

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

ЮЩИШЕНА ОЛЬГА ВАСИЛІВНА

УДК 615.322:582.949.1

**ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ВИВЧЕННЯ НАДЗЕМНОЇ ЧАСТИНИ
ВІТЕКСУ СВЯЩЕННОГО (*VITEX AGNUS-CASTUS L.*) ТА ВІТЕКСУ
КОНОПЛЕВИДНОГО (*V. CANNABIFOLIA SIEB.*)**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

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

Харків – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Державній установі «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор
ЦУРКАН ОЛЕКСАНДР ОЛЕКСАНДРОВИЧ

Офіційні

опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
КИСЛИЧЕНКО ВІКТОРІЯ СЕРГІЇВНА,
Національний фармацевтичний університет,
завідувач кафедри хімії природних сполук

кандидат фармацевтичних наук, доцент
ТОДОРОВА ВІОЛЕТА ІВАНІВНА,
Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.
Шупика, доцент кафедри контролю якості і стандартизації
лікарських засобів

Захист відбудеться «12» лютого 2016 року о 12 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 ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4).

Автореферат розісланий «11» січня 2016 року.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
професор

В.А. Георгіянц

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. У останні роки все більшого поширення набуває лікування лікарськими засобами на основі лікарської рослинної сировини. Зазвичай такі лікарські засоби мають м'який терапевтичний ефект та не викликають ускладнень, мають широкий спектр фармакологічної дії і є низькотоксичними. Тому фітозасоби можливо застосовувати тривало, що дуже важливо для профілактики, а також терапії хронічних захворювань.

У народній медицині країн Центральної Америки, Африки та Близького Сходу вітекс священний (*Vitex agnus-castus* L.) здавна використовувався для лікування акне, порушень менструального циклу, деяких форм безпліддя та імпотенції, при клімактеричних розладах. Сьогодні за кордоном виробляються і широко використовуються засоби для регулювання рівня пролактину в крові на основі вітексу священного. Вітекс коноплевидний (*V. cannabifolia* Sieb.) - перспективна рослина для пошуку лікарських засобів антиревматичної, гепатопротекторної та седативної дії. Також вивчається можливість застосування рослин роду *Vitex* L. для розробки протипухлинних засобів.

Важливою передумовою для впровадження у фармацевтичну практику нової лікарської рослинної сировини є її успішне культивування, що дасть можливість створення вітчизняної сировинної бази нових фітозасобів. Завдяки роботам відділу нових культур Національного ботанічного саду імені М.М. Гришка НАН України вітекс священний та вітекс коноплевидний успішно культивуються в Україні, одержані 7 поколінь власної репродукції.

Тому фармакогностичне дослідження видів роду *Vitex* L., вивчення можливості використання у якості сировини для створення нових лікарських засобів з седативною, антибактеріальною, гепатопротекторною, протизапальною та іншими видами активності, розробка та впровадження в практику сучасних методів виділення, ідентифікації та кількісного визначення біологічно активних речовин є однією з найбільш актуальних задач фармацевтичної хімії та фармакогнозії.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України (Протокол № 80 від 17.04.13) і є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи ДУ «Інститут фармакології і токсикології НАМН України» «Пошук маркерів для удосконалення стандартизації лікарської рослинної сировини родин Compositae та Lamiaceae в рослинних сумішах» (Шифр роботи КП КВ 6561040, № державної реєстрації 0112U000826).

Мета і задачі дослідження. Метою роботи було фармакогностичне дослідження надземної частини вітексу священного (*V. agnus-castus*) та вітексу коноплевидного (*V. cannabifolia*), обґрунтування можливості комплексного використання сировини для одержання лікарських засобів та розробка методик контролю якості сировини *V. agnus-castus* та *V. cannabifolia*.

Відповідно до мети, були поставлені наступні **завдання**:

- провести аналіз літературних даних щодо ботанічної характеристики, розповсюдження *V. agnus-castus* та *V. cannabifolia*, хімічного складу і використання *V. agnus-castus* та *V. cannabifolia* в медицині;

- провести вивчення хімічного складу надземної частини *V. agnus-castus* та *V. cannabifolia* з використанням загальноприйнятих сучасних хімічних та фізико-хімічних методів аналізу та виявити перспективні види сировини для подальших досліджень, виділити в індивідуальному стані домінуючі сполуки та встановити їх структуру;

- визначити кількісний вміст домінуючих груп біологічно активних речовин надземної частини *V. agnus-castus* та *V. cannabifolia*, вивчити динаміку накопичення основних біологічно активних речовин в онтогенезі та встановити оптимальні терміни заготівлі сировини;

- встановити основні анатомо-діагностичні ознаки сировини вітексу священного та вітексу коноплевидного, визначити технологічні параметри перспективних видів сировини та розробити оптимальні технології одержання екстрактів, обґрунтувати можливість створення нових лікарських засобів з досліджуваної сировини шляхом скринінгових досліджень фармакологічної активності одержаної субстанції;

- на основі отриманих результатів визначення якісного складу і кількісного вмісту БАР в сировині та розроблених методик аналізу розробити показники якості для стандартизації сировини вітексу священного та вітексу коноплевидного та розробити проект МКЯ на сировину вітексу священного та вітексу коноплевидного та перспективні лікарські форми.

