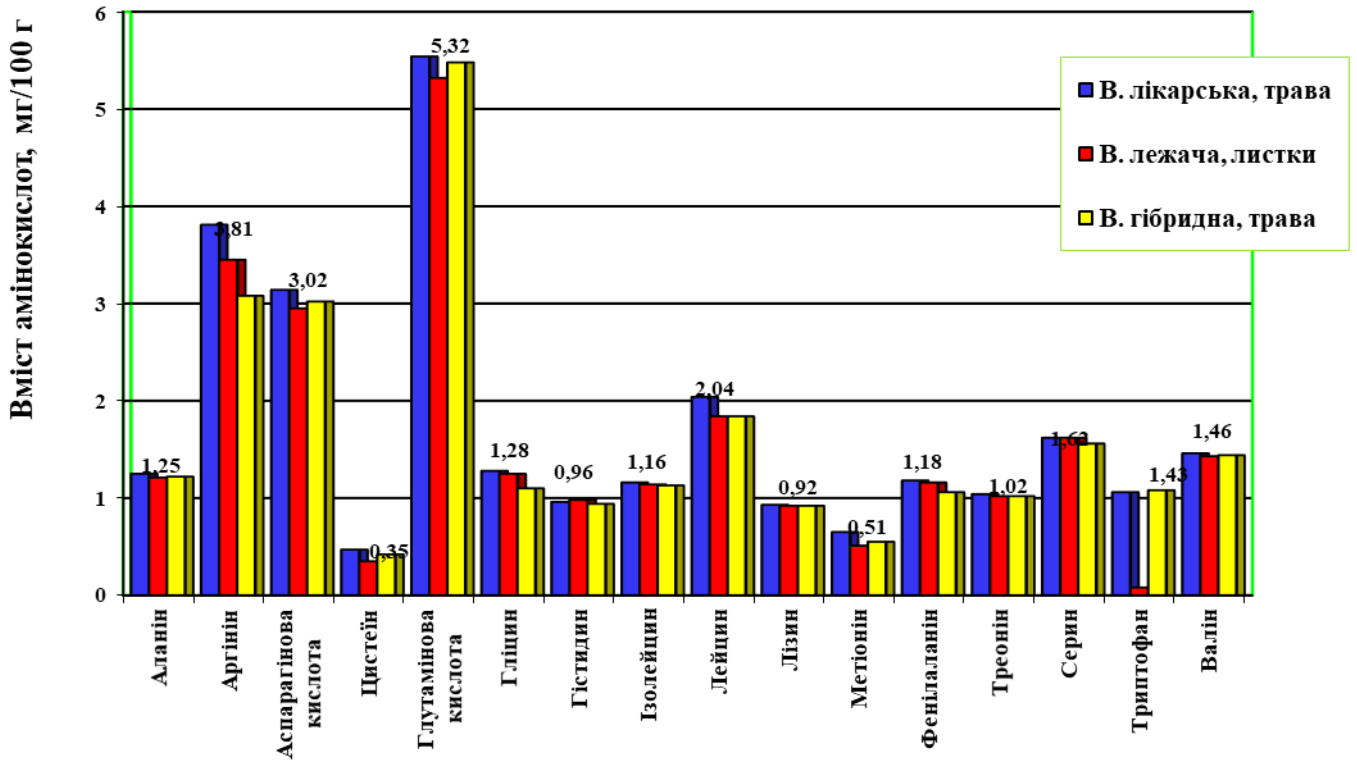


Рис. 3. Вміст амінокислот у сировині видів роду Вербена

Виявлено 16 амінокислот, з яких моноамінокарбоних 10: аланін, валін, гліцин, ізолейцин, лейцин, метіонін, серин, тирозин, фенілаланін, цистин; моноамінодикарбоних 2: аспарагінова та глутамінова кислоти; діаміномонокарбонів 2: аргінін та лізин; гетероциклічні 2: гістидин та пролін. Домінуючими амінокислотами (мг/100 г) були глутамінова кислота: (5,54 – в. лежача), (5,32 – в. лікарська) (5,48 – в. гібридна); аргінін: (3,81 – в. лікарська), (3,45 – в. лежача), (3,08 – в. гібридна); аспарагінова кислота (3,02 – в. лікарська), (2,95 – в. лежача), (3,14 – в. гібридна).

З сировини видів роду Вербена гравіметричним методом виділено та визначено кількісний вміст фракцій водорозчинних полісахаридів – в. лікарська (0,94 %), в. лежача (0,61 %), в. гібридна (0,71 %); пектинових речовин – в. лікарська (0,36 %), в. лежача (0,39 %), в. гібридна (0,34 %); суми геміцелюлоз – в. лікарська (1,3 %), в. лежача (1,09 %), в. гібридна (1,14 %). Методом ПХ у порівнянні з достовірними зразками моноцукрів у гідролізатах ВРПС в. лікарської трави ідентифіковано: глюкозу, арабінозу, рамнозу, фруктозу; листя в. лежачої – глюкозу,

арабінозу, фруктозу; в. гібридної трави – глюкозу, рамнозу, фруктозу. Мономерний склад ПР досліджуваної сировини представлено: в. лікарської – глюкозою, арабінозою, рамнозою; в. лежачої – глюкозою, арабінозою, фруктозою, галактуроновою кислотою; в. гібридної – глюкозою, арабінозою, ксилозою, фруктозою. У гідролізатах фракції ГЦ виявлено: в. лікарська – глюкозу, арабінозу, ксилозу; в. лежача – глюкозу, арабінозу, ксилозу, глюкуронову кислоту; в. гібридна – глюкозу, арабінозу, глюкуронову кислоту.

Визначення жирнокислотного складу в досліджуваних зразках проводили за ДСТУ ISO 5509:2001 «Жири та олії тваринні й рослинні. Приготування метилових ефірів жирних кислот». Жирнокислотний склад зразків в. лікарської, в. лежачої і в. гібридної вивчали методом газо-рідинної хроматографії. Ідентифіковано та встановлено вміст 14 жирних кислот (табл. 4, рис. 4), серед яких 9 насичених та 5 ненасичених.

Таблиця 4

### Жирні кислоти сировини видів роду *Verbena*

Назва кислоти	В. лікарська, трава		В. лежача, листя		В. гібридна, трава	
	час (t) год: хв: с: мс	вміст, % *	час (t) год: хв: с: мс	вміст, % *	час (t) год: хв: с: мс	вміст, % *
Міристинова	3:25,8	0,1626	3:41,8	0,3606	3:38,3	0,8541
Пентадеканова	4:56,8	0,5975	5:13,4	0,5405	5:08,9	1,0614
Пальмітинова	6:06,7	4,5721	6:22,8	8,2076	6:16,8	9,3780
Пальміто-олеїнова	6:44,3	0,1893	6:50,8	0,5756	6:50,5	1,2817
Гептадеканова	9:02,4	0,1402	9:15,0	0,0528	9:18,0	0,1232
Стеаринова	11:07,8	1,8267	11:24,4	2,5117	11:14,0	1,5124
Олеїнова	12:20,4	10,5738	12:34,3	18,3510	12:22,4	13,8321
Лінолева	14:56,90	9,6011	15:09,90	14,7549	14:58,70	9,9860
Ліноленова	19:24,60	25,8636	19:33,70	39,3773	19:02,40	19,9859
Ейкозанова	24:44,20	0,0463	26:55,10	0,2853	-	-
Бегенова	34:47,90	2,2520	34:45,90	0,6805	34:28,70	3,9523
Ерукова	43:12,00	0,2651	38:32,30	0,6250	37:46,00	8,1195
Трикозанова	49:03,60	0,5753	51:25,00	0,2123	49:56,60	0,6155
Лігноцерінова	1:10:27,70	11,4646	1:09:06,30	2,8356	1:08:44,30	9,1399

Примітка. \* – по відношенню до загального вмісту ідентифікованих жирних кислот у сировині

У трьох досліджуваних видах роду *Verbena* за вмістом значно переважають ненасичені жирні кислоти: в. лікарська трава – 68,25 %, в. лежача листя – 82,45 %, в. гібридна трава – 66,64 % по відношенню до загального вмісту ідентифікованих жирних кислот.

