

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

ГУДЗЬ НАДІЯ АНАТОЛІВНА

УДК 615.07:615.322:582.99

**ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СТЕВІЇ (*STEVIA REBAUDIANA*
BERTONI) ТА ЯКОНУ (*POLYMNIA SONCHIFOLIA* ROEPP. & ENDL.)**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

**Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук**

Харків – 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор
МАРЧИШИН СВІТЛАНА МИХАЙЛІВНА
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»,
завідувач кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
КИСЛИЧЕНКО ВІКТОРІЯ СЕРГІЇВНА
Національний фармацевтичний університет
МОЗ України (м. Харків),
завідувач кафедри хімії природних сполук

доктор біологічних наук, доцент
ТРЖЕЦИНСЬКИЙ СЕРГІЙ ДМИТРОВИЧ
Запорізький державний медичний університет,
завідувач кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки

Захист відбудеться «15» березня 2019 року о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий «12» лютого 2019 року.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
професор

В. А. Георгіянц

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. На даний час асортимент лікарських засобів рослинного походження, які застосовуються в офіційній медицині, становить понад 50 %. Розширення досліджень з пошуку нових джерел отримання ефективних і безпечних лікарських препаратів рослинного походження, в тому числі з цукрознижувальною дією, є актуальним завданням сучасної медицини і фармації. Одним із шляхів збільшення кількості лікарських рослинних препаратів є вивчення нових видів лікарських рослин, які інтродуковані та вирощуються в Україні.

Враховуючи те, що цукровий діабет (ЦД) є однією з найважливіших проблем, що стоять сьогодні перед охороною здоров'я, актуальним є пошук ефективних цукрознижувальних лікарських засобів. Сьогодні в світі, а також в Україні, спостерігається стрімке зростання числа хворих на цукровий діабет, що призводить до інвалідизації та високої смертності у зв'язку з розвитком діабетичних ускладнень (Тронько М.Д., Чернобров А.Д., 2015).

У профілактиці і комплексному лікуванні хворих на цукровий діабет важливе значення займає фітотерапія, яка має перевагу перед лікуванням синтетичними лікарськими препаратами, так як може тривало застосовуватися, не надаючи істотних побічних дій (Волошин О. І., Глубоченко О. В., 2010).

Асортимент офіційних рослинних лікарських засобів, рекомендованих у терапії цукрового діабету, незначний. Тому вивчення і використання культивованих лікарських рослин відкриває певні перспективи для створення економічно вигідних, доступних, безпечних і терапевтично ефективних вітчизняних лікарських препаратів, в тому числі з цукрознижувальними властивостями.

До таких рослин належить якон (*Polymnia sonchifolia* Poepp. & Endl., синонім *Smallanthus sonchifolius*) та стевія медоносна (*Stevia rebaudiana* (Bertoni)) з родини Айстрові (*Asteraceae*). У дикому вигляді якон зростає в Колумбії, Еквадорі і Перу. Біологічно активні речовини якона мають здатність зменшувати рівень цукру в крові, покращувати обмінні процеси в організмі, впливати на функцію шлунково-кишкового тракту, мають антисклеротичну дію. Стевія – рослина-ендемік і в дикому вигляді зустрічається лише в Парагваї та Південній Бразилії. Культивується в США, ряді країн Азії та Південної Америки, в Росії, на півдні України. Біологічно активні речовини стевії проявляють гіпоглікемічні, антиканцерогенні, антиоксидантні, противірусні, протизапальні, антигіпертензивні, ранозагоювальні, діуретичні, імуностимулюючі, біостимулюючі активності. Агробіологічними і фізіолого-біохімічними аспектами культури стевії (Верзіліна Н. Д., 2005 р.), екологічними аспектами виробництва і переробки стевії (Подпорінова Г. К., 2006 р.), інтродукцією стевії (Коробова М. М., 2000 р.), еколого-біологічними особливостями стевії (Кононова К. О., 2015 р.) займалися російські вчені. В Україні у 90-х роках минулого століття була проведена значна робота співробітниками ВНДІХТЛЗ під керівництвом проф. Комісаренка М. Ф. щодо вивчення дитерпенових

глікозидів і фенілпропаноїдів листків стевії (1994 р.), проте системних фармакогностичних досліджень даного виду не проводилось.

Аналіз доступних джерел літератури свідчив про недостатнє фармакогностичне вивчення якону і стевії, тому дане дослідження є актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідних програм кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. 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)

Мета та завдання дослідження. Метою роботи було провести комплексний фармакогностичний аналіз листків і кореневих бульб якона та листків стевії, як джерела одержання потенційних гіпоглікемічних субстанцій.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

- проаналізувати та узагальнити дані джерел літератури щодо ботанічної характеристики, поширення, хімічного складу, застосування в народній і науковій медицині якона та стевії;
- дослідити якісний склад біологічно активних речовин листків і кореневих бульб якона та листків стевії;
- визначити кількісний вміст біологічно активних речовин у листках і кореневих бульбах якона та листках стевії;
- встановити основні морфолого-анатомічні особливості будови листків і кореневих бульб якона та листків стевії та розробити проекти методів контролю якості (МКЯ) на листки якона і стевії та кореневі бульби якона;
- одержати лікарські засоби з сировини якона і стевії, провести їх ідентифікацію та стандартизацію;
- встановити гіпоглікемічну активність лікарських засобів, одержаних з досліджуваної сировини якона та стевії.

Об'єкт дослідження – комплексне фармакогностичне дослідження листків і кореневих бульб якона та листків стевії; вивчення гіпоглікемічної активності досліджуваних рослин.

Предмет дослідження – якісний та кількісний аналіз біологічно активних речовин якона і стевії; макро- та мікроскопічне вивчення листків і кореневих бульб якона та листків стевії; вивчення гострої токсичності та гіпоглікемічної активності субстанцій, одержаних з досліджуваної сировини якона і стевії.

Методи дослідження. При виконанні досліджень були використані фізичні, хімічні, фізико-хімічні, макро- та мікроскопічні, біохімічні, фармакологічні, гістологічні, математичні (статистична обробка результатів) методи.

Наукова новизна отриманих результатів. Проведено фармакогностичне дослідження культивованих в Україні цінних лікарських рослин з цукрознижувальною дією – якона і стевії. Методами якісного та хроматографічного аналізу встановлено наявність та визначено кількісний вміст речовин фенольної природи (гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, конденсованих дубильних речовин), органічних, аскорбінової, аміно- і жирних кислот, полісахаридів, в тому числі інуліну та моноцукрів. У досліджуваній сировині визначено вміст макро- і мікроелементів.

Методом ВЕРХ у листках якона виявлено, ідентифіковано та встановлено кількісний вміст кислот гідроксикоричних (хлорогенової, розмаринової, кофейної, ферулової), флавоноїдів (рутину, ізокверцитрину, лютеоліну, апігеніну, кверцетину, кемпферолу), кумаринів (кумарину, скополетину, умбеліферону); у листках якона і стевії – компонентів дубильних речовин (кислоти галової, епігалокатехіну, галокатехіну, катехіну, епікатехіну, епікатехін галату, кислоти елагової).

Вивчено морфолого-анатомічні особливості будови листків і кореневих бульб якона та листків стевії, встановлено основні діагностичні ознаки досліджуваної сировини.

Досліджено гіпоглікемічну активність субстанцій, одержаних з сировини якона і стевії на кафедрі управління та економіки фармації з технологією ліків ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», та гостру токсичність комбінованого екстракту якона і стевії.

Наукова новизна проведених досліджень підтверджена патентами України на корисну модель № 122803 від 25.01.2018 р. «Спосіб одержання комбінованої рослинної субстанції з гіпоглікемічною дією», № 122778 від 25.01.2018 р. «Спосіб одержання субстанції з гіпоглікемічною дією з корневих бульб якона» та № 123718 від 12.03.2018 р. «Спосіб отримання рослинної субстанції з гіпоглікемічною дією».

Практичне значення отриманих результатів. Результати фітохімічних і морфолого-анатомічних досліджень використано при створенні методичних рекомендацій «Фітохімічний склад та макро- і мікроскопічні ознаки якона листків і корневих бульб», м. Київ, 2017 р., які впроваджені в практику лабораторій з контролю якості лікарських засобів територіальних представництв Державної служби України з лікарських засобів та контролю за наркотиками.

Розроблено проекти МКЯ на нову лікарську рослину сировину «Якона кореневі бульби», «Якона листки» та «Стевії листки».

На одержаний комбінований густий екстракт якона і стевії розроблено проект МКЯ «Якона і стевії комбінований екстракт густий», встановлено його гостру токсичність та гіпоглікемічну дію.