Об'єкт дослідження: фармакогностичне вивчення листя, стебел та суцвіть вітексу священного та вітексу коноплевидного.

Предмет дослідження: виявлення, виділення та ідентифікація БАР з листя, стебел та суцвіть вітексу священного та вітексу коноплевидного, встановлення їх кількісного вмісту, визначення оптимальних термінів заготівлі перспективної за вмістом БАР сировини, визначення діагностичних ознак анатомічної будови листя, стебел та суцвіть вітексу священного та вітексу коноплевидного, вибір оптимальної технології отримання субстанцій, встановлення біологічної активності.

Методи дослідження. Хроматографічні методи – тонкошарова (ТШХ), паперова (ПХ), рідинна (ВЕРХ), газова (ГРХ) хроматографії; хромато-мас-спектрометрія; спектрофотометрія; хімічні методи (якісні реакції, титриметрія). Елементний склад вивчали методом атомно-абсорбційної спектроскопії. Для виділення суми БАР в індивідуальному стані була використана колонкова адсорбційна хроматографія на поліаміді, целюлозі, силікагелі, препаративна хроматографія на папері і в тонкому шарі сорбенту. Хімічну будову виділених речовин встановлювали на основі їх хімічних перетворень, даних спектрального аналізу в УФ- та ІЧ-області, визначення температури плавлення та оптичної активності, кислотного, лужного та ферментативного гідролізу. Визначення біологічної активності було проведене за методиками *in vivo*.

Анатомічна будова та локалізація сполук була встановлена на препаратах з поверхні та поперечних зрізах.

Наукова новизна одержаних результатів. Проведене комплексне фармакогностичне вивчення БАР суцвіть, стебел та листя вітексу священного та вітексу коноплевидного, що зростають на території України.

У досліджених видах сировини встановлено наявність та визначено кількісний вміст вуглеводів, амінокислот, жирних кислот, гідроксикоричних та аліфатичних кислот, іридоїдів, танінів, флавоноїдів, тритерпенових сапонінів, макро- та мікроелементів, у стеблах та суцвіттях вітексу коноплевидного та вітексу священного – вперше.

У сировині вітексу священного та вітексу коноплевидного ідентифіковано 143 сполуки: 4 моноцукри, 2 іридоїди, 2 флавоноїди, 38 органічних кислот (в тому числі 4 гідроксикоричні кислоти), 2 тритерпенових сапоніни, 4 лігнани, 34 моно-, 39 сескві- та один дитерпен, а також аліфатичні спирти, альдегіди та кетон, фенол, 6 алканів та 2 похідних бензофурану. З них 20 речовин в суцвіттях, листях та стеблах вітексу священного та вітексу коноплевидного ідентифіковані вперше.

Вперше проведене вивчення накопичення БАР в листі, стеблах та суцвіттях вітексу священного та вітексу коноплевидного і визначені оптимальні терміни їх заготівлі.

Вперше одержані настойки з листя вітексу священного та вітексу коноплевидного, для яких визначена гостра токсичність та седативна активність. Для водних витяжок з листя проведені скринінгові дослідження антирадикальної та гепатопротекторної активності.

Вивчені анатомічні ознаки листя вітексу священного та вітексу коноплевидного, які були використані для діагностики лікарської рослинної сировини (ЛРС) та створення проекту МКЯ на сировину.

Отримано патент України на корисну модель № 94853 від 10.12.2014 р. «Застосування листя вітексу священного як седативного засобу».

Практичне значення одержаних результатів. Листя вітексу коноплевидного та настойка листя вітексу священного, що виявляють гепатопротекторну та седативну активності, рекомендуються для поглиблених фармакологічних досліджень. Розроблені проекти МКЯ «Вітексу священного листя» та «Вітексу коноплевидного листя», «Настойка листя вітексу священного».

Результати досліджень впроваджені у наукову роботу та навчальний процес кафедр фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії та фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету, кафедри фармації Буковинського державного медичного університету, кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету та

кафедри фармакогнозії та ботаніки Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Особистий внесок здобувача. Безпосередньо автором здійснено інформаційний пошук та аналіз літературних даних за темою дисертації; досліджено вміст основних груп БАР; проведено виділення, ідентифікація та встановлення будови індивідуальних речовин; вивчено особливості анатомічної будови листя вітексу священного та вітексу коноплевидного; фармакологічними дослідженнями доведено антирадикальну активність; розроблені проекти МКЯ «Листя вітексу священного», «Листя вітексу коноплевидного», «Настойка листя вітексу священного».

