

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

**КОЗИРА Софія Андріївна**

УДК: 615.322:582.734.4:581.8:54.06:615.28

**ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ РОСЛИН РОДУ *GEUM L.***

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

**АВТОРЕФЕРАТ**

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

Харків – 2010

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі ботаніки Національного фармацевтичного університету (м. Харків) Міністерства охорони здоров'я України.

**Науковий керівник:** доктор фармацевтичних наук, професор  
**СЕРБІН АНАТОЛІЙ ГАВРИЛОВИЧ**  
завідувач кафедри ботаніки,  
Національний фармацевтичний університет

**Офіційні опоненти:** доктор фармацевтичних наук, професор  
**БЕЗУГЛИЙ ПЕТРО ОВКСЕНТІЙОВИЧ**  
професор кафедри фармацевтичної хімії,  
Національний фармацевтичний університет

кандидат фармацевтичних наук, доцент  
**КОРНІЄВСЬКИЙ ЮРІЙ ІВАНОВИЧ**  
доцент кафедри фармакогнозії,  
Запорізький державний медичний університет

Захист відбудеться «5» листопада 2010 року о 10<sup>00</sup> год. 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 в бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4).

Автореферат розісланий «   » жовтня 2010 р.  
Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради,  
доктор фармацевтичних наук, професор

В. А. Георгіянц

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я в теперішній час відмічається тенденція до більш широкого використання в медичній практиці сировини та засобів рослинного походження. Цілеспрямований пошук біологічно активних субстанцій, вивчення їх фізико-хімічних та фармакологічних характеристик є головним напрямком задовільнення зростаючого попиту на фітопрепарати.

Фармакологічний ефект рослинних засобів забезпечуються не однією речовиною, а комплексом різних природних сполук. В їх ряду пильної уваги заслуговують фенольні сполуки, які зумовлюють різноманітний спектр дії лікарських засобів.

Представлені дослідження є продовженням робіт, що проводяться на кафедрі ботаніки Національного фармацевтичного університету з фітохімічного, морфолого-анатомічного та фармакологічного вивчення рослин родин *Betulaceae*, *Asteraceae*, *Rosaceae* та інших, які здавна використовуються народною і науковою медициною.

До перспективних джерел лікарської рослинної сировини (ЛРС) для виробництва препаратів антимікробної, протизапальної та антиоксидантної дії належать види роду *Geum* L. (гравілат), родини *Rosaceae* L., які характеризуються наявністю ряду біологічно активних речовин (БАР), в тому числі поліфенольних сполук.

Фітохімічне та морфолого-анатомічне вивчення видів роду *Geum* L., отримання біологічно активних комплексів та впровадження в практику додаткових джерел офіційної ЛРС є актуальною проблемою.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота «Фармакогностичне дослідження рослин роду *Geum* L.» виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету з проблеми «Фармакогностичне вивчення біологічно-активних речовин, створення лікарських засобів рослинного походження» (№ державної реєстрації 0103U000476), та проблемної комісії «Фармація» МОЗ та АМН України.

**Мета і завдання дослідження** Проведення порівняльного вивчення видів роду *Geum* L. щодо якісного складу та кількісного вмісту БАР, їх виділення і подальшого використання в медичній практиці; визначення найбільш перспективного виду та сировини для одержання біологічно активних субстанцій, встановлення їх біологічної активності та стандартизація; вивчення морфолого-анатомічних діагностичних ознак сировини видів роду *Geum* L. та визначення ресурсів *G. urbanum* L. в Харківській області.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

- провести інформаційний пошук, аналіз сучасного стану досліджень за темою дисертаційної роботи;
- провести попереднє фітохімічне вивчення видів роду *Geum* L. та

визначити найбільш перспективний вид і сировину для подальших досліджень;

- виділити в індивідуальному стані домінуючі речовини запропонованої сировини та встановити їх структуру;
- провести кількісне визначення основних груп БАР в рослинах роду *Geum* L.; визначити динаміку накопичення фенольних сполук та оптимальні терміни заготівлі сировини;
- розробити технологію одержання комплексів БАР та встановити їх біологічну активність;
- здійснити порівняльний морфолого-анатомічний аналіз сировини видів роду *Geum* L.;
- провести ресурсознавче дослідження та визначити запаси сировини *G. urbanum* L. на території Харківської області;
- розробити проекти методів контролю якості (МКЯ) на сировину та одержану субстанцію.

**Об'єкт дослідження:** комплексне фармакогностичне дослідження трави та кореневищ з коренями трьох видів роду *Geum* L.: *G. urbanum* L., *G. aleppicum* Jacq., *G. rivale* L. та природних комплексів БАР.

**Предмет дослідження:** виявлення, кількісне визначення, виділення та встановлення структури БАР; вивчення фармакологічної активності сумарного поліфенольного та полісахаридних комплексів. Встановлення морфолого-анатомічних діагностичних ознак сировини *G. urbanum* L., *G. aleppicum* Jacq., *G. rivale* L., визначення запасів та оптимальних термінів заготівлі сировини *G. urbanum* L.

**Методи дослідження:** Якісний склад БАР визначали фармакопейними методами, використовуючи тонкошарову та паперову хроматографію (в різних системах розчинників та специфічні якісні реакції). Для вилучення БАР із сировини застосовували методи вибіркової рідинної екстракції, адсорбційної колонкової хроматографії на силікагелі і поліамідному сорбенті та препаративну хроматографію на папері. Будову виділених сполук встановлювали хімічними та інструментальними методами. Кількісний склад БАР визначали за допомогою УФ-спектрофотометрії, газорідинної хроматографії, високоефективної рідинної хроматографії, атомно-абсорбційної спектроскопії, хромато-мас-спектрометрії. Фармакологічні дослідження проводили *in vivo* та *in vitro*. Морфолого-анатомічний аналіз сировини вивчали за допомогою морфологічних та мікроскопічних методів дослідження. Ресурсознавчі визначення здійснювали загальноприйнятими в ботаніці методами ключових ділянок.