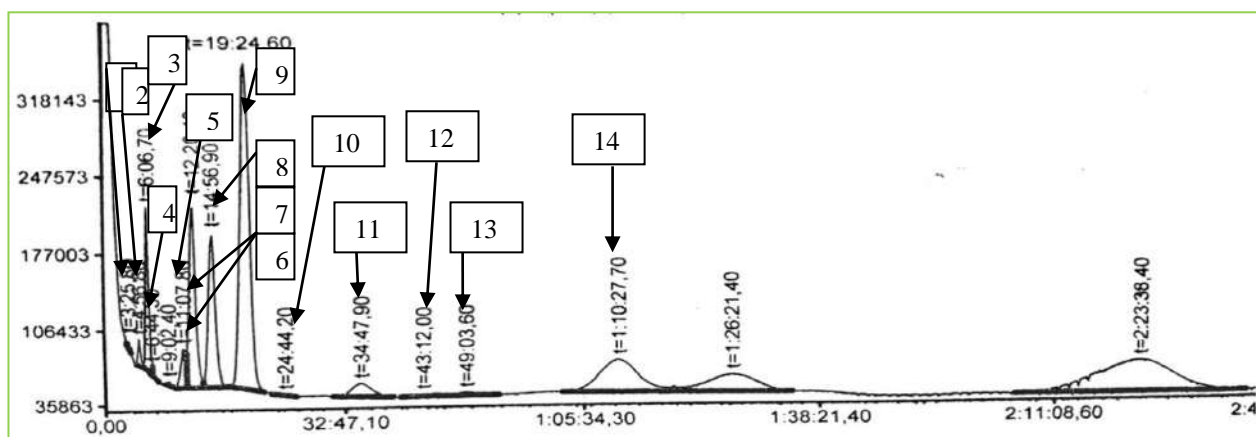


Рис. 4. Хроматограма метилових естерів жирних кислот ГРХ у вербени лікарської трави: 1 – міристинова, 2 – пентадеканова, 3 – пальмітинова, 4 – пальмітоолеїнова, 5 – гептадеканова, 6 – стеаринова, 7 – олеїнова, 8 – лінолева, 9 – ліноленова, 10 – ейкозанова, 11 – бегенова, 12 – ерукова, 13 – трикозанова, 14 – лігноцерінова

Елементний склад сировини видів роду Вербена досліджували в лабораторії ДП «Івано-Франківський науково-виробничий центр стандартизації, метрології та сертифікації» (атестат акредитації № 2Н098 від 20.06.2014) методом атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно-зв'язаною плазмою іСАР 7000 Duo. Накопичення макро- та мікроелементів в досліджуваній сировині видів роду *Verbena* відповідає таким закономірностям  $K > Ca > P > Mg > Si > Na > Al > Mn > B > Fe > Zn > Ba > Cu > Cr$  та  $Se > Co > Sr > Mo > Cd > Be = Ni = I$ . Вміст важких металів знаходиться в дозволених межах (ДФУ 2.0 – 2.4.27). За результатами дослідження мінерального складу ґрунтів із місць заготівлі трави в лікарської та визначення їх КБН у сировині встановлено, що елементами сильного накопичення для в. лікарської трави є Mg, B та Co, оскільки КБН для Mg становив від 14,36 до 20,51 в залежності від місця зростання, для B – від 9,45 до 11,19, а для Co – від 16,55 до 26,92. Слабке накопичення (КБН < 1) відмічається для Mn, Zn, Fe, Ba, Cu, Cr та Cd.

Ідентифікацію та кількісне визначення стероїдних сполук проводили методом ГХ-МС. Трава вербени лікарської вміщує значну кількість  $\gamma$ -ситостеролу (570,43 мг/кг). Вміст летких сполук вербени лікарської визначено методом ГХ-МС. В траві вербени лікарської ідентифіковано 8 компонентів летких сполук. Встановлено, що домінуючими є бензофенон (109,99 мг/кг) та гексагідрофарнезиллацетон (73,09 мг/кг).

Кількісний вміст основних груп БАР у сировині видів вербени, заготовлених у Івано-Франківській, Тернопільській та Одеській областях, встановлено методами абсорбційної спектроскопії на спектрофотометрі СФ Cary-50 (сума поліфенолів, танінів, флавоноїдів) та титруванням (окиснювані феноли, аскорбінова кислота, органічні кислоти). Розрахунок вмісту суми поліфенолів і танінів проводили у перерахунку на пірогалол ( $\lambda = 760$  нм), флавоноїдів – на рутин ( $\lambda = 410$  нм); окиснюваних фенолів – на танін, органічних кислот – на яблучну кислоту, аскорбінової кислоти – на абсолютно суху сировину (табл. 5).

Таблиця 5

## Кількісний вміст основних груп БАР у досліджуваній сировині видів роду Вербена

Вид, сировина	Місце заготівлі		Рік заготівлі	Вміст груп БАР, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 9					
				Сума поліфенолів	Таніни	Флавоноїди	Окиснювані феноли	Аскор-бінова кислота	Органічні кислоти
Вербена лікарська, трава	Івано-Франківська область	Тисменицький р-н	2006	4,63 ± 0,02	1,31 ± 0,02	1,24 ± 0,01	1,21 ± 0,02	0,09 ± 0,003	2,43 ± 0,018
			2011	4,68 ± 0,02	2,28 ± 0,34	1,18 ± 0,02	1,81 ± 0,02	0,03 ± 0,003	2,48 ± 0,011
			2015	4,74 ± 0,02	2,23 ± 0,02	1,22 ± 0,02	1,83 ± 0,01	0,14 ± 0,007	2,44 ± 0,007
		Галицький р-н	2011	4,81 ± 0,02	2,34 ± 0,01	1,29 ± 0,01	1,79 ± 0,01	0,08 ± 0,007	2,54 ± 0,007
			2015	4,83 ± 0,03	2,43 ± 0,01	1,23 ± 0,01	1,91 ± 0,02	0,07 ± 0,007	2,51 ± 0,012
		Коломийський р-н	2006	4,39 ± 0,04	2,51 ± 0,02	1,09 ± 0,01	1,88 ± 0,02	0,12 ± 0,007	2,39 ± 0,266
	2016		4,31 ± 0,03	2,19 ± 0,03	1,11 ± 0,02	1,67 ± 0,02	0,10 ± 0,007	2,41 ± 0,240	
	Тернопільська обл.	Монастирський р-н	2016	4,79 ± 0,02	2,11 ± 0,02	1,19 ± 0,07	1,58 ± 0,02	0,08 ± 0,007	2,49 ± 0,007
Вербена лежача, листя	Одеська область	Овідіопольський р-н	2015	3,31 ± 0,02	2,21 ± 0,02	0,91 ± 0,04	1,37 ± 0,02	0,07 ± 0,007	2,43 ± 0,018
Вербена гібридна, трава	Івано-Франківська область	Тисменицький р-н	2015	2,84 ± 0,06	1,84 ± 0,02	0,84 ± 0,02	1,04 ± 0,01	0,11 ± 0,086	2,48 ± 0,011
			2016	2,91 ± 0,05	1,91 ± 0,02	0,81 ± 0,02	1,06 ± 0,02	0,08 ± 0,038	2,44 ± 0,007

Результати проведених досліджень вказують, що в середньому в лікарської трава відрізняється найбільшим вмістом суми поліфенолів (4,83 %), танінів (2,51 %), флавоноїдів (1,29 %), окиснюваних фенолів (1,91 %). Найменший вміст даних класів БАР встановлено у в. гібридної трави. Вміст суми органічних кислот та кислоти аскорбінової у сировині всіх трьох видів співставний.