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи викладені та обговорені на IV та V Міжнародному науково-практичному конгресі студентів та молодих вчених “Актуальні проблеми сучасної медицини” (Київ, 2012, 2013), Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій Всесвітньому дню здоров’я (Київ, 2013, 2014), I Міжнародній науково-практичній конференції “Функціональні харчові продукти — дієтичні добавки — як дієвий засіб різнопланової профілактики захворювань” (Харків, 2013), V науково-практичній конференції «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2013), IX Міжнародному симпозіумі по хроматографії природних речовин (9th International Symposium on Chromatography of Natural Products «The Application of Analytical Methods for the Development of Natural Products», Lublin, Poland, 2014), I Международной научно-практической конференции «Лекарственные растения: биоразнообразие, технологии, применение» (Гродно, Беларусь, 2014).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковані 32 наукові праці, у тому числі 6 статей у наукових фахових виданнях України та 1 стаття у виданні, що включено до міжнародних наукометричних баз, 25 тез доповідей на з’їздах, симпозіумах та науково-практичних конференціях. Отримано 1 патент України на корисну модель.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 228 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів досліджень, трьох розділів експериментальних досліджень, загальних висновків, списку використаних літературних джерел, додатків. Обсяг основного тексту роботи складає 152 сторінки. Робота ілюстрована 25 рисунками та 38 таблицями. Список використаних джерел літератури включає 176 найменувань, серед яких 45 кирилицею та 131 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Розділ 1. Вітекс священний та вітекс коноплевидний: ботанічна характеристика, хімічний склад, застосування в медицині і народному господарстві (огляд літератури). Огляд літератури присвячено ботанічній характеристиці, розповсюдженню, хімічному складу та аспектам застосування в медицині та інших галузях господарства вітексу священного та вітексу коноплевидного. Оскільки вітекс коноплевидний за однією з класифікацій вважається одним з підвидів вітексу негундо, аналіз літературних даних щодо хімічного складу БАР та фармакологічної дії утруднений через можливу плутанину, викликану вживанням різних таксономічних систем. Проведений аналіз свідчить про багатий хімічний склад та широке застосування у народній медицині країн Сходу переважно листя та плодів досліджуваних рослин, проте відомостей про хімічний склад стебел, суцвіть, та, меншою мірою, листя обох видів у доступній літературі недостатньо. Тому актуальним є фармакогностичне вивчення досліджуваних рослин саме українського походження з огляду на можливі відмінності у якісному та кількісному вмісту БАР та біологічній активності.

Розділ 2. Об'єкти та методи досліджень. Об'єктами досліджень були суцвіття, листя та стебла вітексу священного *Vitex agnus-castus* L. та вітексу коноплевидного *Vitex cannabifolia* Sieb., інтродукованих у відділі нових культур Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України. Сировина була заготовлена в 2012-2013 роках у червні-серпні у наступні фази вегетації: відростання, бутонізації та цвітіння.

Розділ 3. Дослідження хімічного складу надземної частини вітексу священного та вітексу коноплевидного з виділенням і встановленням структури біологічно активних сполук. Методами ПХ, ТШХ та за допомогою якісних реакцій встановлено наявність в сировині вітексу священного та вітексу коноплевидного вуглеводів, іридоїдів, флавоноїдів, оксикоричних кислот, дубильних речовин, терпенів, сапонінів, органічних кислот, лігнанів, амінокислот. Додатково методами ВЕРХ та ГХ-МС вдалося ідентифікувати *n*-гідроксикоричну та ферулову кислоти, 34 моно-, 39- сескві- та 1 дитерпен, 23 аліфатичних та 6 ароматичних кислот.

Всього в сировині вітексу священного та вітексу коноплевидного ідентифіковано 143 сполуки: 4 моноцукри, 2 іридоїди, 2 флавоноїди, 34 монотерпени, 39 сесквітерпенів, 1 дитерпен, 38 органічних кислот, з них – 4 гідроксикоричні, 2 тритерпенові сапоніни, 4 лігнани, 6 алканів, 2 ароматичні сполуки – похідні бензофурану, фенол, 2 спирти, 1 кетон та 5 альдегідів, з них – 2 лігнани та 18 сполук терпеноїдної природи в стеблах та суцвіттях вітексу священного та вітексу коноплевидного ідентифіковані вперше.

За допомогою рідинного фракціонування, колонкової адсорбційної хроматографії та препаративної хроматографії в тонкому шарі сорбенту в індивідуальному стані з листя вітексу священного виділено і встановлено структуру 7 сполук: 1 ароматична кислота, 3 флавоноїди, 2 іридоїди та 1 дитерпен. (табл. 1).

Таблиця 1

Основні фізико-хімічні властивості речовин, виділених з листя вітексу священного

№ п/п	Речовина та її шифр	Т пл., °С	УФ-спектр, λ_{\max} , нм	R _f в системах розчинників	
				Система	R _f
1	2	3	4	5	6
1	Кастицин	186-187	206, 257, 349	1	0,97
2	Вітексілактон	148-149	240	6	0,87
				7	0,51
3	Агнузид	115	258	3	0,81
				5	0,33
				2	0,61
4	Негундозид	175	260	3	0,80
				4	0,25
5	Орієнтин	346	257, 269, 350	1	0,62
6	Вітегнозид	162	250, 280, 410	3	0,60
7	<i>n</i> -Гідроксибензойна кислота	215		7	0,62

Примітка: 1 – бутанол, кислота мурашина, вода (18:2:5); 2 – хлороформ, етилацетат (8:2); 3 - хлороформ. № 4 — метанол-етилацетат (1:9); № 5 — хлороформ-метанол (4:1); № 6 — бензен-етилацетат (8:2); № 7 — хлороформ-метанол (95:5).