#### **Наукова новизна отриманих результатів.**

Вперше здійснено комплексне фармакогностичне, фармакологічне та ресурсне дослідження видів роду *Geum* L., визначено найперспективніший вид та сировину, встановлено якісний склад та кількісний вміст БАР. Із трави та кореневищ з коренями видів роду *Geum* L. виділено 18 індивідуальних сполук: 2 похідні бензойної кислоти, 5 гідроксикоричних кислот, 2 похідних

кумарину, 9 флавоноїдів. Серед них вперше для роду виділені ферулова кислота, умбеліферон, ескулетин, гіперозид, мірицетин, рутин, ціанідин та дельфінідин.

В траві та кореневищах з коренями *G. urbanum* L. визначено компонентний кількісний вміст ефірної олії, встановлено наявність 16 амінокислот, 19 макро- і мікроелементів, 4 вітамінів та 10 жирних кислот.

Відпрацьовані методики виділення із сировини полісахаридів і поліфенолів та вперше досліджено біологічну дію отриманих субстанцій. Розроблено спосіб одержання суми поліфенолів із кореневищ з коренями *G. urbanum* L., для якого визначена гостра токсичність, антимікробна, протизапальна, антиоксидантна та імуностимулююча дії.

Вперше визначені морфолого-анатомічні діагностичні ознаки рослинної сировини видів роду *Geum* L., проведено ресурсознавче дослідження *G. urbanum* L. на території Харківської області.

Новизна досліджень підтверджена патентом на корисну модель України № 49151 «Спосіб одержання суми поліфенолів з антимікробною, протизапальною та антиоксидантною дією».

**Практичне значення одержаних результатів.** Отримані дані про склад і вміст БАР сировини видів роду *Geum* L. можуть бути використані для розширення номенклатури і сировинної бази офіційних лікарських рослин та отримання нових фітокомплексів. Показана можливість використання найбільш перспективного виду роду *Geum* L. - *G. urbanum* L. в якості джерела БАР для створення лікарських засобів антимікробної, протизапальної, антиоксидантної та імуномодельючої дії.

- Розроблено проекти МКЯ на ЛРС – кореневища з коренями *G. urbanum* L., та на поліфенольну субстанцію під умовною назвою «Гравілатін».
- Розроблено та апробовано на ТОВ ДЗ «ДНЦЛЗ», м. Харків (акт апробації від 29.10.2009) технологію одержання субстанції «Гравілатін» із кореневищ з коренями *G. urbanum* L. Визначено термін заготівлі сировини *G. urbanum* L.
- Дані морфолого-анатомічного дослідження рослинних об'єктів використані для розробки МКЯ на лікарську рослинну сировину.
- Проведено доклінічні фармакологічні і мікробіологічні дослідження біологічних комплексів, отриманих із сировини *G. urbanum* L.
- Результати фітохімічних і морфолого-анатомічних досліджень рослин роду *Geum* L. впроваджені у навчальний процес кафедр фармакогнозії і ботаніки Національного фармацевтичного університету, Івано-Франківського національного медичного університету, Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського та Запорізького державного медичного університету.

### **Особистий внесок здобувача.**

- Особисто автором проаналізована наукова література з досліджуваної проблеми;
- визначений якісний склад та кількісний вміст основних груп БАР, зокрема дубильних речовин, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, полісахаридів, амінокислот та жирних кислот в сировині трьох видів роду *Geum* L.;
- виділено в індивідуальному стані та ідентифіковано 18 сполук різної хімічної природи;
- вивчена макро- та мікроскопічна будова трьох видів роду *Geum* L., встановлені їх анатомічні діагностичні ознаки;
- на підставі отриманих експериментальних даних розроблено проект МКЯ на кореневище з коренями *G. urbanum* L.;
- розроблено проект МКЯ на субстанцію Гравілатін;
- розроблено спосіб одержання суми поліфенолів (Гравілатін) із кореневищ з коренями *G. urbanum* L. та напрацьовано 5 серій субстанції в експериментальній фітохімічній лабораторії ТОВ ДЗ «ДНЦЛЗ», м. Харків;
- проведено ресурсознавче дослідження запасів сировини *G. urbanum* L. на території Харківської області;
- узагальнено результати досліджень та сформульовано висновки;

**Апробація результатів роботи.** Основний зміст дисертаційної роботи доповідався і обговорювався на: Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 2008, 2009, 2010), Міжнародній науково-практичній конференції «Інтродукція и селекція ароматических и лекарственных растений» (Ялта, 2009), VII Міжнародному симпозиумі з фенольних сполук «Фундаментальные и прикладные аспекты» (Москва, 2009), VIII з'їзд фармацевтичних працівників Республіки Білорусь (Вітебськ, 2010), XXVII науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ліки – людині: сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів» (Харків, 2010), Міжнародній конференції молодих вчених «Актуальні проблеми ботаніки та екології» (Ялта, 2010), VII Національному з'їзді фармацевтів України «Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України» (Харків, 2010).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 21 наукова робота, серед яких 7 статей, з яких 6 у наукових фахових виданнях, 1 патент України на корисну модель, а також 13 тез доповідей.

**Обсяг і структура дисертації.** Робота викладена на 191 сторінці, складається з вступу, огляду літератури, експериментальної частини, загальних висновків, додатків та списку використаних літературних джерел, який містить 209 найменувань, у тому числі, 41 іноземних. Робота ілюстрована 42 рисунками, 26 таблицями і включає 12 додатків.



## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У вступі обґрунтована актуальність теми, сформульовані задачі досліджень, наведені відомості про наукову новизну і практичне значення одержаних результатів.