Дослідження вмісту токоферолів в зразках видів роду Вербена проводили методом ВЕРХ з фотометричним (в УФ-області) детектуванням. Результати проведеного дослідження свідчать, що в сировині видів роду Вербена переважає вміст  $\gamma$ -токоферолу (76 – 78 мг/100 г).

### **Виділення комплексів біологічно активних речовин вербени лікарської трави та дослідження їх фармакологічної активності**

Досліджено параметри одержання екстрактів з вербени лікарської трави. Умовами виділення БАР з трави є подрібнення сировини до розміру 1,5 – 3,0 мм; екстрагування водою очищеною або 70 % етанолом при температурі 40 °С протягом 120 хв. Оптимальне співвідношення між сировиною та екстрагентами становило 1:10. Повнота виділення БАР досягалася при трикратній екстракції. Одержано сухі екстракти – це пухкі порошки світло- або зеленувато-коричневого кольору. Вихід екстрактів, втрату в масі при висушуванні, вміст окремих груп БАР наведено в табл. 6.

*Таблиця 6*

#### **Показники якості сухих екстрактів трави вербени лікарської**

Умовне позначення екстракту	Екстрагент	Вихід екстракту, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 3	Втрата в масі при висушуванні, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 3	Сума поліфенолів, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 3	Флавоноїди, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 3	Таніни, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 3
ВЛТ-0	вода очищена	23,1 $\pm$ 0,10	3,64 $\pm$ 0,09	10,2 $\pm$ 0,06	2,6 $\pm$ 0,03	4,09 $\pm$ 0,1
ВЛТ-7	70 % етанол	12,4 $\pm$ 0,08	3,49 $\pm$ 0,11	12,4 $\pm$ 0,09	3,4 $\pm$ 0,05	5,98 $\pm$ 0,1

Гостру токсичність та фармакологічну активність екстрактів вербени лікарської досліджували на базі акредитованої лабораторії Центру біоелементології ІФНМУ (атестат акредитації № 054/17 від 27 серпня 2014 р.) та навчально-наукової лабораторії морфологічного аналізу кафедри анатомії ІФНМУ (атестат акредитації № 037/14 від 29 квітня 2019 р.) при консультативній допомозі проф. Ерстенюк Г. М., проф. Клименка А. О., проф. Попадинець О. Г. та доц. Іваночка В. М.

Встановлено, що при внутрішньоплунковому введенні екстрактів вербени лікарської у дозі 5000 мг/кг не призводить до загибелі тварин, а також до морфологічних та функціональних змін в їх організмі, що свідчить про малотоксичність даних екстрактів і дає можливість віднести їх до сполук V класу токсичності за класифікацією К. К. Сидорова – малотоксичні.

Гепатопротекторну активність екстрактів вербени лікарської трави вивчали на скринінговій моделі гострого тетрахлорметанового гепатиту. Проведені дослідження показали, що при розвитку модельного токсичного гепатиту

спостерігалося достовірне, відносно інтактних тварин, підвищення рівня у 7,2 рази АлАТ та у 6,8 рази АсАТ (рис. 4).

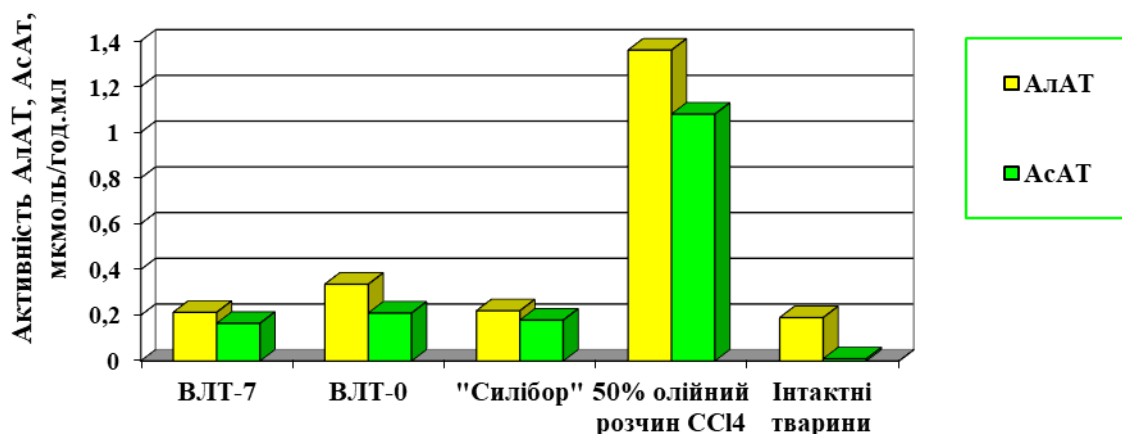


Рис. 4. Вплив екстрактів вербени лікарської трави на функціональні показники стану печінки

Екстракти вербени лікарської ВЛТ-7 і ВЛТ-0 в дозі 2,5 мг/0,1 кг маси тварини та референтний препарат Силібор достовірно, відносно моделі гепатиту, знижували рівень АлАТ та АсАТ. За рівнем інгібування цитолітичних процесів найбільш активними є ВЛТ-7 та Силібор (2,5 мг/0,1 кг), виробник Товариство з обмеженою відповідальністю «Фармацевтична компанія «Здоров'я», 50% олійний розчин ССІ<sub>4</sub> в дозі 0,8 мг/0,1 кг маси тварини (зниження рівня АлАТ у 1,12 та 1,16 рази відповідно; АсАТ у 1,03 та 1,12 рази).

Досліджено вплив екстрактів вербени лікарської трави на рівень фракцій ліпідів у крові піддослідних білих щурів проводили в умовах тритонової моделі атеросклеротичної гіперліпідемії. Для відтворення гіперліпідемії дослідним тваринам одноразово внутрішньочеревинно вводили поверхнево-активну речовину – детергент тритон WR-1339 (Sigma-Aldrich, USA, серія CAS № 25301 – 02 – 4) у дозі 500 мг/кг маси з наступним 24-годинним утриманням тварин без їжі. Вивчено динаміку рівня ліпідів крові при курсовому призначенні екстрактів з *Verbena officinalis* L. Для ВЛТ-0 та ВЛТ-7 рівень загальних ліпідів становив 12,80 г/л та 10,10 г/л; β-ліпопротеїдів – 8,85 г/л та 5,65 г/л; загальних білків – 89,40 г/л та 83,2 г/л; тригліцеридів – 8,32 г/л та 7,50 г/л; загального холестерину – 9,73 мМ/л та 7,00 мМ/л відповідно. Гістологічне дослідження печінки після введення тваринам детергента WR-1339 виявило значні деструктивні зміни паренхіми і строми печінки, що свідчить про наростання декомпенсаційних процесів (рис. 5).