Результати фармакогностичних досліджень впроваджено у науково-дослідну роботу та навчальний процес кафедр фармакогнозії та хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету, фармацевтичної ботаніки та фармакогнозії ВДНЗ України «Буковинський державний медичний

університет», кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», кафедр фармацевтичної хімії та фармації Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова.

Особистий внесок здобувача. Дисертант самостійно провела інформаційно-патентний пошук, проаналізувала доступні джерела літератури щодо розповсюдження, хімічного складу та використання якона та стевії у народній і науковій медицині та дієтичному харчуванні. Автором проведено фітохімічний і хроматографічний аналіз лікарської рослинної сировини та встановлено наявність у ній полісахаридів, в тому числі інуліну, вільних моноцукрів, кислот аскорбінової, органічних, жирних і гідроксикоричних, флавоноїдів, дубильних речовин, амінокислот, летких сполук, визначено елементний склад та числові показники. Розроблено проекти МКЯ на листки стевії та якона й кореневі бульби якона, та на комбінований екстракт з якона і стевії.

Вивчення морфолого-анатомічних особливостей будови листків та корневих бульб досліджуваної сировини проведено за консультативної допомоги кандидата фармацевтичних наук, доцента кафедри ботаніки НФаУ Л. М. Сірої.

Дослідження гіпоглікемічної активності густого екстракту з корневих бульб якона, сухого екстракту з листків стевії та густого комбінованого екстракту якона і стевії проведено автором на базі науково-дослідної лабораторії доклінічного вивчення фармакологічних речовин Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова під керівництвом професора Н. І. Волощук.

Постановка мети, завдань, обговорення результатів досліджень проведено разом з науковим керівником. У наукових працях, опублікованих у співавторстві з С. М. Марчишин, Л. М. Сірої, Л. Т. Міщенко, А. В. Дащенко, Т. М. Гонтовою, О. Л. Демидяк, С. С. Козачок, І. С. Дахим, Л. В. Гусак, О. П. Андрієшин, Г. А. Крицькою, Н. О. Твердохліб дисертанту належить фактичний матеріал та основний доробок.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були представлені та обговорені на XVIII і XXII Міжнародних медичних конгресах студентів та молодих вчених (Тернопіль, 28-30 квітня 2014; 23-25 квітня 2018); XIX Міжнародному медичному конгресі студентів і молодих вчених, присвяченому пам'яті ректора, члена-кореспондента НАМН України, професора Леоніда Якимовича Ковальчука (Тернопіль, 27-29 квітня 2015); II Міжнародній науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 21-23 березня 2016); IV Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 30-31 жовтня 2012, 21-22 квітня 2016); VIII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація XXI століття»: тенденції та перспективи» (Харків, 13-16 вересня 2016); 6-й науково-практичних конференціях з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і

оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 10-11 листопада 2016); V Національному з'їзді фармакологів України (Запоріжжя, 18-20 жовтня 2017).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 21 наукову роботу: 9 статей, з них 7 у фахових виданнях, в тому числі 2 статті у фаховому закордонному виданні (Індія), 1 методичні рекомендації та 8 тез доповідей, отримано 3 патенти України на корисну модель

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, чотирьох розділів власних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел літератури. Загальний обсяг дисертації складає 227 сторінок друкованого тексту, основного тексту – 178 сторінок. Робота ілюстрована 25 таблицями 70 рисунками. Перелік використаних джерел містить 238 найменувань, з яких кирилицею 148, латиною – 90.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Розділ 1. Фітотерапія цукрового діабету та перспективи пошуку нових лікарських рослин з цукрознижувальною активністю (огляд літератури). В огляді літератури наведено інформацію про загальносвітову медико-соціальну проблему – цукровий діабет (ЦД) 1-го (інсулінозалежний) та 2-го (інсулінонезалежний) типів, про фітотерапію при ЦД, переваги застосування фітотерапії в реабілітації хворих ЦД, а також подано ботанічну характеристику, дані про хімічний склад, застосування у медицині та інших галузях рослин родини айстрові (*Asteraceae*) родів Якон (*Smallanthus*) і Стевія (*Stevia*) – якона (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. and Endl.) Н. Robinson, синонім *Polymnia sonchifolia* Poepp. & Endl., *Polymnia edulis* Wedd.) та стевії медоносної (*Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsley).

Аналіз джерел літератури показав, що батьківщиною якона є гірські лісові райони Анд у Південній Америці, де його традиційно вирощують у північних і центральних Андах від Венесуели до південно-західної частини Аргентини У дикому вигляді якон зростає в Колумбії, Еквадорі, Перу. Якон інтродуковано та введено в культуру в багатьох країнах світу: США, Новій Зеландії, південній Європі, Ірані, Японії, Кореї, Бразилії, Чехії. Узбекистані, Молдові (Міщенко Л. Т. і співав., 2012). На початку ХХІ тисячоліття якон інтродуковано в Україні (Міщенко Л. Т., 2012). Рослина містить багато цінних БАП, серед яких переважають вуглеводи, в основному інулін, який, за даними літератури, має гіпоглікемічні властивості (Горбулінська О. В. і співав., 2014; D. Q. Dou D. Q. Et al. 2008; Miura T., 2007).

Якон здавна використовують як засіб, який знижує рівень глюкози в крові та лікує ожиріння (Міщенко Л. Т. і співав., 2012), знижує рівень холестерину, артеріальний тиск (Albuquerque E. N., Rolim P. M. 212; De Moura N.A. et al., 2012]; досліджена його антиоксидантна активність (Castro A. et al., 2012).

Стевія – натуральний низькокалорійний замітник цукру з широким спектром лікувально-профілактичних властивостей, тому у ряді країн її використовують з цією метою (Bugaj B. et al., 2013; Artoni S. D. et al., 2010).

Біологічно активні речовини стевії проявляють гіпоглікемічні, антиканцерогенні, антиоксидантні, противірусні, протизапальні, антигіпертензивні, ранозагоювальні, діуретичні, імуностимулюючі, біостимулюючі активності (Sutradhar S. et al., 2013; Zeng J. et al., 2013; Shukla S. et al., 2012).

Хімічний склад досліджуваних рослин вивчено недостатньо, висвітлені в джерелах літератури фармакологічні дослідження є неповними, що створює передумови для їх комплексного фармакогностичного дослідження та поглибленого вивчення БАР з метою подальшого створенням на їх основі нових безпечних та ефективних лікарських рослинних препаратів з цукрознижувальною активністю.

Розділ 2. Об'єкти та методи дослідження. Об'єктами для досліджень були листки і кореневі бульби якона (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. and Endl.) H. Robinson) і листки стевії (*Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsley). Листки якона заготовляли протягом вегетаційного періоду (з початку липня до кінця вересня 2014-2016 рр.), підземні органи – восени, після завершення періоду вегетації (у жовтні). Сировина була надана професором Міщенко Л.Т. – провідним науковим співробітником ННЦ «Інститут біології та медицини», за що виносимо щиру вдячність. Якон вирощували у Київській обл. згідно методичних рекомендацій (Міщенко Л. Т. і співав., 2012). Листки стевії заготовляли на дослідних ділянках відділу культурної флори Національного ботанічного саду імені М. М. Гришка НАН України в м. Києві під час масового цвітіння рослини у 2014-2016 роках.

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

Розділ 3. Дослідження якісного складу і кількісного вмісту біологічно активних речовин якона і стевії та визначення їх числових показників.

Попередній фітохімічний аналіз показав наявність у досліджуваній сировині якона і стевії полісахаридів, в тому числі інуліну, флавоноїдів, дубильних речовин, кислот органічних та гідроксикоричних.

Визначення вмісту кислот органічних та аскорбінової у сировині якона і стевії. Проведене кількісне визначення вмісту суми вільних кислот органічних та аскорбінової у листках і кореневих бульбах якона та листках стевії показало, що вміст суми вільних кислот органічних у перерахунку на кислоту лимонну становив у листках ($5,80 \pm 0,22$) %, у кореневих бульбах – ($4,15 \pm 0,11$) %; у листках стевії – ($4,95 \pm 0,15$) %; кислоти аскорбінової у листках якона – ($0,19 \pm 0,01$) %, у кореневих бульбах – ($0,08 \pm 0,01$) %; у листках стевії – ($0,17 \pm 0,01$) %. Методом ТШХ у листках якона ідентифіковано лимонну, винну і бурштинову кислоти; у кореневих бульбах – лимонну і бурштинову; у листках стевії – яблучну, лимонну і бурштинову кислоти.