Систематична і ботанічна характеристики, хімічний склад, використання в медицині та значення видів роду *Geum* L. у різних галузях народного господарства (Огляд літератури). Достатньо розповсюджений на території України *G. urbanum* L. відзначений як найбільш перспективне джерело БАР і може бути рекомендований для розширення бази ЛРС, а також для подальшого поглибленого фармакогностичного і фармакологічного дослідження з метою створення рослинних препаратів антимікробної, протизапальної та іншої дії.

Попереднє визначення, виділення та встановлення структури біологічно активних речовин представників роду *Geum* L. Встановлена наявність в сировині дубильних речовин, похідних кислоти бензойної, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот та кумаринів. Наведений хід виділення індивідуальних компонентів з використанням різних видів хроматографії, рехроматографії та дробної кристалізації. В результаті було виділено в індивідуальному стані та встановлена структура 18 речовин.

На підставі фізико-хімічних властивостей, хімічних перетворень, даних елементного та хроматографічного аналізу, УФ- та ІЧ-спектроскопії, молекулярної маси, якісних реакцій та порівняння з сертифікованими стандартними зразками були ідентифіковані: 2 похідні бензойної кислоти (речовини I–II), 5 похідних кислоти коричної (речовини III–VII), 2 похідних бензо- $\alpha$ -пірону (речовини VIII–IX) та 9 флавоноїдів (речовини X–XVIII).

Серед них вперше для роду *Geum* L. виділені: ферулова кислота, умбеліферон, ескулетин, гіперозид, мірицетин, рутин, ціанідин та дельфінідин. Фізико-хімічні властивості виділених речовин наведені у табл. 1.

Таблиця 1

Фізико-хімічні властивості речовин, виділених з видів роду *Geum* L.

Речовина	Хімічна назва	Т. пл., °С	Оптична активність, °	УФ-спектр, нм	Сировина та вид*
1	2	3	4	5	6
Похідні бензойної кислоти					
I	кислота галова	250–252	-	265, 269	Тр.,* крщ.** 1, 2, 3.
II	кислота елагова	358 розкл.	-	260, 345	Тр., крщ. 1, 3.
Похідні коричної кислоти					
III	кислота кофейна	193–195	-	240, 310	Тр. 1, 2, 3. Крщ. 1, 3.

## Продовження таблиці 1

1	2	3	4	5	6
IV	кислота ферулова	167–170	-	290, 340 -	Тр. 1, 2, 3. Крщ. 1, 3.
V	кислота хлорогенова	201–204	-32,8 (метанол)	230, 320 -	Тр. 1, 2, 3. Крщ. 1, 3.
VI	кислота неохлорогенова	аморф.	+2,6 (етанол)	245, 325	Тр. 1, 2, 3. Крщ. 1, 3.
VII	кислота ізохлорогенова	аморф.	-	-	Тр. 1, 2, 3. Крщ. 1, 3.
Похідні бензо- $\alpha$ -пірону (кумарини)					
VIII	умбеліферон	229–231	-	320, 250	Тр. 1, 2, 3.
IX	ескулетин	268–271	-	235, 260, 300, 350	Тр. 1, 2, 3.
Флавоноїди					
X	кемпферол	273–275	-	368, 258	Тр., крщ. 1, 2, 3.
XI	кверцетин	309–311	-	375, 257	Тр., крщ. 1, 2, 3.
XII	гіперозид	235–237	-60 (метанол)	361, 258	Тр., крщ. 1, 2, 3.
XIII	мірицетин	350–354	-	375, 255	Тр., крщ. 1, 2, 3.
XIV	рутин	187-190	-33 (етанол)	362, 258	Тр., крщ. 1, 2, 3.
Катехіни					
XV	(+)-епікатехін	243-245	-60,8 (етанол)	-	Крщ. 1, 2, 3.
XVI	(+)-катехін	174-176	-13,4 (метанол)	-	Крщ. 1, 2, 3.
Антоціани					
XVII	ціанідин	215-217	-	535	Тр., крщ. 1, 3.
XVIII	дельфінідин	182-183	-	544	Тр., крщ. 1, 3.

Примітки: \*Тр. – трава; \*\*крщ. – кореневище з коренями; 1 – *G. urbanum*; 2 – *G. aleppicum*; 3 – *G. rivale*;



**Кількісне визначення деяких біологічно активних речовин, виділених з рослин роду *Geum* L.** Кількісний вміст флавоноїдів (в перерахунку на рутин) та гідроксикоричних кислот (в перерахунку на хлорогенову кислоту) визначався спектрофотометричним методом (рис. 1).

Отримані дані свідчать, що найбільшу суму флавоноїдів містить трава, а максимальний вміст гідроксикоричних кислот спостерігається в підземній частині досліджуваних видів.

Суму окислювальних фенолів визначали перманганатометричним (ДФ XI) та комплексонометричним методами (в перерахунку на танін).

Отримані дані щодо кількісного вмісту дубильних речовин та окислювальних фенолів у траві та кореневищах з коренями рослин роду *Geum* L. наведені в табл. 2.