Розділ 4. Визначення кількісного вмісту біологічно активних речовин. У результаті хромато-мас-спектрометричного дослідження в сировині вітексу священного ідентифіковано 17 жирних кислот, з них 10 ненасичених (до 11179,9 мг/кг, або 55,11 % від загальної маси жирних кислот), у сировині вітексу коноплевидного — 15, з них 7 ненасичених (відповідно до 5927,6 мг/кг або 63,05 %). Найвищий вміст відмічений для ліноленової кислоти – до 5,8 г/кг (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст жирних кислот залежно від виду сировини вітексу священного та вітексу коноплевидного.

№	Назва сполуки	Суцв. ВС	Листя ВС	Стебла ВС	Суцв. ВК	Листя ВК	Стебла ВК
		Вміст в мг/кг					
1	2	3	4	5	6	7	8
Насичені жирні кислоти							
1	Пентадеканова	-	-	17,3	-	-	-
2	Пальмітинова	5627,2	3254,6	1528,8	2215,2	2423,4	1145,3

Продовж. табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8
3	Гептадеканова	-	75,5	40,4	-	41,1	-
4	Стеаринова	1339,3	1177,6	391,9	630,3	772,2	314,8
5	Арахінова	365,0	356,0	224,8	173,5	190,6	113,1
6	Бегенова	147,9	90,8	241,7	51,1	45,8	81,8
7	Тетракозанова	705,6	1377,8	430,7	229,6	-	-
8	Пентакозанова	-	-	127,2	-	-	-
9	Гексакозанова	802,0	200,7	568,1	51	-	241,4
10	Хенейкозанова	118,0	-	-	-	-	-
Всього насичених		9105	6533	3570,9	3350,7	3473,1	1896,4
11	Пальмітолеїнова	177,3	466,5	60,1	179,7	472,2	131,2
12	Олеїнова	1387,3	1186,5	572,3	493,7	799	350,6
13	Лінолева	3717,2	956,6	1071,0	1759,6	1277,8	770,2
14	Ліноленова	5827,2	5714,1	1635,8	2225,3	3378,6	1260,6
15	Гексадекадіонова	-	-	150,8	83,7	-	-
16	Октадекадіонова	-	-	90,6	54,3	-	-
17	11,14-Ейкозадієнова	70,9	-	-	34,8	-	-
Всього ненасичених		11179,9	8323,7	3580,6	4831,1	5927,6	2512,6
Всього		20284,9	14857	7151,5	8181,8	9400,7	4409

Примітка: тут і далі «ВС» - вітекс священний, «ВК» - вітекс коноплевидний.

Макро- та мікроелементи досліджуваних видів сировини визначали методом атомно-абсорбційної спектроскопії.

Встановлено, що переважно у листі вітексу священного кумулюються силіцій, ферум, алюміній і цинк, вітексу коноплевидного – ферум. Характерне для останнього накопичення (у 5-15 разів вищі концентрації) у листі обох видів очевидно пов'язане з наявністю феруму у складі ферментів, які беруть участь у процесі фотосинтезу. Вміст решти елементів відрізнявся у різних видах сировини не більш як у 2 рази.

Встановлено, що у вітексу священного силіцій, ферум, цинк та алюміній кумулюються переважно у листі, стебла та листя вітексу коноплевидного накопичують алюміній. Вміст купруму у всіх зразках незначно перевищував ГДК для харчових продуктів та рослинної сировини.

Загалом із досліджуваних макроелементів у сировині вітексів переважає калій (до 1,35 г/100г), серед мікроелементів – ферум (до 37 мг/100г), а найвищий сумарний вміст мінералів характерний для стебел обох видів.

Результати дослідження ліпофільних витяжок з різних видів сировини вітексу священного та вітексу коноплевидного методом ГХ-МС показали значне переважання у сировині вітексу коноплевидного похідних каріофілену, в той час як α -пінен та 1,8-цинеол значно більше накопичуються у сировині вітексу священного. Також лише у сировині останнього були виявлені віридіфлорол та спатуленол. Для жирних спиртів помітне їх значне

переважання у листях, стеблах та суцвіттях вітексу священного. Загалом було визначено 51 сполуку, з них ідентифіковано 48, серед них 17 моно- та 11 сесквітерпенів. Також були знайдені вуглеводні та їх похідні: альдегіди, карбонові кислоти (табл. 3).