Визначення кислот жирних. Методом ГХ/МС у у ліпофільному екстракті листків якона виявлено 9 жирних кислот, 2 з яких є поліненасичені – лінолева (16,39 мг/кг) і ліноленова (36,30 мг/кг); у ліпофільному екстракті листків стевії – 8 жирних кислот, де у найбільшій кількості представлена ліноленова кислота

(2,06 мг/кг). У ліпофільному екстракті кореневих бульб якона ідентифіковано лінолеву і ліноленову кислоти, вміст яких становив 10,33 і 10,01 мг/кг відповідно.

Визначення вуглеводів. Досліджено полісахаридні комплекси листків, кореневих бульб і кори кореневих бульб якона та листків стевиї, виділено фракції ВРПС і ПР, кількісний вміст яких становив: ВРПС – листки якона – (5,13 ± 0,51) %, кореневі бульби якона – (10,74 ± 0,71) %, кора кореневих бульб якона – (12,45 ± 0,36) %, листки стевиї – (12,34 ± 0,36) %; ПР – листки якона – (8,64 ± 0,39) %, кореневі бульби якона – (5,68 ± 0,24) %, кора кореневих бульб якона – (4,20 ± 0,22) %, листки стевиї – (7,12 ± 0,25) %. Найнижчий вміст ВРПС спостерігали у листках якона, де був найвищий вміст ПР – 8,64 % (рис. 1).

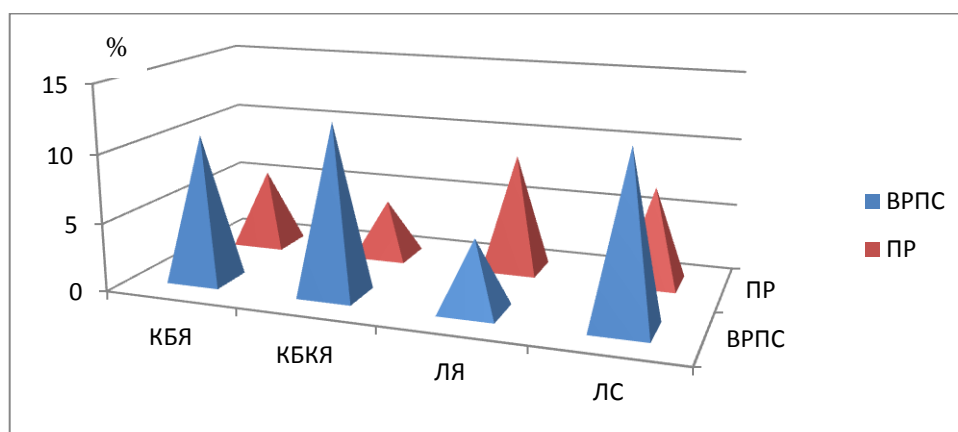


Рис. 1 Діаграма вмісту полісахаридів у сировині якона і стевиї

Методом ГХ/МС встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст моноцукрів та сахарози у досліджуваній сировині якона і стевиї. У листках якона виявлено 10 цукрів, основними з яких є D-глюкоза (0,64 мг/кг), D-галактоза (0,06 мг/кг), D-фруктоза (0,67 мг/кг) і сахароза (1,53 мг/кг); у кореневих бульбах – 7 цукрів, основними з яких є D-глюкоза (176,36 мг/кг), D-фруктоза (461,04 мг/кг) і сахароза (235,95 мг/кг); у корі кореневих бульб – 13 цукрів, де кількісно переважають D-глюкоза (56,27 мг/кг), D-фруктоза (280,04 мг/кг) і сахароза (133,91 мг/кг). У кореневих бульбах якона спостерігалася значна кількість фруктози, яка є одним з найважливіших природних цукрів, тому їх можна рекомендувати застосовувати в харчовому раціоні хворих на цукровий діабет.

У листках стевиї ідентифіковано 17 цукрів, серед яких найбільше містилося фруктози, що становило 38,82 мг/кг, та незначна кількість сахарози – 5,16 мг/кг.

Методом ГХ/МС встановлено, що у корі коренебульб та у коренебульбах якона міститься 47,17 мг/г та 46,28 мг/г інуліну відповідно (рис. 2-5).

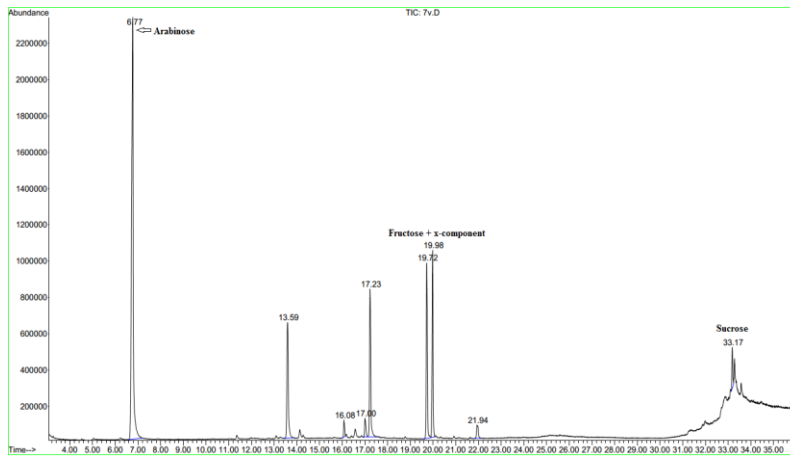


Рис. 2 Хроматограма ГХ/МС вільної фруктози та сахарози кори коренебульб якона

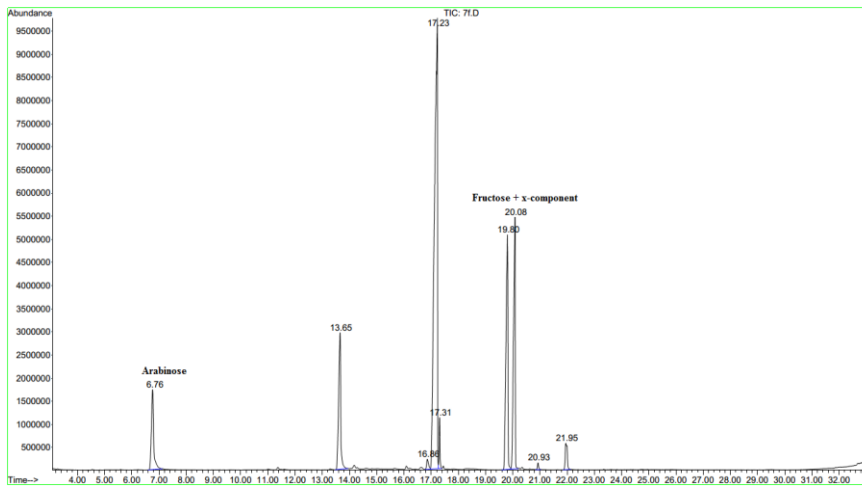


Рис. 3 Хроматограма ГХ/МС загального вмісту фруктози (після ферментації цукрів) кори коренебульб якона

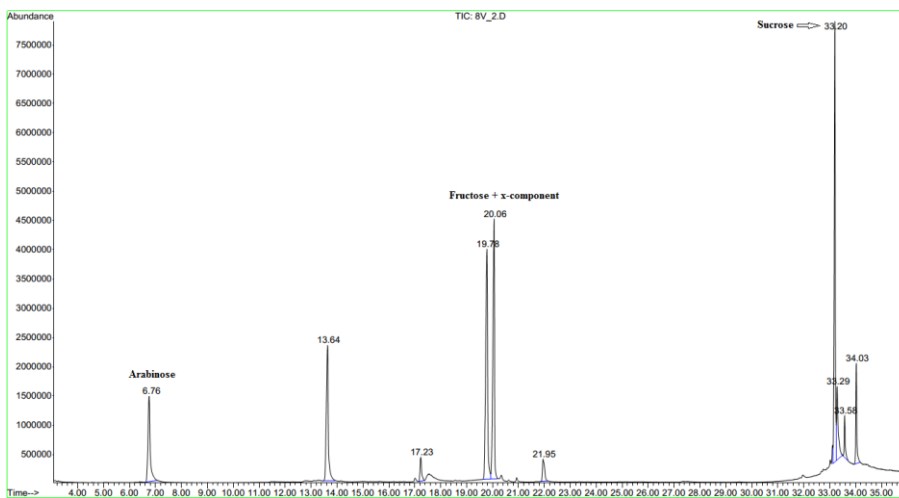


Рис. 4 Хроматограма ГХ/МС вільної фруктози та сахарози у корневих бульбах якона

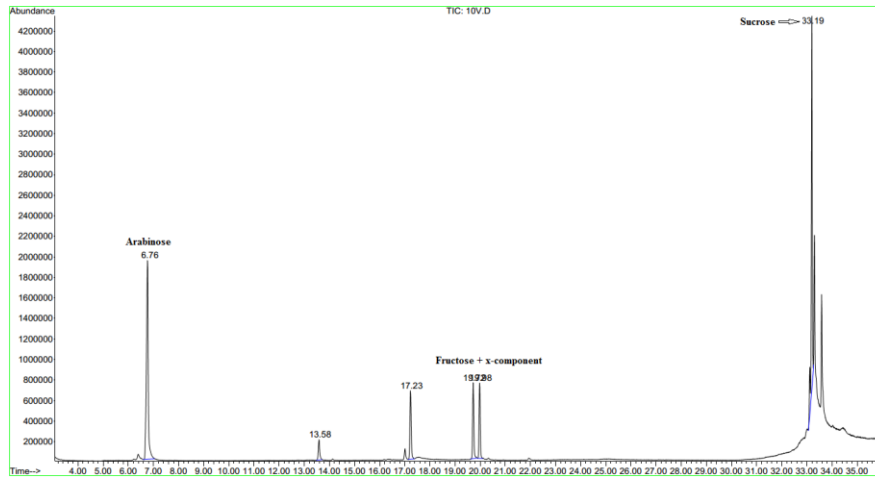


Рис. 5 Хроматограма ГХ/МС загального вмісту фруктози (після ферментації цукрів) у корневих бульбах якона