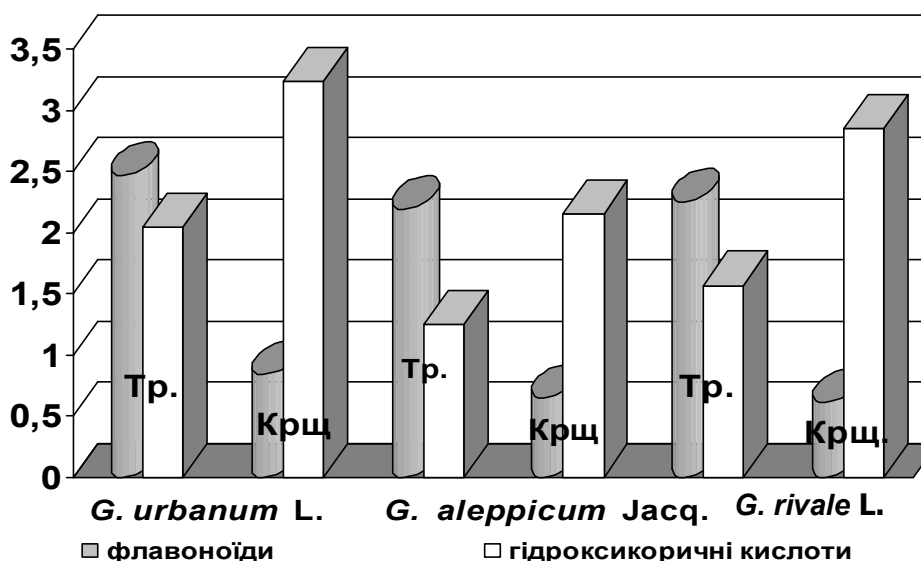


Рис. 1. Кількісний вміст флавоноїдів і гідроксикоричних кислот в вегетативних органах видів роду *Geum* L.

Таблиця 2

Кількісний вміст окислювальних фенолів та дубильних речовин у вегетативних органах рослин роду *Geum* L.

Вид	Сировина	Вміст окислювальних фенолів, %*	
		Перманганатометрія	Комплексонометрія
<i>G. urbanum</i>	Трава	11,81±0,15	4,50±0,13
	Крщ. **	29,14±0,16	15,75±0,14
<i>G. aleppicum</i>	Трава	10,30±0,18	3,86±0,10
	Крщ.	17,32±0,25	8,59±0,13
<i>G. rivale</i>	Трава	9,32±0,20	4,34±0,10
	Крщ.	22,14±0,16	9,00±0,09

Примітки: \* – n = 6, у перерахунку на абсолютно суху сировину, \*\* крщ. – кореневище з коренями;

Таким чином, за вмістом дубильних речовин кореневища з коренями *G. urbanum* L., *G. aleppicum* Jacq. і *G. rivale* L. можна віднести до танідоносною рослинної сировини.

Жирнокислотний склад ліпофільної фракції *G. urbanum* L. аналізували методом газорідинної хроматографії за допомогою газорідинного хроматографа «Хром-5». Таблиця 3 демонструє, що із 10 визначених жирних кислот найбільшу кількість складають пальмітинова, лінолева та ліноленова.

Таблиця 3  
Жирнокислотний склад ліпофільної фракції вегетативних органів  
*G. urbanum* L.

№ п/п	Жирні кислоти	Вміст жирних кислот*, мг% (n=6)	
		Трава	Крщ.**
1	Стеаринова (C <sub>18</sub> )	10,77	7,56
2	Олеїнова (C <sub>18</sub> )	15,51	18,33
3	Пальмітинова (C <sub>16</sub> )	38,64	37,43
4	Лінолева (C <sub>18</sub> )	24,31	27,67
5	Ліноленова (C <sub>18</sub> )	22,42	19,21
6	Арахідонова (C <sub>20</sub> )	2,57	Сліди
7	Тридеканова(C <sub>13</sub> )	2,72	3,53
8	Пентадеканова(C <sub>15</sub> )	1,62	3,21
9	Міристинова (C <sub>14</sub> )	4,53	5,54
10	Лауринова (C <sub>12</sub> )	3,62	2,21

Примітка: \* – у перерахунку на абсолютно суху сировину; \*\* крщ. – кореневище з коренями;

Для якісного та кількісного вивчення амінокислот використовували високоефективну рідинну хроматографію, запропоновану Штейном і Муром із застосуванням автоматичного аналізатора Т-339 (Чехія). Дані аналізу свідчать про наявність не менше 16 амінокислот, 8 з яких є незамінними. Присутня значна кількість глютамінової та аспарагінової амінокислот, аланіну, аргініну, лейцину та проліну (табл. 4).

Таблиця 4  
Кількісний вміст амінокислот у вегетативних органах *G. urbanum* L.

Вміст амінокислот,*мг %	Досліджені органи	
	Трава	Кореневище з коренями
1	2	3
Аспарагінова кислота	1,18	1,15
Треонін	0,75	0,62
Серин	0,91	0,75

1	2	3
Глютамінова кислота	2,60	1,55
Пролін	1,06	0,95
Гліцин	0,65	0,55
Аланін	1,25	1,02
Валін	0,19	0,53
Метіонін	0,27	0,30
Ізолейцин	0,58	0,42
Лейцин	1,23	1,08
Тирозин	0,53	0,45
Фенілаланін	0,81	0,50
Гістидин	0,22	0,20
Лізін	0,95	0,94
Аргінін	1,15	0,95
<b>Сума амінокислот</b>	<b>14,33</b>	<b>11,96</b>

Примітка: \* – у перерахунку на абсолютно суху сировину;

Макро- і мікроелементний аналіз, проведений на атомно-абсорбційному спектрофотометрі ААС – 30 (фірми «Karl Zeiss Jena», Німеччина), показав значний вміст Si, P, Mg, Ca, Fe, Zn и Cu. З макроелементів у сировині переважає К. (табл. 5). Вміст таких токсичних елементів, як кобальт, кадмій, арсен і плумбум, перебуває в межах гранично допустимих концентрацій для сировини та харчових продуктів.

Таблиця 5

Вміст макро- та мікроелементів у сировині *G. urbanum* L.

№ п/п	Елементи	Вміст у сировині (n = 6)*, мг/100г		№ п/п	Елементи	Вміст у сировині (n = 6)*, мг/100г	
		Трава	Крщ.**			Трава	Крщ.**
				10	Mn	6	10
1	K	3360	1730	11	Zn	3	60
2	Ca	1010	920	12	Cu	0,6	3
3	Mg	340	350	13	Ni	0,2	0,6
4	Si	670	980	14	Mo	0,06	0,2
5	P	170	180	15	Pb	0,06	0,3
6	Fe	130	230	16	Co	<0,03	<0,03
7	Al	110	140	17	Cd	<0,01	<0,01
8	Na	70	140	18	As	<0,01	<0,01
9	Sr	60	80	19	Hg	<0,03	<0,01

Примітки: \* n – кількість досліджуваних зразків сировини; \*\* крщ. – кореневище з коренями;

Виділені з трави та кореневищ з коренями *G. urbanum* L. полісахаридні комплекси охарактеризовані за моносахаридним складом, кількісним вмістом кислих та нейтральних цукрів.