Таблиця 3

Вміст ліпофільних речовин у різних видах сировини вітексу священного та вітексу коноплевидного

№ п/п	Сполука	Кількісний вміст у мг/кг					
		Суцв. ВС	Листя ВС	Стебла ВС	Суцв. ВК	Листя ВК	Стебла ВК
1	3	4	5	6	7	8	9
Альдегіди							
1	2-Гептеналь	-	-	-	23,4	8,5	12,9
2	2,4-Гептадієналь	-	-	-	4,7	9,2	3,2
3	Нонаналь	-	-	-	2,7	1,2	0,9
Монотерпени							
4	α -Пінен	250,1	374,0	21,2	10,5	21,0	7,0
5	Сабінен	234,6	640,6	31,5	170,5	250,5	58,2
6	<i>n</i> -Цимен	15,6	22,0	7,2	4,7	3,0	2,0
7	1,8-Цинеол	339,9	962,4	85,0	20,3	5,1	11,3
8	β -Фелландрен	83,4	20,1	14,4	6,1	48,8	2,9
9	γ -Терпінен	7,0	15,3	-	5,0	5,1	1,9
10	<i>транс</i> -Сабіненгідрат	8,9	22,3	-	-	-	-
11	Терпінолен	-	-	-	1,2	1,3	-
12	Дегідросабінакетон	-	-	-	4,9	8,0	1,4
13	<i>транс</i> -Оцимен	13,7	21,1	-	-	-	-
14	Сабінакетон				3,2	5,4	1,2
15	Пінокарвон	26,1	54,3	5,8	4,3	8,6	2,6
16	δ -Терпінеол	12,8	22,0	-	-	-	-
17	α -Туйєналь	-	16,6	-	9,2	15,2	2,5
18	Міртеналь	-	-	-	1,9	3,4	-
19	α -Терпінеол	-	11,1	-	-	-	-
20	2-Деценаль	9,4	10,1	10,7	9,2	7,2	6,1
21	α -Терпінілацетат	16,4	21,3	-	-	-	1,3
Сесквітерпени							
22	β -Бурбонен	-	-	-	-	4,4	-
23	β -Елемен	-	-	-	13,4	10,2	-
24	Аромандрен	87,2	71,7	12,1	-	5,6	-
25	β -Селінен	-	-	-	83,1	18,5	7,9
26	Каріофілла-2(12),5-дієн-13-аль	-	-	-	232,8	115,4	53,0
27	Спатуленол	41,8	43,5	33,2	-	-	-
28	Каріофіленоксид	23,8	-	-	156,4	47,7	20,4
29	Каріофіла-2(12),6-дієн-5-он	-	-	-	35,2	17,4	9,4
30	Віридіфлорол	48,7	33,4	5,4	-	-	-
31	Гексагідрофарнезилацетон	-	-	12,9	-	15,4	9,0

Продовж. табл. 3

1	3	4	5	6	7	8	9
32	Маноїлоксид	-	-	40,9	-	-	-
Дитерпен							
33	Неофітадієн	-	50,4	17,6	-	30,1	14,5
Жирні кислоти							
34	Пальмітинова Кислота	614,2	479,1	361,7	221,4	165,9	199,1
35	Лінолева Кислота	-	-	181,5	-	77,9	103,7
36	Олеїнова Кислота	-	390,0	-	-	-	-
37	Стеаринова Кислота	-	-	70,2	-	-	34,2
38	Міристинова кислота	-	-	-	-	11,6	7,1
Алкани							
39	Трикозан	-	-	40,7	-	-	11,5
40	Пентакозан	-	-	44,6	-	-	43,7
41	Гептакозан	81,5	-	26,8	86,9	7,8	18,3
42	Нонакозан	129,9	41,5	51,0	149,0	16,6	32,2
43	Унтріаконтан	291,4	322,1	353,1	260,0	34,0	91,1
44	Тритриаконтан	339,0	468,0	360,0	277,7	-	101,3
Естери монокарбонових насичених кислот							
45	Метилтетракозаноат	-	-	39,5	-	-	-
46	Метилгексакозаноат	266,8	113,0	238,7	-	-	19,3
47	Метилоктакозаноат	357,3	213,3	444,1	27,2	-	21,2
48	Метилтриаконтаноат	104,1	55,8	142,2	16,0	48,0	11,7

Методом ВЕРХ було визначено 17 сполук, які за УФ-спектрами віднесені до класу поліфенолів, 7 іридоїдів, 4 флавоноїди та 6 гідроксикоричні кислоти. З них було ідентифіковано та обчислено кількісний вміст двох флавоноїдів — орієнтину та кастицину, двох гідроксикоричних кислот — кофейної та ферулової, а також іридоїдів аукубіну та агнузиду. Серед флавоноїдів встановлено значне переважання орієнтину, вміст якого у різних видах сировини складає 0,66 - 2,09 %, і його питома маса у листі вітексу священного складає до 95 % від сумарного вмісту флавоноїдів (табл. 4).

Таблиця 4

Кількісний вміст індивідуальних сполук у різних видах сировини вітексу священного та вітексу коноплевидного, визначених методом ВЕРХ

Сполука	Кількісний вміст в перерахунку на суху сировину, %					
	Суцв. ВС	Листя ВС	Стебла ВС	Суцв. ВК	Листя ВК	Стебла ВК
Кофейна кислота	0,038	0,037	0,023	0,057	0,058	0,043
Ферулова к-та	0,253	0,318	0,045	0,206	0,211	0,060
Орієнтин	1,000	2,090	0,215	1,802	1,852	0,664
Кастицин	0,054	0,077	0,006	0,004	0,004	3×10^{-4}
Аукубін	0,004	0,002	6×10^{-4}	0,004	0,004	8×10^{-4}
Агнузид	0,007	0,013	0,003	0,008	0,009	0,003

Кількісний вміст ВРПС, пектинових речовин та геміцелюлоз визначали спектрофотометричним методом, також вміст ВРПС визначали гравіметричним методом за фармакопейною методикою. У досліджуваній сировині переважають ВРПС, причому результати гравіметричного визначення були на 10-25 % вищими за результати визначення методом УФ-спектрофотометрії. Результати наведені в таблиці 5.