У листках якона виявлено дещо меншу кількість інуліну – 10,67 мг/г.

Кількісне визначення суми фруктанів проводили спектрофотометричним методом на спектрофотометрі Lambda 25 UV. Вміст суми фруктанів у сировині в перерахунку на фруктозу обчислювали з використанням питомого показника поглинання 5-гідроксиметилфурфуролу за довжини хвилі 285 нм. Він становив $(31,50 \pm 0,02)$ % у листках якона, $(51,01 \pm 0,01)$ % у корневих бульбах, $(61,18 \pm 0,05)$ % у корі корневих бульб якона.

Визначення амінокислот. Методом ГХ/МС досліджено амінокислотний склад сировини досліджуваних об'єктів. У листках якона ідентифіковано 17 зв'язаних амінокислот, вільних – 11; у корневих бульбах – по 12 вільних і зв'язаних амінокислот. З вільних амінокислот у коренебульбах переважає пролін і аргінін; у листках – глутамінова кислота і аланін. У листках і корневих бульбах не виявлено гістидину, тирозину, метіоніну і лейцину, а в листах нема також цистину. У листках стевії виявлено 17 зв'язаних і 14 вільних амінокислот. Значний вміст мали такі вільні амінокислоти як серин $(7,04$ мкг/мг) та пролін $(3,70$ мкг/мг). Не виявлено вільного цистину, аспарагінової та глутамінової кислот.

Визначення летких сполук. Методом ГХ/МС визначено якісний склад компонентів летких сполук у листках і корневих бульбах якона та листках стевії. У листках якона виявлено 60 компонентів, з яких ідентифіковано 34. Основними компонентами є: 4-етеніл-4-метил-1-пропан-2-іл-3-пропен-2-іл циклогексан, октагідро-1,7а-диметил-5-(1-метилетил)-1,2,4-метан-1Н-інден, (відсоток співпадіння 99 %), 16-каурен, гексадеканової кислоти етиловий естер, циклотетрадекан, пентадеканова кислота, гермакрен-D (відсоток співпадіння 98 %), 14-метил пентадеканової кислоти метиловий естер, 1-ізопропіл-4-метил-3-циклогексанол, 1-метил-4-(1-метилетил)-1,4-циклогексадієн, β -пінен (відсоток співпадіння 97 %). У летких сполуках корневих бульб якона ідентифіковано 16 компонентів з 55 виявлених. Основними є: 9,12-октадекадієнова кислота, *n*-гексадеканова кислота (відсоток співпадіння

99 %), 1,2,3,4,4а,9,10,10а-октагідро-1,4а-диметил-7-(1-метилетил)-1-фенантрен карбонова кислота (відсоток співпадіння 98 %), α -пінен (відсоток співпадання 97 %). У летких сполуках листків стевії з 51 компонента ідентифіковано 22. Такі сполуки як β -бісаболен, 1-октадецен, *n*-гексадеканова кислота, 1,2,3,5,6,8а-гексагідро-4,7-диметил-1-(1-метилетил) нафталін мають відсоток співпадіння 98 %, інші – від 80 % (β -фарнезен) до 95 % (2-ізопропіл-5-метил-9-метилен-біцикло[4.4.0]декан).

Дослідження фенольних сполук у листках і корневих бульбах якона та листкаї стевії. Встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст кислот гідроксикоричних, флавоноїдів, похідних фенолів, танінів та поліфенолів у досліджуваній сировині. Визначення кількісного вмісту суми зазначених речовин проводили спектрофотометричним методом. Якісний склад і кількісний вміст індивідуальних сполук фенольної природи визначали методом ВЕРХ.

У листках і корневих бульбах та листках стевії спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст суми речовин фенольної природи. Результати досліджень наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Кількісний вміст суми речовин фенольної природи у сировині якона і стевії

Назва класу БАР	Вміст, % у перерахунку на абсолютно суху сировину (n=5)		
	листки якона	кореневі бульби якона	листки стевії
Сума фенольних сполук	6,75 ± 0,1	0,95 ± 0,01	2,38 ± 0,01
Сума гідроксикоричних кислот	2,15 ± 0,01	1,54 ± 0,03	6,47 ± 0,01
Суми флавоноїдів	2,66 ± 0,02	0,32 ± 0,02	1,23 ± 0,03
Таніни	0,68 ± 0,03	1,77 ± 0,01	0,78 ± 0,01
Поліфеноли	7,22 ± 0,2	7,71 ± 0,02	5,38 ± 0,01

Примітка. Вірогідність похибки $P < 0,05$

Методом ВЕРХ виявлено, ідентифіковано та встановлено кількісний вміст у листках якона і стевії компонентів дубильних речовин (кислоти галової, епігалокатехіну, галокатехіну, катехіну, епікатехіну, епікатехін галату, кислоти елагової), кислот гідроксикоричних (хлорогенової, розмаринової, кофейної, ферулової), флавоноїдів (рутину, ізокверцитрину, лютеоліну, апігеніну, кверцетину, кемпферолу), кумаринів у листках якона (кумарину, скополетину, умбеліферону). Серед компонентів дубильних речовин найбільший вміст галокатехіну (1,56 %) виявлено у листках якона; серед гідроксикоричних кислот – розмаринової кислоти у листках якона і хлорогенової у листках стевії (по 0,97 %).

Визначення елементного складу. Методом ААС встановлено наявність та визначено кількісний вміст у досліджуваній сировині по 11 елементів: по

5 макро- (Ca, Mg, K, Na, P) та по 6 мікроелементів (Fe, Zn, Cu, Cd, Mn, Se). Не виявлено срібла і нікелю. В усіх досліджуваних об'єктах містився селен.

Серед макроелементів найбільша кількість кальцію – 29026 мг/кг та фосфору – 8640 мг/кг міститься у листках якона; калію (12224 мг/кг) – у корневих бульбах і листках (11085 мг/кг) якона. Значну кількість кальцію виявлено також у корневих бульбах якона – 18645 мг/кг (рис. 6). Листки стевії містили значно меншу кількість усіх досліджуваних макроелементів, крім натрію, вміст якого становив 669 мг/кг.

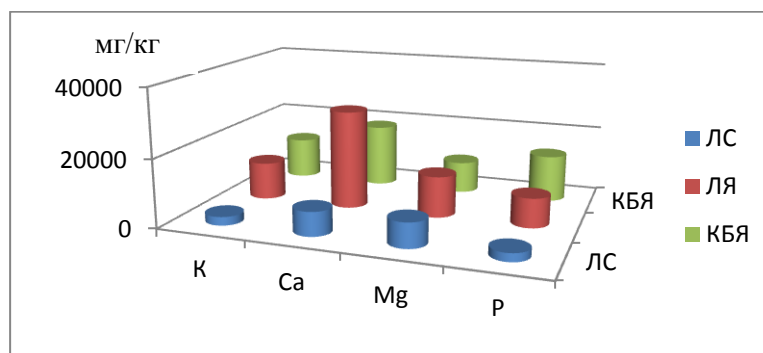
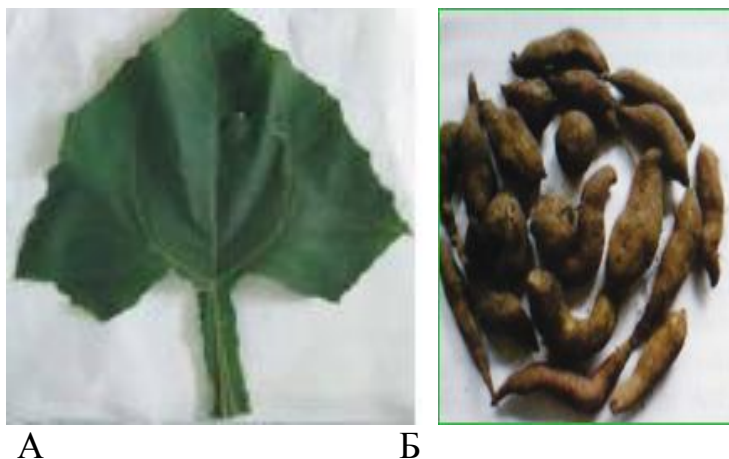


Рис. 6 Діаграма вмісту макроелементів у сировині якона і стевії

Розділ 4. Морфолого-анатомічний аналіз сировини якона (*Polymnia sonchifolius* Poepp. & Endl.) і стевії (*Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsley). Проведено визначення морфологічних ознак листків і корневих бульб якона та листків стевії; визначено їх анатомічні діагностичні ознаки.