Отримані дані свідчать про те, що *G. urbanum* L. може бути використаний як перспективна лікарська рослина.

**Одержання біологічно активних комплексів з рослин роду *Geum* L. Вивчення фармакологічної активності одержаних фітокомплексів.** Беручи до уваги, що *G. urbanum* розповсюджений по всій території України і має достатні запаси сировини, ми зосередили подальші дослідження саме на його підземних органах, а також розробці способу отримання субстанції з максимальним вмістом поліфенольних речовин, під умовною назвою – «Гравілатін», технологічна схема якої представлена на рис. 2 і апробована в умовах експериментальної фітохімічної лабораторії ТОВ ДЗ «ДНЦЛЗ», м. Харків, та захищена патентом на корисну модель України № 49151 «Спосіб одержання суми поліфенолів з антимікробною, протизапальною та антиоксидантною активністю».

Дослідження антимікробної активності фітокомплексів проводили на базі інституту мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України під керівництвом зав. лабораторією біохімії мікроорганізмів та поживних середовищ ст. н. с., к. б. н. Т.П. Осолодченко за методами серійних розведень та дифузії в агар.

Вивчені сухі екстракти, а також різноманітні фракції полісахаридів з трави та кореневищ з коренями рослин роду *Geum* L. на антимікробну дію по відношенню до основних збудників хвороб (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Proteus aeruginosa*, *Bacillus subtilis*) та антифунгальну дію по відношенню до *Candida albicans*.

Отримані дані свідчать про те, що усі 4 полісахаридних комплекси відрізняються обсягом та рівнем антимікробної активності. Діапазон її дуже широкий та проявляється у вигляді зон затримки росту від 11 до 26 мм. Низький рівень активності встановлений для фракцій пектинових речовин і геміцелюлоз, які пригнічують ріст тільки стафілококу, кишкової палички та протею. Найбільш широкий спектр антимікробної та антифунгальної активності має 50% спиртовий екстракт із кореневищ з коренями *G. urbanum* L. В досліджах *in vitro*, які проводилися в лабораторії імунореабіталогії під керівництвом ст. н. с., к. б. н. Н.І. Ігумнової за відомими методиками, Гравілатін виявив себе як стимулятор клітинної ланки імунітету.

Фармакологічні дослідження Гравілатину проводилися на кафедрі біохімії НФаУ під керівництвом д. біол. н., професора Л. М. Вороніної. Протизапальну активність Гравілатину вивчали на моделі гострого запального набряку, викликаного субплантарним введенням у задню лапку щура 1% розчину карагеніну. Експериментально встановлена доза Гравілатину, що проявляє найбільшу протизапальну активність і становить 50 мг/кг.



В результаті фармакологічних досліджень встановлено, що Гравілатін за класифікацією К. К. Сидорова відноситься до практично нетоксичних речовин і має антимікробну, протизапальну, антиоксидантну та імуномодулюючу дії.

**Морфолого-анатомічні дослідження вегетативних органів видів роду *Geum* L. та ресурси *Geum urbanum* L.** Встановлені видоспецифічні, а також спільні для роду анатомічні ознаки (дорзовентральна амфістоматична будова листової пластинки; аномоцитний тип продихового апарату; наявність простих і залозистих трихом; однопучкова центральна жилка).

Визначені морфологічні і анатомічні діагностичні ознаки кореневищ з коренями – *G. urbanum* L., що пропонуються у якості лікарської рослинної сировини для отримання біологічно активної субстанції «Гравілатін». На основі отриманих даних складені проекти розділів МКЯ «Зовнішні ознаки» і «Мікроскопія» для кореневищ з коренями *G. urbanum* L. – «*Rhizomata cum radicibus Gei urbani*».

Встановлені запаси сировини у Харківській області, та обсяг щорічного використання.

У зв'язку з тим, що врожайність кореневищ з коренями *G. urbanum* L. у природних ценозах складає 8-115 кг/га, природне відновлення відбувається важко і зустрічається далеко не у всіх популяціях ми пропонуємо вирощування в культурі на великих площах, що дасть можливість застосовувати агротехніку і дозволить одержати більш дешеву сировину, ніж при заготівлі в природі. Крім того, біологічна продуктивність *G. urbanum* L. в умовах культури на плантаціях сягає 50-600 кг/га кореневищ з коренями, що майже у 6 разів більше від продуктивності природних популяцій виду. Тому плантації *G. urbanum* L. можуть бути стабільним джерелом цінної лікарської сировини для промисловості і здатні служити гарантом збереження природних популяцій виду та його біологічного ресурсного потенціалу.

## ВИСНОВКИ

1. Вперше проведено комплексне фармакогностичне дослідження трави і кореневищ з коренями трьох видів роду *Geum* L. – *G. urbanum* L., *G. aleppicum* Jacq., *G. rivale* L., з метою використання їх в якості лікарської рослинної сировини. Визначено найбільш перспективний вид та сировину, розроблено субстанцію Гравілатін для подальшого використання в медичній практиці.