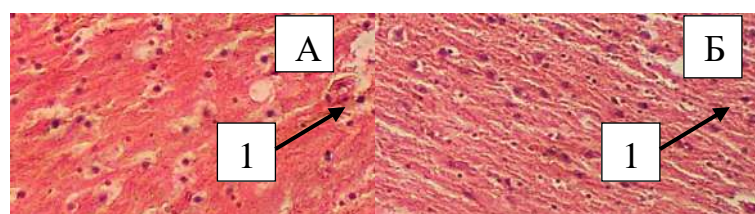


Рис. 5. Поодинокі набрякові зміни (1) в печінковій тканині щура після введення екстракту ВЛТ-7. Заб.: гематоксилін і еозин. Мікрофотографія. Зб.: А ×200; Б ×100

Екстракт трави вербени лікарської ВЛТ-7 виявляє позитивний вплив на печінкову тканину, однак зустрічались поодинокі вогнища деструкції, що дає можливість сказати про значні відновні процеси.

У дослідах *in vitro* методом активної дифузії речовини в агар із застосуванням паперових дисків доведена антимікробна активність екстрактів в. лікарської трави відносно бактерій *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Дослідження протизапальної активності сухих екстрактів проводили на моделях карагенінового та формалінового запалення, що дозволило оцінити вплив екстрактів на активність основного чинника запалення – циклооксигенази. Як референс-препарат використовували диклофенак натрію (ТЗОВ «Харківське фармацевтичне підприємство «Здоров'я народу», 8 мг/кг) (табл. 7).

Таблиця 7

### Антиексудативна активність екстрактів вербени лікарської

Номер групи	Препарат	Показник пригнічення запальної реакції, %		
		через 1 год	через 3 год	через 5 год
на моделі карагенінового набряку				
1	ВЛТ-0	11,2	14,8	29,3
2	ВЛТ-7	12,6	16,1	32,5
3	Диклофенак натрію	21,9	37,7	40,9
на моделі формалінового набряку				
1	ВЛТ-0	10,40	15,90	22,20
2	ВЛТ-7	18,50	26,90	34,50
3	Диклофенак натрію	19,50	28,40	35,10

Встановлено, що найкращу протизапальну активність на моделі формалінового набряку через 1 год проявив екстракт в. лікарської трави ВЛТ-7, який зменшував набряк на 18,5 %. Через 5 год спостерігалось максимальне пригнічення запалення у тварин, яким вводили екстракт ВЛТ-7 (34,5 %).

Перспективною субстанцією для розробки лікарської форми з гепатопротекторною та гіполіпідемічною активністю є екстракт вербени лікарської трави (екстрагент – 70 % етанол), стандартизацію якого проводили за вимогами ДФУ 2.0 (табл. 8).

Таблиця 8

### Показники якості екстракту вербени лікарської трави (екстрагент – 70 % етанол)

Показник якості	Допустимі межі	Результат		
		Серія 001	Серія 002	Серія 003
1	2	3	4	5
Опис	Гігроскопічний порошок коричнево-зеленого кольору з приємним специфічним запахом	відповідає		
Розчинність	Легкорозчинний у 70 % етанолі	«-/-»		
Ідентифікація діючих речовин	ТШХ виявлення арбутину, рутину	«-/-»		
Важкі метали	Не більше 0,002 %	«-/-»		



1	2	3	4	5
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 5,0 %	3,49± 0,09	3,28± 0,12	3,41± 0,15
Загальна зола	Не більше 1,0 %	0,91± 0,01	0,90± 0,02	0,91± 0,01
Мікробіологічна чистота	В 1 г субстанції не більше 100 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій та деяких інших грамнегативних бактерій, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> та <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г	відповідає		
Сума поліфенолів	Не менше 10 %	12,4±0, 09	11,9± 0,12	12,1± 0,05

На основі проведених досліджень запропоновано показники доброякісності сухого екстракту трави вербени лікарської, які включено до проєкту МКЯ «Вербени лікарської екстракт сухий».

### Ресурсознавчі дослідження та розробка проєкту інструкції із заготівлі та сушіння вербени лікарської трави

Для стандартизації сировини та розробки проєкту інструкції із заготівлі та сушіння в. лікарської трави було проведено дослідження морфологічної будови видів роду Вербена (табл. 9).

Таблиця 9

### Відмінні морфологічні ознаки видів роду Вербена флори України

Вид	Діагностичні ознаки		
	Листки	Суцвіття, квітки	Стебло
<i>Verbena hybrida</i> Hort.	Супротивні, яйцевидно-видовжені шорстко-опушені, короткочерешкові, верхні сидячі, нижні при основі серцевидні, надрізанозубчасті або цілокраї	Правильні, від білого до пурповочервоного або темнофіолетового забарвлення різних відтінків, духмяні, суцвіття складні, зонтиковидні 5-6 см у діаметрі по 30-50 квіток	Розгалужене, по гранях шорстко-опушене безколірними волосками, 20-50 см висотою
<i>Verbena officinalis</i> L.	Супротивні, рідко кільчасті чи почергові, видовжено-овальні, темно-зелені, опушені, зубчасті, перисто-надрізані або розсічені, іноді цільні, 2-10 см завдовжки	Сидячі, двостатеві, зрослопелюсткові, неправильні, дрібні, 1,5-2,5 см у діаметрі, довгі колосоподібні суцвіття, 5-ти лопатевий ліycopодібний віночок, блідо-лілового кольору	Чотиригранне прямостояче, волосисте 75-100 см заввишки
<i>Verbena supina</i> L.	Середні двічі перисторозсічені, нижні при основі серцевидні, перистонадрізані, короткочерешкові, верхні сидячі, яйцевидноклиновидні, 2-4 см завдовжки	Колосоподібні, короткі, 2-4 см завдовжки, густі суцвіття блакитних квіток, віночок трохи довший чашечки, зуб-ці чашечки короткі, гострі	Розгалужене, лежаче, чотиригранне, короткочерстисте 10-40 см дожиною

Методом скануючої електронної мікроскопії встановлено діагностичні ознаки сировини в. лікарської: листок амфістоматичний, продихи анізочитні або аномоцитні, рівномірно розміщені на обох поверхнях листової пластинки, дещо вище рівня основних епідермальних клітини. Адаксіальна поверхня листової пластинки колікулярна (рис. 6).

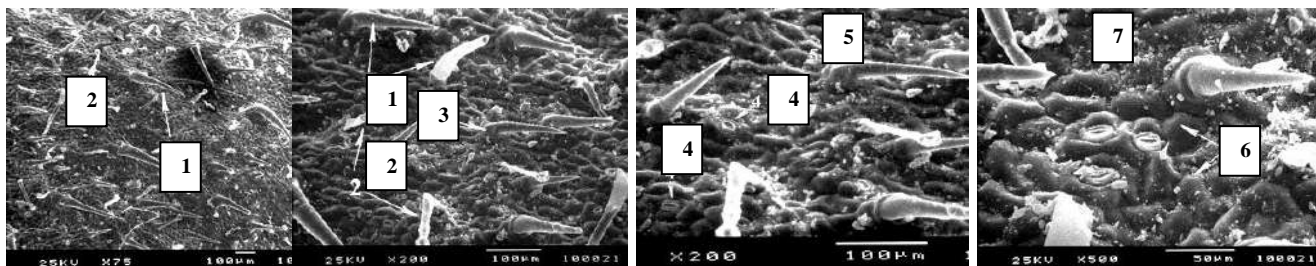


Рис. 6. Ультраструктура адаксіальної епідерми листової пластинки *Verbena officinalis* L. 1 – трихома, 2 – залозистий волосок; 3 – базальна клітина простого волоска; 4 – продихи; 5 – простий волосок, 6 – периклінальні стінки клітин епідерми, 7 – епікутикулярний віск

Проекції та обриси епідермальних клітин варіюють: над мезофілом спостерігаються клітини прозенхімні з прямокутними проекціями та прямими обриси, в області провідних пучків – з витягнутими проекціями та прямими обриси. Абаксіальна поверхня відрізняється від адаксіальної. Вона характеризується щільним опушенням.