Листки якона широкояйцеподібні, черешкові, великі, виїмчасті з нерівномірно зубчастими краями. На великих жилках і черешках листка є густе і жорстке опушення. Довжина пластинки листка до 32 см, ширина – 22 см. З верхнього боку листки темно-зелені, з нижньої – світліші. Запах слабкий. Смак гіркувато-солодкий (рис. 7 А). Кореневі бульби великі, грушоподібної або веретеноподібної форми, м'ясисті, соковиті. Шкірка ніжна, від жовтого до світлокоричневого кольору, м'якоть – від білого до жовтого кольору. На поперечному розрізі добре помітні промені вторинної ксилеми, що розходяться від центральної частини корневих бульб. Запах слабкий. Смак солодкий (рис. 7 Б).



А

Б

Рис. 7 Листок (А) і кореневі бульби (Б) якона

Основними анатомічними діагностичними ознаками листка якона є те, що верхня епідерма листової пластинки на верхівці представлена лопатеподібними клітинами з тонкостінними, звивистостінними оболонками; у центральній частині клітини слабо звивисті, інколи з прямостінними тонкими оболонками. Продихів небагато, вони великі, овальної форми. Епідерма опушена нерівномірно: трихоми частіше містяться вздовж жилок. Серед волосків зустрічається два основні типи: криючі і залозисті. Нижня епідерма у верхній і центральній частині листка представлена паренхімними клітинами зі звивистостінними оболонками. Продихів багато, вони великі. Продиховий апарат аномоцитного типу. Опушення густе, трихоми рівномірно розташовані по всій епідермі, багато залозок. Клітини розетки волоска майже не відрізняються від клітин епідерми.

Коренева бульба на поперечному розрізі округлої форми, світло коричневого кольору, вкрита 3-5 шарами темно-коричневої перидерми, клітини якої мають коричневі товстостінні прямостінні оболонки. Оболонки клітин корової паренхіми прямостінні, тонкостінні. Ендодерма складається з паренхімних клітин з прямостінними тангентально стиснутими тонкостінними оболонками. У коровій паренхімі поодинокі містяться схизогенні вмістища з коричневим секретом. Флоема виражена слабо, представлена ситоподібними трубками з клітинами супутницями, дрібноклітинною луб'яною паренхімою. Клітини ксилемної паренхіми вузькопросвіті, у верхній частині їх оболонки мають коричневе забарвлення. Судини ксилеми у верхній частині вузькопросвіті, мають дугоподібне розташування. Вони утворюють нерівномірне коло ксилеми. Паренхіма центрального циліндра представлена невеликими за розмірами клітинами з прямостінними оболонками. Проведення гістохімічних реакцій на інулін доводить наявність сферокристалів даного полісахариду. Сферокристали не мають чіткої променистої форми (рис. 8).

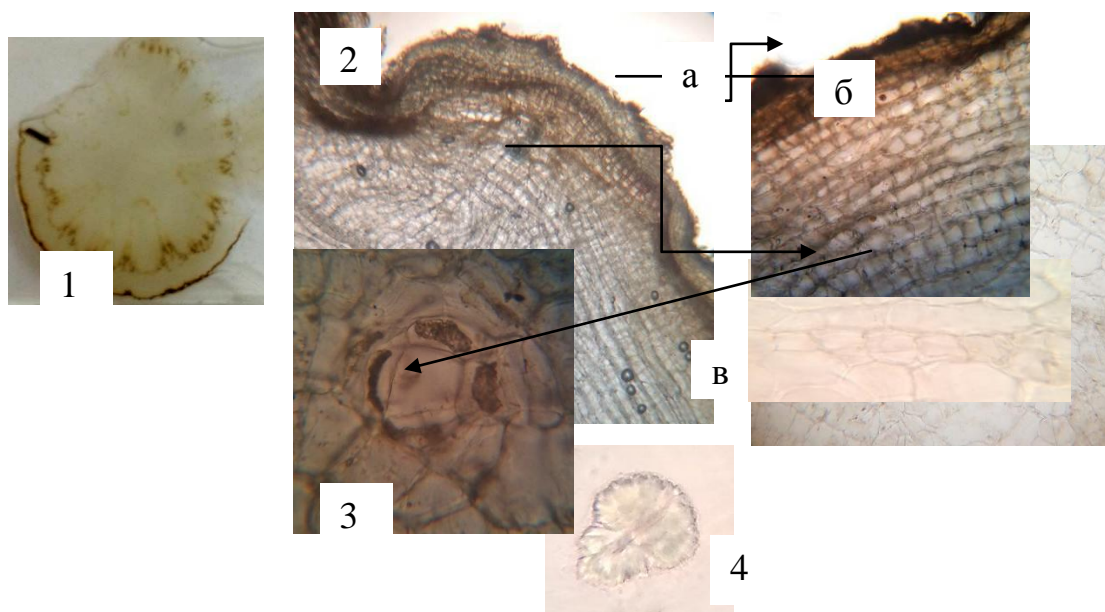


Рис. 8 Діагностичні ознаки корневих бульб якона: 1 – поперечний розріз (вид ззовні), 2 – покривна тканина з первинною корою: а – перидерма, б – коро́ва паренхіма, в – ендодерма; 3 – схизогенні вмістища, 4 – сферокристали інуліну

Листки стевії супротивні, короткочерешкові, без прилистків, ланцето- або яйцеподібні, з пилчастим краєм, злегка загорнутим донизу. Жилкування перисто-сітчасте, опушення не густе, рясніше на нижній стороні, над жилками та по краю листової пластинки. Більше опушені листки верхівкової формації рослини. Колір листової пластинки зверху зелений, знизу – дещо світліший. Смак солодкий, пряний з дещо гіркуватим присмаком. Запах приємний, ароматний.

Епідерма листової пластинки з багатоклітинними покривними волосками та залозками, що накопичують солодкі дитерпенові глікозиди. Клітини верхньої епідерми з тонкими, звивистими стінками. Продихи нечасті, анізоцитного типу. Досить густо розташовані прості волоски різної товщини і довжини. Нижню епідерму складають звивистостінні клітини зі штрихуватою кутикулою. Продихи розміщені щільніше. Залозки заглиблені ніжкою у мезофіл. Голівка кругляста, секрет накопичується під піднесеною кутикулою. По краю пластинки епідермальна кутикула товстіша, покривні волоски з бородавчастою поверхнею, загнуті доверху пластинки, більш чи менш гачкуваті.

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

Розділ 5. Обговорення результатів фармакологічних досліджень та обґрунтування параметрів стандартизації одержаних субстанції якона і стевії. На кафедрі управління та економіки фармації з технологією ліків під керівництвом доц. Васенди М. М. ДВНЗ «Тенопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» одержано сухий екстракт з листків стевії, густий екстракт кореневих бульб якона та комбінований густий екстракт якона і стевії, який було використано для проведення фармакологічних досліджень.

Екстракт кореневих бульб якона (ГЕЯ) – густа маса світло-коричневого кольору з жовтим відтінком, із солодким смаком та приємним специфічним запахом, розчинна у холодній воді, малорозчинна у 96 % етанолі. ГЕЯ стандартизовано за вмістом фруктанів (не менше 67 %) та фенольних сполук (не менше 13 %).

Екстракт листків стевії (СЕС) – сухий порошок темно-коричневого кольору із зеленуватим відтінком, зі специфічним запахом, солодкий на смак, розчинний у холодній воді, малорозчинний у 96 % етанолі. Стандартизацію одержаного екстракту запропоновано проводити за вмістом суми фенольних сполук, що повинна становити не менше 15 % і фруктанів (не менше 11 %).