2. В індивідуальному стані із трави і кореневищ з коренями трьох видів роду *Geum* L. виділено 18 сполук. На підставі хімічних та інструментальних досліджень встановлено структуру цих речовин: *Похідні бензойної кислоти*: галова, елагова; *Похідні коричної кислоти*: кофейна, ферулова, хлорогенова, неохлорогенова, ізохлорогенова; *Кумарини*: умбеліферон, ескулетин; *Флавоноїди*: кемпферол, кверцетин, гіперозид, мірицетин, рутин; *Катехіни*: (-)-епікатехін, (+)-катехін; *Антоціани*: ціанідин, дельфінідин. З них речовини кислота ферулова, умбеліферон, ескулетин,



гіперозид, мірицетин, рутин, ціанідин, дельфінідин вперше виділені з досліджуваної сировини.

3. Визначений кількісний вміст біологічно активних сполук дубильних речовин, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот у вегетативних органах *G. urbanum* L., *G. aleppicum* Jacq., *G. rivale* L., що вказує на доцільність комплексного використання сировини. Встановлено оптимальні терміни заготівлі рослинної сировини *G. urbanum* L.

4. В траві та кореневищах з коренями *G. urbanum* L. вперше методом газової хромато-мас-спектрометрії визначені наявність та кількісний вміст компонентів ефірної олії; методом газорідинної хроматографії 10 жирних кислот; методом вискоефективної рідинної хроматографії на автоматичному аналізаторі 16 амінокислот; методом атомно-абсорбційного спектрального аналізу – 19 макро- та мікроелементів; каротиноїдів, тіаміну, рибофлавіну та аскорбінової кислоти.

5. Із трави та кореневищ з коренями *G. urbanum* L. одержані і охарактеризовані за мономірним складом та біологічними властивостями фракції спирторозчинних цукрів, водорозчинних полісахаридів, пектинових речовин та геміцелюлоз. Визначений кількісний вміст відновлюючих та кислих цукрів у полісахаридних фракціях.

6. В результаті мікробіологічних досліджень сухих екстрактів і фракцій полісахаридів з надземної та підземної частин рослин роду *Geum* L. встановлена їх антимікробна активність. Розроблено технологію одержання суми поліфенольних сполук із кореневища з коренями *G. urbanum* L. під умовною назвою «Гравілатін», та доведено, що субстанція відноситься до практично нетоксичних речовин і має антимікробну, протизапальну, антиоксидантну та імуномодулюючу дії.

7. Вперше проведено порівняльне морфолого-анатомічне дослідження видів роду *Geum* L.: *G. urbanum* L., *G. aleppicum* Jacq., *G. rivale* L. Встановлено спільні для роду та видоспецифічні морфологічні і анатомічні ознаки.

8. Розроблено проекти МКЯ на ЛРС «Кореневища з коренями гравілату міського» та субстанцію «Гравілатін». Визначені ресурси та запас сировини *G. urbanum* L. в Харківській області.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ ДИСЕРТАЦІЇ ВИКЛАДЕНИЙ У РОБОТАХ

1. Козира С. А. Вивчення хімічного складу надземної та підземної частин *Geum urbanum* L. / С. А. Козира, М. А. Кулагіна, А. Г. Сербін // Фармац. часопис. – 2008. – № 3(7). – С. 95–97. (Особистий внесок здобувача – проведення експериментальних досліджень, узагальнення результатів, написання статті).

2. Козира С. А. Отримання фітокомплексів з рослин роду *Geum* L. та вивчення їх фармакологічної дії / С. А. Козира, М. А. Кулагіна, А. Г. Сербін // Фармац. часопис. – 2009. – № 4(12) – С. 90–93. (Особистий внесок здобувача – участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення результатів, участь у написанні статті).

3. Козира С. А. Жирнокислотний та амінокислотний склад *Geum urbanum* L. / С. А. Козира, М. А. Кулагіна, А. Г. Сербін // Запорожский мед. журн. – 2008. – № 1. – С. 130–131. (Особистий внесок здобувача – участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення результатів, участь у написанні статті).

4. Козира С. А. Хімічний склад та використання в медицині рослин роду *Geum* L. / С. А. Козира, М. А. Кулагіна, А. Г. Сербін // Запорожский мед. журн. – 2008. – № 2. – С. 80–82. (Особисто здобувачем здійснено аналіз джерел літератури, узагальнено матеріал, підготовлено статтю).

5. Анатомічне вивчення вегетативних органів *Geum urbanum* L. / С. А. Козира, Л. М. Сіра, А. Г. Сербін, М. А. Кулагіна // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології : зб. наук. пр. – К. ; Луганськ, 2009 – Вип. 8(95). – С. 43–51. (Особисто здобувачем проводилися анатомічні дослідження, узагальнення результатів, написання статті).

6. Козира С. А. Одержання екстрактів з трави і кореневища гравілату міського (*Geum urbanum* L.) та вивчення їх імуностимулюючої дії / С. А. Козира, А. Г. Сербін, М. А. Кулагіна // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології : зб. наук. пр. – К. ; Луганськ, 2010 – Вип. 1(97). – С. 349–356. (Особистий внесок здобувача – участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення результатів, участь у написанні статті).

7. Козыра С. А. Изучение состава эфирного масла подземных органов *Geum urbanum* L. / С. А. Козыра, М. А. Кулагина, А. Г. Сербин // Сборник мат. VIII съезда фармацевтов Республики Беларусь. – Витебск, 2010. – С. 215–218. (Особистий внесок здобувача – участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальнення результатів, участь у написанні статті).

8. Козира С. А. Хімічне вивчення рослин роду *Geum* L., що зростають в Україні / С. А. Козира // Актуальні питання створення нових лікарських засобів : матеріали всеукр. наук.–практ. конф. студ. та молодих вчених, м. Харків, 16–17 квіт. 2008 р. – Х., 2008. – С. 61.

9. Козира С. А. Вітамінний склад надземної та підземної частини *Geum urbanum* L. (Гравілат міський) / С. А. Козира, В. М. Слухай, М. А. Кулагіна // Актуальні питання створення нових лікарських засобів : матеріали всеукр. наук.–практ. конф. студ. та молодих вчених, м. Харків, 16–17 квіт. 2008 р. – Х., 2008. – С. 89.