Таблиця 5

Вихід полісахаридів за фракціями з листя, стебел та суцвіть вітексу священного та вітексу коноплевидного

№ п/п	Сировина	Вихід, %, у перерахунку на абсолютно суху сировину				
		ВРПС		ПР	ГЦ А	ГЦ Б
1.	Суцвіття ВС	3,10 ¹	3,87	2,78	1,06	0,13
2.	Листя ВС	3,61 ¹	4,47	3,76	1,07	0,15
3.	Стебла ВС	4,55 ¹	6,03	2,23	0,88	0,10
4.	Суцвіття ВК	4,45 ¹	4,91	2,86	2,33	0,21
5.	Листя ВК	5,05 ¹	5,78	3,25	2,26	0,23
6.	Стебла ВК	2,50 ¹	2,20	1,56	0,64	0,03

Примітка. ¹ – результати визначення гравіметричним методом

До складу летких сполук суцвіть, листя та стебел вітексу священного та вітексу коноплевидного, визначеного метод ГХ-МС, входять переважно сесквітерпеноїди (36 сполук). Також визначено кількісний вміст 27 монотерпенів, а також фенолу, 2 спиртів, 2 альдегідів, 1 кетону, 2 жирних кислот та 2 похідних бензофурану. Найбільшу кількість летких сполук виявлено у стеблах вітексу священного (6,19 г/кг) та суцвіттях вітексу коноплевидного (6,45 г/кг). Спільними для усіх досліджуваних зразків виявились 11 речовин. У суцвіттях та листі вітексу священного домінував β -каріофілен (до 421 мг/кг) та транс- β -фарнезен (до 339 мг/кг), у стеблах вітексу священного – транс- β -фарнезен (952,3 мг/кг), спатуленол (886,6 мг/кг) та епі- α -кадінол (679,6 мг/кг), у всіх видах сировини вітексу коноплевидного значно переважав β -каріофілен (3,367 г/кг) при повній відсутності транс- β -фарнезену. Характерною ознакою сировини вітексу священного є наявність епі- α -кадінолу (до 679,6 мг/кг). Незважаючи на те, що β -каріофілен характерний для усіх досліджуваних видів сировини, лише у сировині вітексу коноплевидного знайдено у великих кількостях (до 452 мг/кг) такі його оксопохідні, як каріофіла-2(12),6(13)-дієн-5-он, каріофіла-4(12),8(13)-дієн-5-ол та каріофіла-3,8(13)-дієн-5-ол. Також відмінністю сировини вітексу коноплевидного є наявність α -іону, α - та β -селінену.

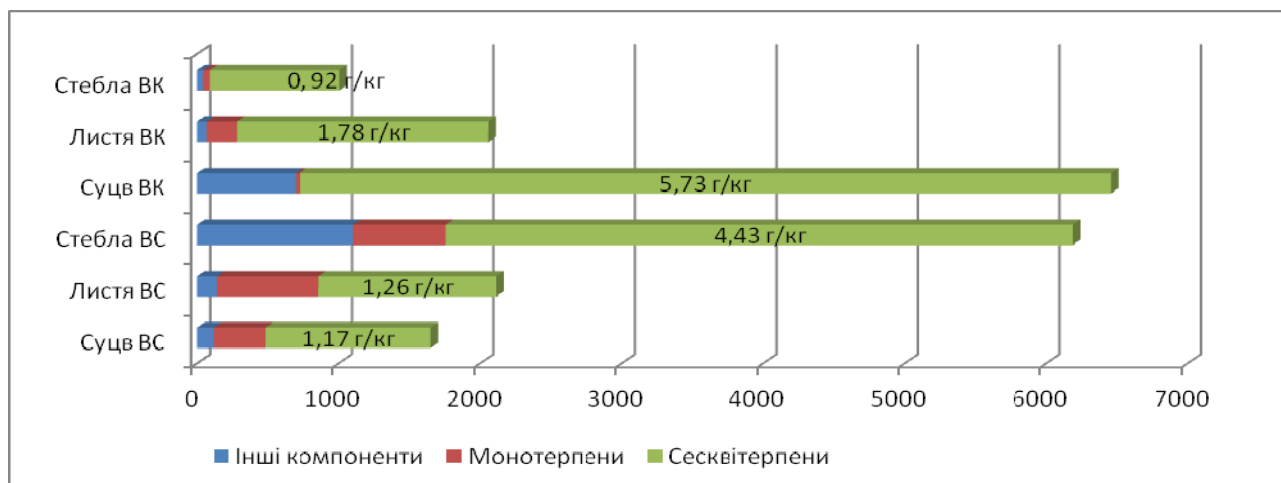


Рис. 1. Компонентний склад летких сполук вітексів залежно від ботанічного виду та типу сировини