Комбінований екстракт стевії і якона (ГКЕСЯ) – густа маса темно-коричневого кольору з зеленуватим відтінком, із солодким смаком та приємним специфічним запахом, що добре розчинялася у воді, малорозчинна в етанолі 96%. Стандартизацію ГКЕСЯ запропоновано проводити за вмістом суми фенольних сполук, що повинна становити не менше 18 % і фруктанів (не менше 38 %).

Встановлено гостру токсичність густого комбінованого екстракту з листків стевії та з кореневих бульб якона. За класифікацією Сидорова К. К. його можна віднести до V класу – практично нетоксичні сполуки.

Під керівництвом професора Н. І. Волощук (ВНМУ) проведено дослідження гіпоглікемічної дії сухого екстракту стевії, густого екстракту якона та комбінованого густого екстракту якона і стевії на моделі гострої гіперглікемії. Усі досліджувані екстракти при їх внутрішлунковому введенні на моделі гострої гіперглікемії проявляли дозозалежну гіпоглікемічну дію. Комбінований екстракт за гіпоглікемічним ефектом перевершував окремо застосовані компоненти. Умовно ефективна доза для комбінованого екстракту становила 250 мг/кг.

Дослідження гіпоглікемічної дії екстрактів з листків стевії, кореневих бульб якона та комбінованого екстракту з листків стевії та кореневих бульб якона на моделі дексаметазонової гіперглікемії у щурів показали, що комбінований густий екстракт якона і стевії має виразну гіпоглікемічну дію, за ступенем якої він наближався до синтетичного гіпоглікемічного засобу «Метформіну», суттєво перевершуючи при цьому збір «Арфазетин», а також перевершував монокомпоненти, які входили до його складу.

За допомогою гістоморфологічного дослідження визначено панкреатозахисні властивості досліджуваного сухого екстракту листків стевії, густого екстракту кореневих бульб якона та комбінованого густого екстракту якона і стевії на моделі цукрового діабету, викликаного введенням дексаметазону у щурів.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено результати експериментальних фармакогностичних досліджень листків і кореневих бульб якона та листків стевії, які культивуються в Україні та використовуються у народній і науковій медицині як цукрознижувальні засоби.

1. Вперше проведено комплексне фармакогностичне вивчення якона і стевії. Встановлено наявність різноманітних груп біологічно активних речовин: кислот органічних, аскорбінової, жирних, конденсованих дубильних речовин, флавоноїдів, кислот гідроксикоричних, амінокислот, полісахаридів, а також макро- і мікроелементів. У листках і кореневих бульбах якона виявлено інулін.

2. Вперше досліджено вміст кислот органічних, аскорбінової та жирних у досліджуваній сировині якона і стевії. Методом ТШХ встановлено, що листки якона містять кислоти лимонну, винну, бурштинову; кореневі бульби – лимонну і бурштинову; листки стевії – яблучну, лимонну і бурштинову. Встановлено кількісний вміст кислот органічних і аскорбінової у листках і кореневих бульбах якона та листках стевії – 5,80 %, 4,15 % і 4,95 % та 0,19 %, 0,08 % і 0,17 %, відповідно. Встановлено, що у ліпофільному екстракті листків якона у максимальній кількості містяться кислоти ліолева (16,39 мг/кг) і ліноленова (36,30 мг/кг), у ліпофільному екстракті листків стевії – ліноленова. У ліпофільному екстракті кореневих бульб якона виявлено кислоти ліолеву і ліноленову – 10,33 і 10,01 мг/кг, відповідно.

3. Вперше визначено кількісний вміст полісахаридів і амінокислот у сировині якона і стевії. Встановлено, що листки якона містять 17 зв'язаних та 11 вільних амінокислот; кореневі бульби – по 12; листки стевії – 17 зв'язаних і 14 вільних амінокислот. У листках якона серед вільних амінокислот домінує глутамінова кислота і аланін; у кореневих бульбах – пролін та аргінін; у листках стевії – серин і пролін. Визначено моносахаридний склад полісахаридів досліджуваних видів сировини якона і стевії; встановлено наявність моноцукрів – глюкози, галактози, арабінози, фруктози і дицукру – сахарози. Виділено фракції водорозчинних полісахаридів і пектинових речовин, кількісний вміст яких становив: ВРПС – кореневі бульби якона – 10,74 %, кора кореневих бульб – 12,45 %; листки якона – 5,13 %, листки стевії – 12,34 %; ПР – кореневі бульби якона – 5,68 %, кора кореневих бульб – 4,20 %, листки якона – 8,64 %, листки стевії – 7,12 %.

Методом ГХ/МС визначено вміст інуліну у корі кореневих бульб якона – 47,17 мг/кг, у кореневих бульбах – 46,28 мг/кг та у листках якона – 10,67 мг/кг.

4. У листках і кореневих бульбах якона та листках стевії визначено кількісний вміст суми кислот гідроксикоричних: 2,15 %, 1,54 % і 6,67; суми флавоноїдів: 2,66 %, 0,32 %, 1,23 %; суми фенольних сполук (у перерахунку на кислоту галову): 6,75 %, 0,95 %, 2,38 %; танінів: 0,68 %, 1,77 %, 0,78 %; поліфенолів (у перерахунку на пірогалол): 7,22 %, 7,71 %, 5,38 %, відповідно. Методом ВЕРХ у листках якона і стевії виявлено, ідентифіковано та встановлено кількісний вміст компонентів дубильних речовин (кислоти галової і елагової, епігалокатехіну, галокатехіну, епікатехіну, епікатехін галату), кислот гідроксикоричних (хлорогенової і розмаринової), флавоноїдів (рутину, ізокверцитрину, апігеніну, лютеоліну, кемпферолу). У листках якона також виявлено катехін, кверцетин, кислоти кофейну і ферулову, кумарини – умбеліферон, скополетин і кумарин.

5. Досліджено якісний склад і кількісний вміст макро- і мікроелементів у досліджуваній сировині якона і стевії та виявлено по 11 елементів: по 5 макро- (К, Са, Na, Mg, P) і по 6 мікроелементів (Fe, Zn, Cu, Cd, Mn, Se). Встановлено значне накопичення кальцію, калію, фосфору і магнію.

6. Визначено морфолого-анатомічні діагностичні ознаки листків і кореневих бульб якона та листків стевії. Розроблено проекти МКЯ на нову лікарську рослину сировину «Якона листки», «Якона кореневі бульби» і «Стевії листки».

7. Фармакологічними дослідженнями визначено гіпоглікемічну активність густого екстракту з кореневих бульб якона, сухого екстракту з листків стевії та густого комбінованого екстракту якона і стевії. Визначено гостру токсичність густого комбінованого екстракту якона і стевії, встановлено, що він належить за класифікацією К. К. Сидорова до V класу токсичності – практично нетоксичні речовин ($LD_{50} > 5000$ мг/кг). За допомогою гістоморфологічного дослідження підтверджена панкреатозахисна активність досліджуваних екстрактів.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Марчишин С. М., Козачок С. С., Гудзь Н. А. Леткі сполуки стевії (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *Фармацевтичний журнал*. 2015. № 3. С. 58-63 (*Особистий внесок – здійснювала літературний огляд, брала участь у проведенні досліджень, аналізі результатів та написанні статті*).
2. Морфолого-анатомічне вивчення якона (*Polymnia sonchifolia* Poepp. & Endl.) / С. М. Марчишин, Н. А. Гудзь, Т. М. Гонтова, Л. Т. Міщенко. *Фармацевтичний часопис*. 2016. № 2 (38). С. 5-10 (*Особистий внесок - брала участь в проведенні експерименту, обговоренні одержаних результатів та оформленні статті*).
3. Морфолого-анатомічне дослідження листків стевії (*Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsley) / Н. А. Гудзь, С. М. Марчишин, Л. М. Сіра, О. Л. Демидяк. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. № 4 (15). С. 40-45 (*Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, описала одержані результати, брала участь в написанні статті*).
4. Марчишин С. М., Гудзь Н. А., Міщенко Л. Т. Дослідження фруктанів якона (*POLYMNIA SONCHIFOLIUS* POEPP. & ENDL.). *Фітотерапія. Часопис*. 2017. № 3. С. 58-63 (*Особистий внесок – виконувала експериментальну частину, брала участь в узагальненні одержаних результатів та в оформленні статті*).
5. Analysis of phenolic compounds from *Polymnia sonchifolia* Poepp. et Endl. leaves by HPLC-method / S. Marchyshyn, N. Hudz, I. Dakhym, L. Husak, L. Mishchenko // *The Pharma Innovation Journal*. 2017. № 6(7). P. 980-983 (*Особистий внесок – виконувала експериментальну частину, брала участь в узагальненні одержаних результатів та в написанні статті*).
6. HPLC analysis of phenolic compounds from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves / S. Marchyshyn, N. Hudz, I. Dakhym, L. Husak, O. Demydyak // *The Pharma Innovation Journal*. 2018. Vol. 7 (3). P. 515-517 (*Особистий внесок – виконувала експериментальну частину, брала участь в узагальненні одержаних результатів та в написанні статті*).
7. Дослідження жирнокислотного складу деяких рослин родини айстрові (*Asteraceae*) / С. М. Марчишин, Н. А. Гудзь, Р. Ю. Басараба, Т. Я. Ярошенко. *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20, № 1. С. 43-50 (*Особистий внесок – здійснювала літературний огляд, брала участь в проведенні експерименту, обговоренні одержаних результатів та оформленні статті*).
8. Дослідження коригуючого впливу рослинного екстракту з цукрознижуючими властивостями на гістоструктуру підшлункової залози щурів зі змодельованим діабетом 2-го типу / С. М. Марчишин, Н. А. Гудзь, Г. А. Крицька, О. П. Андрійшин, Н. О. Твердохліб. *Світ медицини та біології*. 2018. № 2 (64). С. 160-165 (*Особистий внесок – брала участь у проведенні експерименту, обробці одержаних результатів та написанні статті*).