10. Козира С. А. Дослідження мікроелементного складу гравілату міського / С. А. Козира, А. Г. Сербін // Актуальні питання створення нових лікарських засобів : матеріали всеукр. наук.–практ. конф. студ. та молодих вчених, м. Харків, 16–17 квіт. 2008 р. – Х., 2008. – С. 62.

11. Козира С. А. Морфологічне вивчення представників роду *Geum* L., що зростають в Україні / С. А. Козира, М. А. Кулагіна, А. Г. Сербін // Сьогодення та майбутнє фармації : тез. доп. Всеукр. конгр., м. Харків, 16–19 квіт. 2008 р. – Х., 2008. – С. 147.

12. Козира С. А. Отримання полісахаридних комплексів із *Geum urbanum* та вивчення їх антимікробної активності / С. А. Козира, А. Г. Сербін, О. В. Радько // Актуальні питання створення нових лікарських засобів : матеріали всеукр. наук.–практ. конф. студ. та молодих вчених, м. Харків, 23–24 квіт. 2009 р. – Х., 2009. – С. 50.

13. Козира С. А. Вивчення протизапальної активності фітокомплексів, отриманих із трави та кореневища *Geum urbanum L.* / С. А. Козира, А. І. Шкапо, А. Г. Сербін // Актуальні питання створення нових лікарських засобів : матеріали всеукр. наук.–практ. конф. студ. та молодих вчених, м. Харків, 23–24 квіт. 2009 р. – Х., 2009. – С. 91.

14. Kozuya S. A. Study of phenolic connections in plants of *Geum L.* sort / S. A. Kozuya, M. A. Kulagina, A. G. Serbin // VII международный симпозиум по фенольным соединениям: фундаментальные и прикладные аспекты : материалы симп., г. Москва, 19-23 окт. 2009 г. – М., 2009. – С. 297–298.

15. Козира С. А. Хімічний склад, властивості та морфолого–анатомічні ознаки трави *Geum urbanum L.* / С. А. Козира, Л. М. Сіра, А. Г. Сербін // Интродукция и селекция ароматических и лекарственных растений : тез. докл., 8–12 июня 2009 г. – Ялта, 2009. – С. 74.

16. Козира С. А. Одержання суми поліфенолів з вегетативних органів *Geum urbanum L.* та вивчення її антифунгальної активності / С. А. Козира, М. А. Кулагіна, А. Г. Сербін // Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів : матеріали XXVII наук.–практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 4 лют. 2010 р. – Х., 2010. – С. 62.

17. Козира С. А. Якісний та кількісний газохроматографічний аналіз ефірної олії трави *Geum urbanum L.* / С. А. Козира, М. А. Кулагіна, А. Г. Сербін // Актуальні питання створення нових лікарських засобів : матеріали всеукр. наук.–практ. конф. студ. та молодих вчених. – Х. : НФаУ, 2010. – С. 60.

18. Козира С. А. Вміст дубильних речовин у різних органах рослин роду *Geum L.* / С. А. Козира, А. І. Шкапо // Актуальні питання створення нових лікарських засобів : матеріали всеукр. наук.–практ. конф. студ. та молодих вчених. – Х. : НФаУ, 2010. – С. 116.

19. Пат. 49151. Україна, МПК (2009) А 61К36/73. Спосіб одержання суми поліфенолів з антимікробною, протизапальною та антиоксидантною дією / Козира С. А., Сербін А. Г., Кулагіна М. А., Радько О. В., Вороніна Л. М., Осолодченко Т. П.; власник Національний фармацевтичний університет. – № u 200908922; заявл. 27. 08. 2009; опубл. 26.04.2010, Бюл. № 8. (Здобувачем особисто здійснено патентно-інформаційний пошук, отримано сумарний поліфенольний комплекс, участь в експериментальних дослідженнях на антимікробну, протизапальну та антиоксидантну дію, участь у написанні патенту).

20. Kozuya S. A. Phytochemical investigation of genus plants of Ukrainian flora / S. A. Kozuya // Актуальні проблеми ботаніки та екології : матеріали докл. міжнар. конф. молодих учених, 21–25 верес. 2010 р. – Ялта, 2010. – С. 451–452.

21. Козира С. А. Вивчення мінерального складу трави та кореневища *Geum urbanum* L. / С. А. Козира, М. А. Кулагіна, А. Г. Сербін // Фармація України. Погляд у майбутнє : матеріали VII Нац. з'їзду фармацевтів України, 15-17 верес. 2010 р. – Х. : НФаУ, 2010. – С. 285.

## АНОТАЦІЯ

**Козира С. А. Фармакогностичне дослідження рослин роду *Geum* L.** – Рукопис. Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. – Національний фармацевтичний університет, Харків, 2010.

Проведено комплексне фармакогностичне вивчення трави та кореневища з коренями трьох видів роду *Geum* L.: *G. urbanum* L., *G. aleppicum* Jacq., *G. rivale* L. З досліджених видів виділено і встановлено структуру 18 індивідуальних сполук, з яких: дві – похідні бензойної кислоти, п'ять – похідні гідроксикоричних кислот, два – кумарини, дев'ять – флавоноїдів. Визначені наявність та кількісний вміст амінокислот, жирних кислот, вітамінів, макро- та мікроелементів та компонентів ефірної олії рослинної сировини *G. urbanum* L.

Проведено порівняльне морфолого-анатомічне вивчення видів роду *Geum* L. на основі яких розроблено проект МКЯ «Кореневище з коренями гравілату міського». Визначено кількісний вміст біологічно активних речовин та проведено доклінічні фармакологічні дослідження біологічних комплексів, отриманих з сировини рослин роду *Geum* L.

Розроблено спосіб одержання з кореневищ з коренями *G. urbanum* L. сумарної поліфенольної субстанції під умовною назвою «Гравілатін» з антимікробною, протизапальною та антиоксидантною дією.