Цим же методом було проведено визначення вмісту органічних кислот вітексу священного та вітексу коноплевидного. Виявлено, що в усіх видах сировини переважає *n*-гідроксибензойна кислота (у суцвіттях вітексу священного її вміст максимальний -14410 мг/кг). Цікавою особливістю є наявність саліцилової кислоти лише в суцвіттях обох видів, та наявність *n*-гідроксикоричної кислоти лише у листі та стеблах цих рослин. Бузкова та 3-гідрокси-2-метилглутарова кислоти виявлені лише у стеблах вітексу коноплевидного, також ця сировина переважає за вмістом більшості кислот. Загалом в досліджуваній сировині також знайдено великі кількості щавлевої (667,0 - 4371,1 мг/кг), маленової (188,5 — 2026 мг/кг), яблучної (320,4 — 3484,8 мг/кг), лимонної (287,6 — 4361 мг/кг), *n*-гідроксикоричної (756,5 — 5326,7 мг/кг) та інших кислот (табл. 6). Порівнявши результати визначення суми органічних кислот двома методами можемо відмітити дещо вищі показники відсоткового вмісту суми органічних кислот, отримані титриметричним методом, що може бути пов'язано з меншою точністю останнього та неможливістю першим методом визначити вміст високомолекулярних сполук кислотного характеру.

Таблиця 6

Кількісний вміст окремих органічних кислот залежно від виду сировини вітексу священного та вітексу коноплевидного

Кислота	Кількісний вміст, мг/кг					
	Суцв. ВС	Листя ВС	Стебла ВС	Суцв. ВК	Листя ВК	Стебла ВК
1	2	3	4	5	6	7
Аліфатичні кислоти						
Щавлева	2501,9	2756,4	667,0	1156,4	1932,8	4371,1
Маленова	1634,2	1213,8	188,5	803,1	1282,1	2026,9
Фумарова	174,4	44,8	14,2	40,8	25,1	82,3
Янтарна	554,1	398,6	46,3	197,4	217,7	407,1
3-Окси-2-метилглутарова	-	-	-	-	-	64,7

Продовж. табл. 6

1	2	3	4	5	6	7
Яблучна	3484,8	973,9	320,4	879,7	1199,3	3196,4
Всього аліфатичних	12710,6	7823,7	1524	5750,2	8152	14025,7
Ароматичні кислоти						
Саліцилова	44,7	-	-	13,6	-	-
Бензойна	29,2	119,4	-	13,1	19,6	-
Лимонна	4361,2	2436,2	287,6	2672,8	3495,0	3877,2
Ванілінова	640,1	262,4	174,3	161,7	195,3	1424,6
Бузкова	-	-	-	-	-	425,2
4-Гідроксибензойна	14410	8798,7	1206,5	4189,5	9678,2	8915,6
Всього ароматичних	19485,2	11616,7	1668,4	7050,7	13388,1	14642,6
Гідроксикоричні						
Ферулова	660,1	331,1	120,5	126,6	196,1	651,2
<i>n</i> -Гідроксикорична	-	3157,2	756,5	-	2129,1	5326,7
Всього гідроксикоричних	660,1	3488,3	877	126,6	2325,2	5977,9
Всього кислот	32855,9	22928,7	4069,4	12927,5	23865,3	34646,2

Сумарний вміст різних груп БАР у сировині вітексу священного та вітексу священного визначали методами УФ-спектрофотометрії після попереднього проведення кольорових реакцій. Вміст флавоноїдів перераховували на орієтин, гідроксикоричних кислот – на кислоту кофейну, іридоїди – на аукубін, сумарний вміст танінів визначали за фармакопейною методикою в перерахунку на пірогалол. Результати наведені в таблиці 7.

Таблиця 7

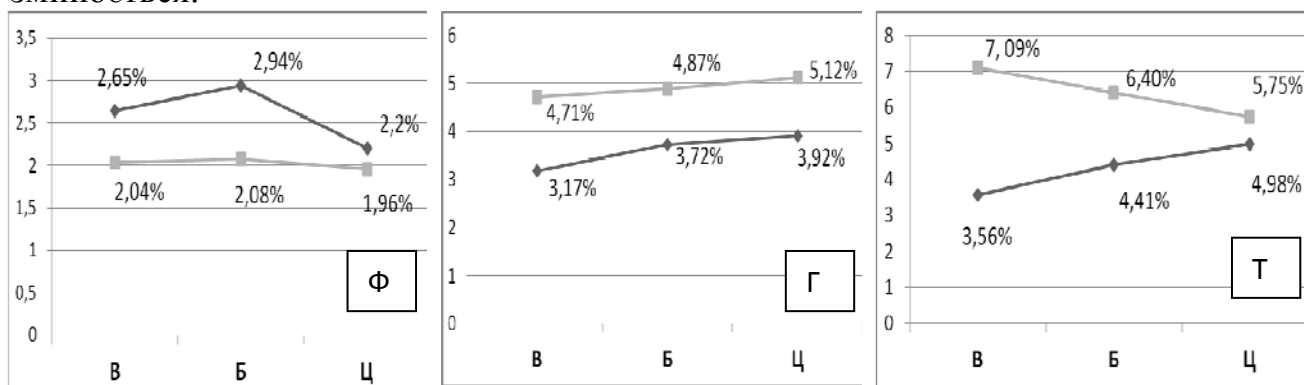
Кількісний вміст БАР в досліджуваній сировині