9. Визначення вмісту цукрів у листках і кореневих бульбах якону (*Polymnia sonchifolius* Roerr. & ENDL.) / С. М. Марчишин, Н. А. Гудзь, А. В. Дащенко, Т. О. Атаманчук, Л. Т. Міщенко // *Перспективні напрямки наукових досліджень лікарських та ефіроолійних культур*: матер. II Всеукраїнської науково-практичної конф. молодих вчених (Березоточа, 4-5 червня 2015 року). Березоточа, 2015. С. 101-107 (*Особистий внесок - виконала експериментальну частину, описала одержані результати, брала участь у написанні статті*).
10. Марчишин С. М., Гудзь Н. А., Васенда М. М., Волощук Н. І. Спосіб одержання комбінованої рослинної субстанції з гіпоглікемічною дією: пат. № 122803 Україна, МПК (2017.01) А61J 3/00 А61К 9/00 А61К 36/605 (2006.01) А61Р 7/00. и 2017 08076; заявл. 03.08.2017; опубл. 25.01.2018, Бюл. № 2 (*Особистий внесок – патентний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, оформленні патенту*).
11. Марчишин С. М., Гудзь Н. А., Васенда М. М., Волощук Н. І. Спосіб одержання субстанції з гіпоглікемічною дією з корневих бульб якона: пат. № 122778 Україна, МПК (2017.01) А61К 9/00 А61К 36/28 (2006.01) А61Р 7/00. и 2017 07866; заявл. 27.07.2017; опубл. 25.01.2018, Бюл. № 2 (*Особистий внесок – патентний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, оформленні патенту*).
12. Марчишин С. М., Гудзь Н. А., Васенда М. М., Волощук Н. І. Спосіб отримання рослинної субстанції з гіпоглікемічною дією: пат. № 123718 Україна, МПК (2018.01) А61К 9/00 А61К 36/00 А61Р7/00. и 2017 07859; заявл. 27.07.2017; опубл. 12.03.2018, Бюл. № 5 (*Особистий внесок – патентний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, оформленні патенту*).
13. Гудзь Н., Гуцуляк А. Вміст органічних та аскорбінової кислот к листках стевії медоносної. *XXII Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених*: мат. конгресу, Тернопіль, 23-25 квітня 2018 р. Тернопіль, «Укрмедкнига», 2018. С. 184.
14. Гудзь Н. А., Марчишин С. М. Вивчення гострої токсичності комбінованого екстракту якона і стевії. *V Нац. з'їзд фармакологів України* : матер. з'їзду (Запоріжжя, 18-20 жовтня, 2017 р.). Запоріжжя, 2017. С. 32-33.
15. Інуліновмісні лікарські рослини / С. М. Марчишин, Г. Р. Козир, О. В. Зарічанська, Л. В. Гусак, Н. А. Гудзь, Л. Т. Міщенко // *Фармація XXI століття : тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України (Харків, 13-16 вересня, 2016 р.): у 2 т. Т. 1 / М-во охорони здоров'я України, Нац. фармац. ун-т; кол.: В. П. Черних (голова) та ін.; С. Ю. Данильченко та ін. Харків: НФаУ, 2016. С. 111.
16. Марчишин С. М., Гудзь Н. А. Вміст амінокислот у листках стевії. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю (10-11 листопада 2016 р.). Тернопіль : ТДМУ, 2016. С. 59.

17. Марчишин С. М., Гудзь Н. А. Макро- та мікроелементний склад листків стевії та якону. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : мат. II Міжнародної науково-практичної internet-конференції (м. Харків, 21-23 березня 2016р.) / редкол. : Т. М. Гонтова, А. О. Мінаєва, Н. І. Ільїнська. Х. : НФаУ, 2016. С. 160.
18. Гудзь Н. А. Дослідження полісахаридів якону (*Polymnia sonchifolium* Роепп. & Endl.) і стевії (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *Хімія природних сполук*: мат. IV Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р. Тернопіль, «Укрмедкнига», 2016. С. 17.
19. Гудзь Н., Атаманчук Т. Фітохімічне дослідження якону. *XIX Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених, присвячений пам'яті ректора, члена - кореспондента НАМН України, професора Леоніда Якимовича Ковальчук*: мат. конгресу, Тернопіль, 27-29 квітня 2015 р. Тернопіль, «Укрмедкнига», 2015. С. 345.
20. Козачок С., Гудзь Н., Атаманчук Т. Визначення фенольних сполук у стевії листках. *XVIII Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених*: мат. конгресу, Тернопіль, 28-30 квітня 2014 р. Тернопіль, «Укрмедкнига», 2014. С. 262.
21. Марчишин С. М., Гудзь Н. А. Фітохімічний склад та макро- і мікроскопічні ознаки якона листків і кореневих бульб : метод. рек., Укрмедпатентінформ. Київ, 2017. 26 с.

АНОТАЦІЯ

Гудзь Н. А. Фармакогностичне дослідження стевії (*Stevia rebaudiana* Bertoni) та якону (*Polymnia sonchifolia* Роепп. & Endl.) – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2019.

Вперше проведено комплексне фармакогностичне дослідження листків і кореневих бульб якону (*Polymnia sonchifolia* Роепп. & Endl.) та листків стевії (*Stevia rebaudiana* Bertoni). Встановлено, що досліджувані об'єкти містять амінокислоти, вуглеводи, кислоти жирні та органічні, в тому числі аскорбінову, леткі сполуки, речовини фенольної природи (кислоти гідроксикоричні, флавоноїди, таніни, поліфеноли, кумарини), макро- і мікроелементи. У листках, кореневих бульбах і корі кореневих бульб якона ідентифіковано інулін, методом газо-рідинної хромато-мас-спектрометрії визначено його кількісний вміст, спектрофотометричним методом в даних об'єктах визначено кількісний вміст фруктанів.

Вперше проведено системне морфолого-анатомічне дослідження листків і кореневих бульб якона та листків стевії, встановлено їх макро- і мікродіагностичні ознаки. Розроблено проекти МКЯ на нову лікарську рослину сировину «Якона листки», «Якона кореневі бульби» і «Стевії листки».

Одержано субстанції – густий екстракт з корневих бульб якона, сухий екстракт з листків стевії та комбінований густий екстракт якона і стевії, фармакологічні дослідження яких показали наявність у них гіпоглікемічної активності. Визначено гостру токсичність густого комбінованого екстракту якона і стевії, встановлено, що він належить за класифікацією К. К. Сидорова до V класу токсичності – практично нетоксичні речовин ($LD_{50} > 5000$ мг/кг). Гістоморфологічними дослідженнями підтверджена панкреатозахисна активність досліджуваних екстрактів.

Розроблено проект методів контролю якості «Якона і стевії комбінований екстракт густий».

Ключові слова: якон, стевія, листя, кореневі бульби, фармакогностичне дослідження, морфолого-анатомічне дослідження, екстракт, фармакологічна активність.

АННОТАЦІЯ

Гудзь Н. А. Фармакогностическое исследование стевии (*Stevia rebaudiana* Bertoni) и якона (*Polymnia sonchifolia* Poepp. & Endl.) - Квалификационный научный труд на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. Национальный фармацевтический университет, МЗ Украины, Харьков, 2019.