На поверхні стебла в. лікарської чітко виділяється дві зони (реберна та міжреберна), які дещо відрізняються за ультраструктурою поверхні. Продихи анізочитні або аномоцитні з чіткими кутикулярними валиками, рівномірно розміщені на одному рівні з клітинами епідерми. Рельєф поверхні стебла злегка колікулярний до гладенького. Епідермальні клітини прозенхімні з прямокутними проекціями та прямими обриси. Антиклінальні стінки клітин епідерми не потовщені, зовнішні периклінальні стінки дещо опуклі. Межі клітин не чіткі. Кутикула добре розвинена. Опушення відсутнє. Епікутикулярний віск, міститься на периклінальних стінках епідермальних клітин. Віск представлений гранулами (рис. 7).

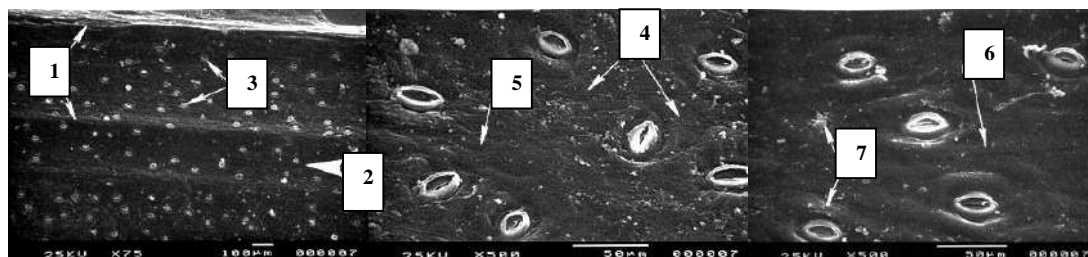


Рис. 7. Ультраструктура поверхні стебла *Verbena officinalis* L.: 1 – реберна зона, 2 – міжреберна зона; 3 – продихи; 4 – кутикула (міжреберна зона); 5 – периклінальні стінки клітин епідерми, 6 – кутикула (реберна зона); 7 – епікутикулярний віск

При дослідженні ультраструктури пелюсток оцвітчини на внутрішній (адаксіальній) поверхні межі клітин не проглядаються. Добре розвинена кутикула зморшкуватого типу. Рельєф поверхні папілярний. Віск відсутній. При розгляді препарату пелюстки квітки вербени лікарської видно суцільну золотисту плівку кутикули, яка вкриває одношарову епідерму. Клітини епідерми видовжені, слабо звивисті, з тангентальними зовнішніми і внутрішніми стінками. Продихи заглиблюються нижче у тканину гіподерми, під ними розташована велика повітряна порожнина (рис. 8).

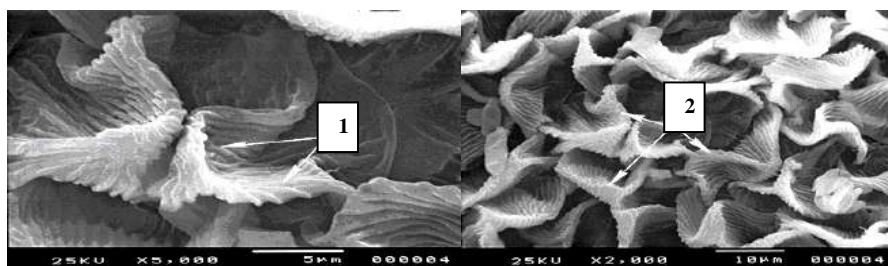


Рис. 8. Ультраструктура поверхні пелюстки оцвітчини *Verbena officinalis* L.: 1 – кутикула; 2 – папіли

У зв'язку з можливістю використання вербени лікарської трави в офіциальній фармації і медицині досліджувалось розповсюдження даного виду на території деяких областей України.

Встановлено, що в різних місцях зростання в Івано-Франківській та Тернопільській областях середня урожайність вербени лікарської становить 15,64 – 35,6 г/м<sup>2</sup> повітряно-сухої сировини (табл. 10).

Таблиця 10

#### Запаси вербени лікарської трави на досліджуваних заростях

Місце зростання*	Урожайність, г/м <sup>2</sup>	Біологічний запас, кг	Експлуатаційний запас, кг	Обсяг можливої щорічної заготівлі, кг
1	23,07	6,921	5,88	0,98
2	15,64	3,128	2,66	0,44
3	25,13	100,520	85,44	14,24
4	35,63	24,941	21,20	3,53

Примітка. \* - опис місць зростання наведено в дисертаційній роботі

Обсяг можливих щорічних заготівель трави на встановлених заростях становить 19,19 кг. Отже, запаси сировини вербени лікарської не достатні для промислової заготівлі.

У зв'язку з недостатньою сировинною базою трави та запровадженням в Україні вимог GACP, актуальним є введення в культуру вербени лікарської. Для розробки умов культивування використовували насіння в. лікарської, заготовлені в Івано-Франківській області у 2018 р. Вивчено насіневий спосіб вирощування вербени гібридної з висіванням стратифікованого насіння в контейнери, що забезпечує збільшення схожості, зменшення травмування кореневої системи під час пересаджування розсади та досліджено можливість культивування в. лікарської в

аналогічних умовах. Оптимальні строки висаджування у відкритий ґрунт – I декада травня. На другий рік вегетації можна отримати сировину вербени лікарської, придатну до заготівлі.

У результаті проведених фенологічних спостережень за рослинами в. лікарської в природньому фітоценозі (с. Залуква Івано-Франківської обл.) та на дослідних ділянках лікарських рослин встановлено оптимальні терміни заготівлі – в період масового цвітіння (червень – серпень).

Проведені дослідження використані при розробці проєкту «Інструкції із заготівлі та сушіння вербени лікарської трави».

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено вирішення наукових завдань, які полягають у фармакогностичному вивченні рослин роду *Вербена*, дослідженні різних груп біологічно активних речовин, одержанні та стандартизації субстанцій з вербени лікарської для створення нових лікарських засобів з гепатопротекторною та гіполіпідемічною активністю.

1. В результаті фітохімічного аналізу у в. лікарської трави, в. лежачої листі та в. гібридної трави виявлено фенольні сполуки: гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, таніни, кумарини; терпеноїди: іридоїди, тритерпенові сапоніни; карбонові кислоти; вільні моноцукри, ВРПС; амінокислоти; сліди алкалоїдів.