**Ключові слова:** *G. urbanum* L., *G. aleppicum* Jacq., і *G. rivale* L., фармакогностичне вивчення, біологічно активні речовини, субстанція Гравілатін, антимікробна, протизапальна, антиоксидантна активність.

## АННОТАЦИЯ

**Козыра С. А. Фармакогностическое исследование растений рода *Geum* L.** – Рукопись. Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. – Национальный фармацевтический университет, Харьков, 2010.

Проведено комплексное фармакогностическое исследование травы и корневищ с корнями *G. urbanum* L., *G. aleppicum* Jacq., *G. rivale* L. Установлено наличие дубильных веществ, производных бензойной кислоты, флавоноидов, гидроксикоричных кислот, кумаринов, углеводов, аминокислот, жирных кислот и микроэлементов, что свидетельствует о перспективности данных видов. Впервые в индивидуальном состоянии из травы и корневищ с корнями видов *G. urbanum* L., *G. aleppicum* Jacq.,



*G. rivale* L. выделено 18 веществ из которых: два – производные бензойной кислоты; пять – производные гидроксикоричной кислоты; два – производные бензо- $\alpha$ -пирона; девять – флавоноидов. В сырье трех видов гравилата определены дубильные вещества, окисляемые фенолы, флаваноиды и гидроксикоричные кислоты. Установлены оптимальные сроки заготовки растительного сырья для *G. urbanum* L.

Изучен жирнокислотный состав травы и корневищ с корнями *G. urbanum* L. Отмечено, что из 10 определенных жирных кислот преобладают пальмитиновая, линолевая и линоленовая. В исследуемом сырье *G. urbanum* L. определен качественный состав и количественное содержание аминокислот. Установлено высокое содержание глутаминовой и аспарагиновой кислот, аланина, аргинина, лейцина и пролина. Также в исследуемом сырье определён качественный и количественный компонентный состав эфирного масла и витаминов.

Результаты исследования количества микроэлементов, содержащихся в траве и корневищах с корнями *G. urbanum* L., показали наличие не менее 19 элементов. Наибольшее содержание Si, P, Mg, Ca, Fe, Zn и Cu. Из макроэлементов - превалирует К.

Разработан способ получения суммы полифенольных соединений из корневищ с корнями *G. urbanum* L. под условным названием «Гравилатин». Технология апробирована в условиях экспериментальной фитохимической лаборатории на ООО «Опытный завод ГНЦЛС», г. Харьков, и защищен патентом Украины № 49151 от 26.04.2010 «Способ получения суммы полифенолов с антимикробным, противовоспалительным и антиоксидантным действием».

Из травы и корневищ с корнями трех видов рода *Geum* L. получены и охарактеризованы по мономерному составу фракции полисахаридов: спирторастворимых сахаров (СС), водорастворимых полисахаридов (ВРПС), пектиновых веществ (ПВ) и гемицеллюлозы (ГЦ). Определено количественное содержание нейтральных и кислых сахаров в полисахаридных фракциях.

Фармакологические исследования, проведенные на кафедре биохимии НФаУ под руководством д. биол. н., профессора Ворониной Л.Н. показали, что Гравилатин, который относится к практически нетоксичным веществам, проявляет противовоспалительную и антиоксидантную активность.

Исследованиями проведенными на базе института микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова АМН Украины под руководством с. н. с., к. б. н. Игумновой Н.И. и Осолодченко Т.П. установлено, что Гравилатин в опытах *in vitro* проявляет иммуномодулирующую активность, обладает антимикробным действием по отношению к основным возбудителям инфекций (*S. aureus*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*) и антифунгальным действием по отношению к *C. albicans*.

Изучено анатомическое строение, выявлены диагностические признаки травы и корневищ с корнями трех видов рода *Geum* L. Установленные морфологические и анатомические диагностические признаки корневищ с корнями *G. urbanum* L., использованы при разработке соответствующих

разделов проекта МКК «Корневище с корнями гравилата городского» и «Гравилатин». Определены ресурсы и запасы сырья *G. urbanum* L. в Харьковской области.

**Ключевые слова:** *G. urbanum* L., *G. aleppicum* Jacq. и *G. rivale* L., фармакогностическое изучение, биологически активные вещества, субстанция Гравилатин, антимикробная, противовоспалительная, антиоксидантная активность.

## SUMMARY

**Kozyra S.A. Pharmacognosical study of plants of *Geum* L. genus** – the Manuscript. Thesis for a candidate of pharmaceutical science degree by speciality 15.00.02 – pharmaceutical chemistry and pharmacognosy. – National University of Pharmacy, Kharkov, 2010.

A comprehensive pharmacognosical study of a grass and a rhizome with roots of *G. urbanum* L., *G. aleppicum* Jacq. and *G. rivale* L. is carried out. 18 individual compounds (2 derivatives of benzoic acids, 5 derivatives of hydrocinnamic acids, 2 coumarins, 9 flavonoids) are isolated and their structure is explored. The presence and the quantitative composition of aminoacids, fatty acids, vitamins, microelements, macroelements and ether oil components from a plant raw material of *G. urbanum* L. are determined.

A comparative morphological and anatomical study of the species of *Geum* L. genus has been made. It became a base for the project QCM “Avens rhizome with roots”. A quantitative determination and pre-clinical pharmacological investigations of biological complexes from plant raw materials of the species of *Geum* L. genus are carried out.

A method for obtaining of the active substance (called by «Gravilatin») of polyphenol compounds with the antimicrobial, anti-inflammatory and anti-oxidant actions from rhizomes with roots of *G. urbanum* L. is invented.

**Key words:** *G. urbanum* L., *G. aleppicum* Jacq. and *G. rivale* L., pharmacognosical study, biologically active substances, the complex Gravilatin, antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant action.