Впервые проведено комплексное фармакогностическое исследование листьев и корневых клубней якона (*Polymnia sonchifolia* Poepp. & Endl.) и листьев стевии (*Stevia rebaudiana* Bertoni). В исследуемом сырье установлен качественный состав и определено количественное содержание аминокислот, углеводов, кислот органических, в том числе аскорбиновой, липофильных соединений, жирных кислот, летучих соединений, фенольных веществ (кислот гидроксикоричных, флавоноидов, танинов, полифенолов, кумаринов), макро- и микроэлементов. В листьях и корневых клубнях якона идентифицирован инулин и определено количественное содержание фруктанов.

Методом ТСХ в листья якона установлено наличие лимонной, винной янтарной кислот, в корневых клубнях якона – лимонной и янтарной; в листьях стевии – яблочной, лимонной и янтарной.

В листьях и корневых клубнях якона, в листьях стевии определено количественное содержание свободных кислот органических и аскорбиновой: 5,80 %, 4,15 % и 4,95 %; 0,19 %, 0,08 % и 0,17 %, соответственно.

Спектрофотометрическим методом в листьях и корневых клубнях якона, в листьях стевии определено количественное содержание веществ фенольной природы: суммы фенольных соединений (в пересчете на кислоту галловую) – листья якона 6,75 %, корневые клубни якона 0,95 %, листья стевии 2,38 %; суммы гидроксикоричных кислот – листья якона 2,15 %, корневые клубни якона 1,54 %, листья стевии 6,67 %; суммы флавоноидов – листья якона 2,66 %, корневые клубни якона 0,32 %, листья стевии 1,23 %; танины – листья якона

0,68 %, корневые клубни якона 1,77 %, листья стевии 0,78 %; полифенолы (в пересчете на пирогаллол) – листья якона 7,22 %, корневые клубни якона 7,71 %, листья стевии 5,38 %.

Методом ВЭЖХ в листьях якона и стевии обнаружено, идентифицировано и установлено количественное содержание компонентов дубильных веществ (кислоты галловой и эллаговой, эпигаллокатехина, галлокатехина, эпикатехина, эпикатехин галлата), кислот гидроксикоричных (хлорогеновой и розмариновой), флавоноидов (рутина, изокверцитрина, апигенина, лютеолина, кемпферола). В листьях якона также обнаружен катехин, кверцетин, кофейная и феруловая кислоты, кумарины – умбелиферон, скополетин и кумарин.

Исследованы полисахаридные комплексы листьев, корневых клубней якона, коры корневых клубней якона и листьев стевии, выделены фракции водорастворимых полисахаридов и пектиновых веществ, количественное содержание которых составляло: ВРПС – листья якона – 5,13 %, корневые клубни якона – 10,74 %, кора корневых клубней якона – 12,45 %, листья стевии – 12,34 %; ПР – листья якона – 8,64 %, корневые клубни якона – 5,68 %, кора корневых клубней якона – 4,20 %, листья стевии – 7,12 %. Методом ГХ/МС в листьях якона выявлено 10 сахаров, главными из которых являются D-глюкоза, D-галактоза, D-фруктоза и сахароза; в корневых клубнях и в коре корневых клубней выявлено 7 и 13 сахаров, основными являются D-глюкоза, D-фруктоза и сахароза, соответственно. В листьях стевии идентифицировано 17 сахаров, среди которых наибольшее количество фруктозы (38,82 мг/кг) и незначительное количество сахарозы (5,16 мг/кг).

В клубнях якона, коре клубней якона и листьях идентифицирован инулин. Методом ГХ/МС в них определено его количественное содержание – 46,28 мг/г, 47,17 мг/г и 10,67 мг/г, соответственно.

Спектрофотометрическим методом определено содержание фруктанов в исследуемом сырье якона, содержание которых составляло: листья якона – 31,50 %, корневые клубни якона – 51,01 %, кора корневых клубней якона – 61,18 %.

Установлен аминокислотный состав якона и стевии. В листьях якона идентифицировано 17 связанных аминокислот, свободных – 11; в корневых клубнях – по 12 свободных и связанных аминокислот. В листьях стевии выявлено 17 связанных и 14 свободных аминокислот.

Методом хромато-масс-спектрометрии определен компонентный состав летучих веществ листьев, корневых клубней якона и листьев стевии; идентифицировано – 34, 16 и 22 компонента, соответственно. Определен качественный состав и количественное содержание кислот жирных в липофильных фракциях исследуемого растения. Отмечено преобладание ненасыщенных жирных кислот.

Исследован элементный состав исследуемых органов якона и стевии. Установлено, что в значительном количестве накапливаются макроэлементы: кальций и фосфор в листьях якона, калий – в корневых клубнях, натрий – в листьях стевии.

Впервые проведено системное морфолого-анатомическое исследование листьев и корневых клубней якона и листьев стевии, установлены их макро- и микродиагностические признаки.

Получены субстанции – густой экстракт из корневых клубней якона, сухой экстракт из листьев стевии и комбинированный густой экстракт якона и стевии, фармакологические исследования которых показали наличие в них гипогликемической активности. Гистоморфологическими исследованиями подтверждена панкреазактивная активность исследуемых экстрактов. Установлено безопасность комбинированного экстракта: по исследованиям острой токсичности он отнесен к V классу токсичности по классификации К. К. Сидорова (практически нетоксичные вещества – $LD_{50} \geq 5000$ мг/кг).

Разработан проект методов контроля качества «Якона и стевии комбинированный экстракт густой».

Ключевые слова: якон, стевия, листья, корневые клубни, фармакогностические исследования, морфолого-анатомическое исследование, экстракт, фармакологическая активность.

ANNOTATION

Hudz N.A. Pharmacognostic study of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) and yacon (*Polymnia sonchifolia* Poepp. & Endl.) – Qualifying thesis manuscript copyright.

Thesis for the degree of the Candidate of Pharmaceutical Sciences in specialty 15.00.02 – of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2019.

A comprehensive pharmacognostic study of leaves and yacon bulbi (*Polymnia sonchifolia* Poepp. & Endl.) and stevia leaves (*Stevia rebaudiana* Bertoni) has been studied for the first time. It was found that the investigated objects contain amino acids, carbohydrates, fatty and organic acids, including ascorbic, volatile compounds, substances of phenolic nature (hydroxycoric acids, flavonoids, tannins, polyphenols, coumarins), macro and microelements. The inulin has been identified in the leaves, root tubers and the bark of root tubers of yacon, its quantitative content has been determined by the method of gas-liquid chromatographic mass spectrometry, and the quantitative content of the fructans is determined by the spectrophotometric method in these objects.

Systematic morphological and anatomical study of leaves and root tubers of yacon and leaves of stevia has been conducted for the first time; their macro- and microdiagnostic features has been established. The projects of Quality Control Technique on new medicinal plant raw materials of Yacon leaves, Yacon root tubers and Stevia leaves have been developed.

The optimum technology for obtaining substances is developed: a dense extract from the root tuber of yacon, a dry extract from the leaves of stevia and a combined thick extract of yacon and stevia. Pharmacological studies of the dense extract from the root tuber of yacon, the dry extract from the leaves of stevia and the dense combined extract of yacon and stevia have shown the presence of hypoglycemic

activity in them. Acute toxicity of the dense combined extract of yacon and stevia has been determined, it has been established that it belongs to the classification of K. K. Sydorov to the class V toxicity – practically nontoxic substances ($LD_{50} > 5000$ mg / kg). Histomorphological studies have confirmed the pancreatic protective activity of the investigated extracts.

The project of methods of quality control of Yacon and Stevia Combined Dense Extract is developed.

Key words: yacon, stevia, leaves, root tubers, 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;

ГЕЯ – густий екстракт кореневих бульб якона;

ГКЕСЯ – густий комбінований екстракт листків стевії і кореневих бульб якона;

ГХ/МС – газова хромато-мас-спектрометрія;

ЛР — лікарська рослина;

МКЯ – методи контролю якості;

ПР – пектинові речовини;

ПХ – хроматографія на папері;

СЕС – сухий екстракт листків стевії;

ТШХ – тонкошарова хроматографія;

ЦНДЛ – Центральна науково-дослідна лабораторія.

Підписано до друку 11.02.2019 р. Формат 60x84/16.
Папір офсетний. Гарнітура Times ET.
Ум. друк. арк. 0,9. Наклад 100 пр. Зам. № 0211/5-19.

Надруковано з готового оригінал-макету у друкарні ФОП В. В. Петров
Єдиний державний реєстр юридичних осіб та фізичних осіб-підприємців.
Запис № 2480000000106167 від 08.01.2009 р.
61144, м. Харків, вул. Гв. Широнінців, 79в, к. 137, тел. (057) 78-17-137.
e-mail:bookfabrik@mail.ua