2. Встановлено кількісний вміст основних груп БАР суми поліфенолів (4,31 – 4,83 %) у траві в. лікарської, (3,31 %) у листях в. лежачої та (2,84 – 2,91 %) у траві в. гібридної; танінів (2,11 – 2,43 %) у траві в. лікарської, (1,31 %) у листях в. лежачої та (1,84 – 1,91 %) у траві в. гібридної; флавоноїдів (1,09 – 1,29 %) у траві в. лікарської, (0,91 %) у листях в. лежачої та (0,81 – 0,84 %) у траві в. гібридної; окислювальних фенолів (1,37 – 1,91 %) у траві в. лікарської, (1,21 %) у листях в. лежачої та (1,04 – 1,06 %) у траві в. гібридної; аскорбінової (0,03 – 0,14 %) у траві в. лікарської, (0,08 %) у листях в. лежачої та (0,04 – 0,05 %) у траві в. гібридної; органічних кислот (2,39 – 2,54 %) у траві в. лікарської, (2,21 %) у листях в. лежачої та (1,94 – 1,98 %) у траві в. гібридної;  $\alpha$ -токоферолу в траві в. лікарської (11 мг/100 г), листях в. лежачої (10 мг/100 г) та траві в. гібридної (11 мг/100 г);  $\beta$ -токоферолу в траві в. лікарської (13 мг/100 г), листях в. лежачої (12 мг/100 г) та траві в. гібридної (12 мг/100 г);  $\gamma$ -токоферолу в траві в. лікарської (76 мг/100 г), листях в. лежачої (78 мг/100 г) та траві в. гібридної (77 мг/100 г).

3. За допомогою хромато-мас-спектрометрії в сировині видів роду *Вербена*, було ідентифіковано та кількісно визначено вміст 16 амінокислот, з них 10 моноамінокарбонових: аланін, валін, гліцин, ізолейцин, лейцин, метіонін, серин, тирозин, фенілаланін, цистин; 2 моноамінодикарбонових: аспаргінову та глютамінову; 2 діаміномонокарбонові: аргінін та лізин; 2 гетероциклічні: гістидин та пролін. Встановлено, що домінуючими амінокислотами в сировині видів роду *Вербена* є глютамінова та аспарагінова кислоти, аргінін, лейцин, серин та валін.

4. Методом ВЕРХ у траві вербени лікарської ідентифіковано 15 речовин: 6 флавоноїдів (апігенін, лютеолін, кверцетин, гіперозид, рутин, кемпферол), 2 гідроксикоричних кислоти (хлорогенова, розмаринову), 1 кумарин (умбеліферон),

6 метаболітів танінів (галову та елагову кислоти, галокатехін, епігалокатехін, епікатехін, епікатехіну галат).

5. Вивчено жирокислотний склад трави видів роду *Verbena* методом газорідинної хроматографії. Серед ненасичених жирних кислот переважає ліноленова та олеїнова кислоти, а серед насичених – лігноцерінова. Хромато-мас-спектрометричним методом ідентифіковано 8 летких сполук. Домінуючими є бензофенон (109,99 мг/кг) та гексагідрофарнезилацетон (73,09 мг/кг). Ідентифіковано та кількісно визначено стероїдні сполуки (мг/кг): кампестерол (73,61), стигмастерол (56,29),  $\gamma$ -ситостерол (570,43) та андрост-5,15-дієн-3-ол-ацетат (89,65).

6. Вперше досліджено мінеральний склад сировини видів роду *Verbena*. Виявлено 22 елементи. Встановлено закономірності накопичення макро- та мікроелементів у видах роду *Verbena*: K > Ca > P > Mg > Si > Na > Al > Mn > V > Fe > Zn > Ba > Cu > Cr та Se > Co > Sr > Mo > Cd > Be = Ni = I. Визначено елементи сильного та слабого накопичення у в. лікарської трави.

7. Встановлено оптимальні умови одержання екстрактів (ступінь подрібнення сировини, вид екстрагенту, співвідношення між сировиною і екстрагентами, час та кратність екстракції). Вихід екстрактів становив 12,4 – 23,1 % залежно від природи екстрагенту.

8. Встановлено, що екстракти вербени лікарської трави не токсичні, володіють антимікробною, протизапальною, гепатопротекторною та гіполіпідемічною дією.

9. Проведено вивчення морфологічної будови видів роду *Verbena*. Методом скануючої електронної мікроскопії встановлено мікроскопічні діагностичні ознаки сировини вербени лікарської: продихи анізоцитні або аномоцитні з чіткими кутикулярними валиками, рівномірно розміщені на одному рівні з клітинами епідерми; епідермальні клітини прозенхімні з прямокутними проекціями та прямими обрисами; антиклінальні стінки клітин епідерми не потовщені, зовнішні периклінальні стінки дещо опуклі.

10. Встановлено місця зростання вербени лікарської на території Івано-Франківської та Тернопільської областей. Досліджено сировинні запаси та визначено можливість культивування вербени лікарської. Встановлено оптимальні параметри заготівлі та сушіння сировини вербени лікарської, що було використано при розробці проєкту «Інструкції з заготівлі та сушіння трави вербени лікарської».

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Грицик А. Р., Гузьо Н. М., Посацька Н. М. Пошук лікарських рослин, які застосовуються для лікування захворювань гепатобіліарної системи. *Фітотерапія. Часопис*. 2007. № 2. С. 47 – 51. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, виконання експериментальної частини дослідження, оформлення статті до друку).

2. Грицик А. Р., Клименко А. О., Посацька Н. М. Дослідження гепатопротекторної дії екстрактів вербени лікарської при гострому ураженні тетрахлорметаном. *Український вісник психоневрології*. 2013. Т. 21, вип. 2 (75), додаток. С. 89 – 91. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини з

дослідження гепатопротекторної активності екстрактів вербени лікарської, узагальнення отриманих даних, оформлення статті до друку).

3. Грицик А. Р., Клименко А. О., Посацька Н. М. Одержання і дослідження властивостей екстрактів вербени лікарської. *Фармацевтичний часопис*. 2016. № 3 (39). С. 39 – 45. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини з дослідження екстрактів вербени лікарської, узагальнення отриманих даних, оформлення статті до друку).

4. Грицик А. Р., Посацька Н. М. Перспективи використання рослин роду Вербена в медицині та фармації. *Фармаком. Науково-практичний журнал*. 2016. № 3. С. 124 – 129. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, виконання експериментальної частини дослідження, оформлення статті до друку).

5. Грицик А. Р., Посацька Н. М. Доказова фармація: ідентифікація та кількісне визначення фенольних сполук трави *Verbena officinalis* L. *Фармаком. Науково-практичний журнал*. 2018. № 3. С. 60 – 63. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, виконання експериментальної частини дослідження, оформлення статті до друку).

6. Дослідження гіполіпідемічної дії при курсовому призначенні екстрактів трави *Verbena officinalis* L. / Н. М. Посацька, А. Р. Грицик, О. А. Струк, В. М. Іваночко, А. О. Клименко. *Фармацевтичний часопис*. 2019. № 4. С. 69 – 77. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини з дослідження екстрактів вербени лікарської, узагальнення отриманих даних, оформлення статті до друку).

7. Study of anti-inflammatory activity of *Verbena officinalis* L. extracts on the models of carrageenin and formalin edemas / N. M. Posatska, A. R. Grytskyk, O. A. Struk, V. M. Ivanochko, A. O. Klymenko. *The Pharma Innovation Journal*. India. 2019. Vol. 8, № 11. P. 141 – 144. (Особистий внесок – збір матеріалу, його аналіз, оформлення статті до друку).

8. Macroscopic and microscopic morphological features of *Verbena* L. species / Grytskyk A., Posatska N., Svirskaya S. *Sciences of Europe* (Praha, Czech Republic) 2020. Vol. 1, № 60. P. 35 – 40. (Особистий внесок – збір матеріалу, його аналіз, оформлення статті до друку).

9. Пат. на корисну модель 46370 Україна. Спосіб одержання екстракту трави вербени лікарської з гепатопротекторною дією. А. Р. Грицик, А. О. Клименко, Н. М. Посацька. № u 200902291; заявл. 16.03.09; опубл. 25.12.09, Бюл. № 24 (Особистий внесок – здійснення патентного пошуку, проведення експериментальних досліджень, оформлення патенту).

10. Природа лікує... Поширення та перспективи використання рослин роду Вербена в медицині та фармації: [монографія]. Н. М. Посацька, А. Р. Грицик. Івано-Франківськ, 2017. 55 с. (Особистий внесок – збір матеріалу, його аналіз, оформлення до друку).

11. Посацька Н. М. Перспективи використання вербени лікарської в медицині і фармації. 75-а міжвуз. наук. – практич. конф. молодих вчених та студентів, 19–21 квіт. 2006 р. Івано-Франківськ, 2006. С. 35.

12. Посацька Н. М. Виділення та дослідження іридоїдів вербени лікарської. 75-а міжвуз. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, 19 – 21 квіт. 2006 р. Івано-Франківськ, 2006. С. 36.

13. Види роду гравілат та вербена – перспективні джерела антимікробних засобів / Н. М. Посацька, Н. І. Тучак, Л. М. Грицик, А. Р. Грицик. *Сучасні проблеми біології, екології та хімії*: міжнар. конф., 29 берез. – 01 квіт. 2007 р. Запоріжжя. 2007. С. 363 – 365. (Особистий внесок – збір та аналіз матеріалу, виконання експериментальної частини, оформлення статті до друку).

14. Посацька Н. М. Дослідження вмісту аскорбінової кислоти у траві *Verbena officinalis*. *Працюємо, творимо, презентуємо* : 76-а міжвуз. наук. – практ. конф. студентів та молодих вчених з міжнар. участю, 26 – 27 квіт. 2007 р. Івано-Франківськ, 2007. С. 199.

15. Посацька Н. М. Фітохімічне дослідження вербени лікарської. *Працюємо, творимо, презентуємо*: 77-а міжвуз. наук. – практ. конф. молодих вчених та студентів, 09 – 11 квіт. 2008 р. Івано-Франківськ, 2008. С. 168 – 169.

16. Грицик А. Р., Федяк І. О., Посацька Н. М. Пошук і перспективи дослідження рослин з гепатопротекторною та жовчогінною діями. *Фармакоэкономика в Украине: состояние и перспективы развития* : мат. науч. – практ. конф., 30 мая 2008 г. Х., 2008. С. 149 – 150. (Особистий внесок – збір матеріалу, виконання експериментальної частини, оформлення тез до друку).

17. Безпека застосування лікарських препаратів на основі рослинної сировини / Н. М. Посацька, Н. І. Тучак, А. Р. Грицик, Т. Г. Стасів, Л. М. Грицик. *Безопасность лекарств: от разработки до медицинского применения* : мат. II науч. – практ. конф. 03 – 04 дек. 2009 г. К., 2009. С. 89. (Особистий внесок – збір матеріалу, його аналіз, оформлення тез до друку).

18. Посацька Н. М., Грицик А. Р., Бензель Л. В. Дослідження екстрактів трави вербени лікарської. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : мат. III наук. – практ. конф., 01 – 02 жовт. 2009 р. Тернопіль, 2009. С. 30. (Особистий внесок – збір матеріалу, виконання експериментальної частини, оформлення тез до друку).

19. Дослідження фармакологічної активності рослинних екстрактів / А. Р. Грицик, Н. І. Тучак, Л. М. Грицик, Н. М. Посацька, В. А. Сологуб, С. П. Колісник, Г. І. Мельник. *Ліки - людині. Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів*: мат. XXVII наук.-практ. конф., з міжнар. участю, 4 лют. 2010 р. Х., 2010. С. 238 – 245. (Особистий внесок – збір матеріалу, його аналіз, оформлення статті до друку).

20. Посацька-Денис Н. М. Дослідження екстрактів вербени лікарської. *Працюємо, творимо, презентуємо* : 80-а ювілейна наук. – практ. конф. студентів і молодих учених з міжнар. участю, 07 – 08 квіт. 2011 р. Івано-Франківськ, 2011. С. 238 – 239.

21. Посацька Н. М., Грицик А. Р. Дослідження антимікробної активності екстрактів трави вербени лікарської. *Український науково-медичний молодіжний журнал. Науково-практичне видання* : мат. наук. форумів, присвячені 170-річчю кафедри фармакології та клінічної фармакології НМУ ім. О. О. Богомольця, 25 – 26 трав. 2011 р. К., 2011. С. 84 – 85. (Особистий внесок – виконання

експериментальної частини з дослідження антимікробної активності екстрактів трави вербени лікарської, оформлення тез до друку).

22. Посацька-Денис Н. М. Ідентифікація біологічно активних речовин вербени лікарської. *Сучасні проблеми медицини і фармації в наукових розробках студентів і молодих вчених* : мат. 81-а наук. – практ. конф. студентів і молодих вчених з міжнар. участю, 29 – 30 берез. 2012 р. Івано-Франківськ, 2012. С. 204.

23. Посацька Н. М. Дослідження амінокислотного складу трави вербени. *Інновації в медицині* : 83-тя наук. – практ. конф. студентів і молодих вчених із міжнар. участю, 27 – 28 берез. 2014 р. Івано-Франківськ, 2014. С. 236 – 237.

24. Посацька Н. М., Грицик А. Р. Еколого-фітоценотичні умови зростання видів роду *Verbena*. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : мат. VII наук. – практ. конф. з міжнар. участю, 27 – 28 верес. 2018 р. Тернопіль, 2018. С. 20 – 21. (Особистий внесок – збір матеріалу, його аналіз, оформлення тез до друку).

25. Посацька Н. М., Струк О. А., Грицик А. Р., Стасів Т. Г. Макро- та мікроелементний склад видів роду *Verbena*. «Бабенківські читання» присвячена пам'яті академіка Г.О. Бабенка : мат. наук. – практ. конф. з міжнар. участю, 24 – 25 жовт. 2019 р. Івано-Франківськ, 2019. С. 90. (Особистий внесок – збір матеріалу, його аналіз, оформлення тез до друку).

## АНОТАЦІЯ

**Посацька Н. М. Фармакогностичне дослідження видів роду *Verbena* – 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). – Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2021.

Дисертаційну роботу присвячено фармакогностичному дослідженню видів роду *Verbena*, а саме: вербени лікарської (*Verbena officinalis* L.), вербени лежачої (*Verbena supina* L.) та вербени гібридної (*Verbena hybrida* Hort.). За допомогою сучасних методів аналізу у досліджуваній сировині встановлено якісний склад та кількісний вміст основних груп БАР: поліфенолів, танінів, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, амінокислот, полісахаридів, макро- та мікроелементів та жирних кислот. Розроблено оптимальні параметри екстракції БАР з вербени лікарської трави та отримано сухі екстракти. Досліджено гостру токсичність, протизапальну, антибактеріальну, гепатопротекторну та гіполіпідемічну активність одержаних екстрактів. Досліджено сировинні запаси та визначено можливість інтродукції вербени лікарської для забезпечення сировинної бази; розроблено проекти МКЯ «Вербени лікарської екстракт сухий» та «Інструкції із заготівлі та сушіння вербени лікарської трави».

**Ключові слова:** вербена лікарська, вербена лежача, вербена гібридна, біологічно активні речовини, фармакологічна дія.



## АННОТАЦИЯ

### **Посацкая Н. Н. Фармакогностическое исследование видов рода Вербена – 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). – Запорожский государственный медицинский университет МЗ Украины, Запорожье, 2021.

Диссертационная работа посвящена фармакогностическому исследованию видов рода Вербена, а именно: вербены лекарственной (*Verbena officinalis* L.), вербены лежащей (*Verbena supina* L.) и вербены гибридной (*Verbena hybrida* Hort.). С помощью современных методов анализа в исследуемом сырье установлены качественный состав и количественное содержание основных групп БАВ: полифенолов, танинов, флавоноидов, гидроксикоричных кислот, аминокислот, полисахаридов, макро- и микроэлементов и жирных кислот. Разработаны оптимальные параметры экстракции БАВ из травы вербены лекарственной и получены сухие экстракты. Исследованы острая токсичность, противовоспалительная, антибактериальная, гепатопротекторная и гипополидемическая активность полученных экстрактов. Исследованы сырьевые запасы и определена возможность культивирования вербены лекарственной для обеспечения сырьевой базы; разработаны проекты МКК «Вербены лекарственной экстракт сухой», «Инструкции по заготовке и сушке вербены лекарственной травы».

**Ключевые слова:** вербена лекарственная, вербена лежащая, вербена гибридная, биологически активные вещества, фармакологическое действие.

## ANNOTATION

### **Posatska N. Pharmacognostic study of Verbena genus species. – Qualification scientific work with the manuscript copyright.**

Thesis for the Scientific Degree of Candidate of Pharmaceutical Science in Speciality 15.00.02 – Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy (226 – Pharmacy, industrial pharmacy). – Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, 2021.

Thesis is devoted to pharmacognostic research of biologically active substances of Verbena genus species, obtaining and research of the phytomedicine based on the raw materials, developing of Methods of quality control of medicinal plant raw materials and the phytomedicine. Using modern physicochemical methods the content of the main groups of BAS in *Verbena officinalis* L. herb, *Verbena supina* L. leaves and *Verbena hybrida* Hort. herb was established. Using chemical reactions and chromatographic methods free sugars, amino acids, carboxylic acids, phenolic compounds, flavonoids, tannin metabolites, hydroxycinnamic acids, volatile compounds were investigated in Verbena genus species raw materials.

Using spectrophotometric method the content of biologically active substances in Verbena genus species was determined: the sum of polyphenols – 4.31 – 4.83 % in *Verbena officinalis* L. herb, 3.31% in *Verbena supina* L. leaves and 2.84 – 2.91 % in *Verbena hybrida* Hort. herb; tannins – 2.11 – 2.43 % in *Verbena officinalis* L. herb,

1.31 % in *Verbena supina* L leaves and 1.84 – 1.91 % in *Verbena hybrida* Hort. herb; flavonoids – 1.09 – 1.29 % in *Verbena officinalis* L. herb, 0.91 % in *Verbena supina* L leaves and 0.81 – 0.84 % in *Verbena hybrida* Hort. herb; oxidative phenols – 1.37 – 1.91 % in *Verbena officinalis* L. herb, 1.21 % in *Verbena supina* L leaves and 1.04 – 1.06 % in *Verbena hybrida* Hort. herb; ascorbic acid – 0.03 – 0.14 % in *Verbena officinalis* L. herb, 0.08 % in *Verbena supina* L leaves and 0.04 – 0.05 % in *Verbena hybrida* Hort. herb; organic acids – 2.39 – 2.54 % in *Verbena officinalis* L. herb, 2.21 % in *Verbena supina* L. leaves and 1.94 – 1.98 % in *Verbena hybrida* Hort. herb;  $\alpha$ -tocopherol – 11 mg / 100g in *Verbena officinalis* L. herb, 10 mg / 100g in *Verbena supina* L. leaves and 11 mg / 100g in *Verbena hybrida* Hort. herb;  $\beta$ -tocopherol – 13 mg / 100g in *Verbena officinalis* L. herb, 12 mg / 100g in *Verbena supina* L. leaves and 12 mg / 100g in *Verbena hybrida* Hort. herb;  $\gamma$ -tocopherol – 76 mg / 100g in *Verbena officinalis* L. herb, 78 mg / 100g in *Verbena supina* L. leaves and 77 mg / 100g in *Verbena hybrida* Hort. herb.

The completeness of the getting of biologically active substances is achieved by triple extraction. Toxicity and pharmacological activity of *Verbena officinalis* L. herb dry extract were studied. According to the results of research, the phytomedicine is classified as class V toxicity (almost non-toxic substances) according to the classification of K. K. Sidorov. Studies of anti-inflammatory effect of *Verbena officinalis* L. herb dry extract were performed in accordance with the guidelines «Preclinical studies of drugs» using two models – formalin and carrageenan. The most pronounced anti-exudative effect had *Verbena officinalis* L. herb extract (extractant – 70% ethanol), that suppressed the inflammatory reaction by 32.5 – 34.5 %, depend on the model of the edema. *Verbena officinalis* L. herb extracts had the hepatoprotective effect in acute toxic liver disease, that was somewhat inferior to the comparison drug «Silibor». The hepatoprotective effect of *Verbena officinalis* L. herb extracts in acute toxic liver disease occurs by reduction of the toxic effect of carbon tetrachloride. The most pronounced hepatoprotective effect had *Verbena officinalis* L. herb extract (extractant – 70 % ethanol). The dynamics of blood lipid levels in the case of cycle prescription of *Verbena officinalis* L. extracts with simulated triton WR-1339 atherosclerotic hyperlipidemia was study. *Verbena officinalis* L. extracts (extractant – purified water or 70 % ethanol) reduced the level of total lipids,  $\beta$ -lipoproteins, triglycerides, total cholesterol, transferases – ALT and AST. The most pronounced effect was shown by the herb extract *Verbena officinalis* L. (extractant – 70 % ethanol). Histological examination of the liver after administration of detergent WR-1339 to animals revealed the significant destructive changes in the parenchyma and stroma of the liver, that indicates the increase in decompensation processes. *Verbena officinalis* L. extract (extractant – 70 % ethanol) had a positive effect on liver tissue, but there were isolated areas of destruction. It allows to make a conclusion about the significant recovery processes.

The projects of Methods of quality control «*Verbena officinalis* L. dry extract» and «Instruction on harvesting and drying of *Verbena officinalis* L. herb» were developed. The novelty of researches is confirmed by the patent of Ukraine on the utility model № 46370 «The method of obtaining of *Verbena officinalis* L. herb extract with hepatoprotective effect».

**Keywords:** herb, *Verbena officinalis* L., *Verbena supina* L., *Verbena hybrida* Hort., biologically active substances, pharmacological effect.

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АЛАТ	– аланінамінотрансфераза;
АсАТ	– аспартатамінотрансфераза;
БАР	– біологічно активні речовини;
в.	– вербена;
ВЕРХ	– високоефективна рідинна хроматографія;
ВЛТ-0	– екстракт трави вербени лікарської (екстрагент – вода очищена);
ВЛТ-7	– екстракт трави вербени лікарської (екстрагент– 70 % етанол);
ВРПС	– водорозчинні полісахариди;
КБН	– коефіцієнт біологічного накопичення;
МКК	– методи контролю качества;
МКЯ	– методи контролю якості;
ПХ	– паперова хроматографія;
ТШХ	– тонкошарова хроматографія.