Сировина	Вміст, %, у перерахунку на абсолютно суху сировину						
	Флавоноїди	Гідроксикоричні кислоти	Поліфеноли		Органічні кислоти	Іридоїди	Амінокислоти
			Адсорбують ся порошком голевим	Сума поліфенолів			
Суцв. ВС	7,59±0,05	3,84±0,08	1,85±0,04	4,61±0,08	3,49±0,04	1,98±0,04	0,21±0,03
Листя ВС	2,23±0,02	3,92±0,02	1,90±0,03	4,98±0,06	3,01±0,03	2,62±0,04	0,42±0,04
Стебла ВС	0,22±0,01	0,78±0,07	0,40±0,02	1,54±0,05	0,72±0,02	0,43±0,04	0,07±0,02
Суцв. ВК	2,19±0,03	6,10±0,05	2,21±0,08	6,65±0,07	2,13±0,04	2,87±0,04	0,18±0,03
Листя ВК	1,98±0,01	5,12±0,03	1,44±0,06	5,75±0,04	3,25±0,03	2,58±0,04	0,38±0,04
Стебла ВК	0,71±0,01	3,46±0,07	1,04±0,03	4,10±0,06	3,53±0,03	0,65±0,04	0,09±0,01

Динаміка накопичення флавоноїдів, гідроксикоричних кислот та дубильних речовин визначалась методами УФ-спектрофотометрії для сировини зібраної у фази відростання (для листя і стебел), бутонізації та цвітіння. Результати дослідження для листя обох видів, проілюстровані на рисунку 2, свідчать про максимальне накопичення флавоноїдів в листях обох видів в

період бутонізації. Вміст гідроксикоричних кислот в листях обох видів протягом вегетаційного періоду збільшується: у листі вітексу священного від 3,17 % до 3,92 %, а у листі вітексу коноплевидного від 4,71 % до 5,12 %. Вміст дубильних речовин в листі вітексу священного в процесі вегетації збільшується (від 3,56 % до 4,98 %), а у листі вітексу коноплевидного — знижується (від 7,09 % до 5,75 %).

Вміст дубильних речовин та флавоноїдів у суцвіттях вітексу священного протягом вегетації знижується на 3-10 %, а гідроксикоричних кислот — підвищується на 2 % у суцвіттях вітексу коноплевидного та на 28 % у сировині вітексу священного. У сухих суцвіттях вітексу коноплевидного вміст танінів протягом вегетації збільшується на 9 %, а флавоноїдів — майже не змінюється. Для стебел обох видів найвищий вміст флавоноїдів та гідроксикоричних кислот найвищий у період цвітіння, а вміст поліфенолів протягом вегетації майже не змінюється.



Умовні позначення: фази вегетації: В – відростання, Б – бутонізація, Ц – цвітіння; групи БАР: Ф – флавоноїди, Г – гідроксикоричні кислоти, Т – таніни.

◆ *V. agnus-castus L.*
 ■ *V. cannabifolia Sieb.*

Рис. 2. Залежність вмісту різних груп БАР у листі вітексу священного та листі вітексу коноплевидного від фази вегетації.

Розділ 5. Стандартизація досліджуваної сировини, дослідження біологічної активності потенційних лікарських засобів, одержання та стандартизація настоек з листя вітексу священного та вітексу коноплевидного. За результатами макро- та мікроскопічного аналізу, а також гістохімічних реакцій було встановлено діагностичні ознаки листя вітексу священного та вітексу коноплевидного. Так, сировина вітексу священного характеризується зубчастим краєм листової пластинки, верхній епідерміс вкритий кутикулою та короткими незалозистими волосками конічної форми, нижній – дво- та три клітинними прямостоячими трихомами та головчастими волосками, також на нижній поверхні листка розташовані продихи аномоцитного типу. Сировина вітексу коноплевидного має наступні відмінності: край листової пластинки цільний, нижній епідерміс характеризується продихами парацитного типу, трихоми нижньої поверхні листка загнуті, головчасті волоски відсутні. У сировині обох видів ефірна олія накопичується у чотириклітинних залозках, трихомах, а у сировині вітексу

священного – у термінальних клітинах головчастих волосків. Також гістохімічними реакціями та подальшим мікроскопічним аналізом встановлена наявність та локалізація у досліджуваній сировині флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, іридоїдів, дубильних речовин, слизу.

Для встановлення оптимальних умов екстракції сировини було визначено її технологічні параметри. Розроблено технологію одержання настойки листя вітексу священного методом перколяції. Вибір екстрагента, тривалість та спосіб екстракції було здійснено експериментальним шляхом, базуючись на виході екстрактивних речовин. Як екстрагент було обрано 70 % спирт етиловий, співвідношення сировина: екстрагент – 1:10, екстракція чотирикратна загальною тривалістю 48 год за температури 15-20 °С. Проведено стандартизацію листя вітексу священного та листя вітексу коноплевидного, а також настойки листя вітексу священного за вмістом флавоноїдів, гідроксикоричних кислот та іридоїдів.

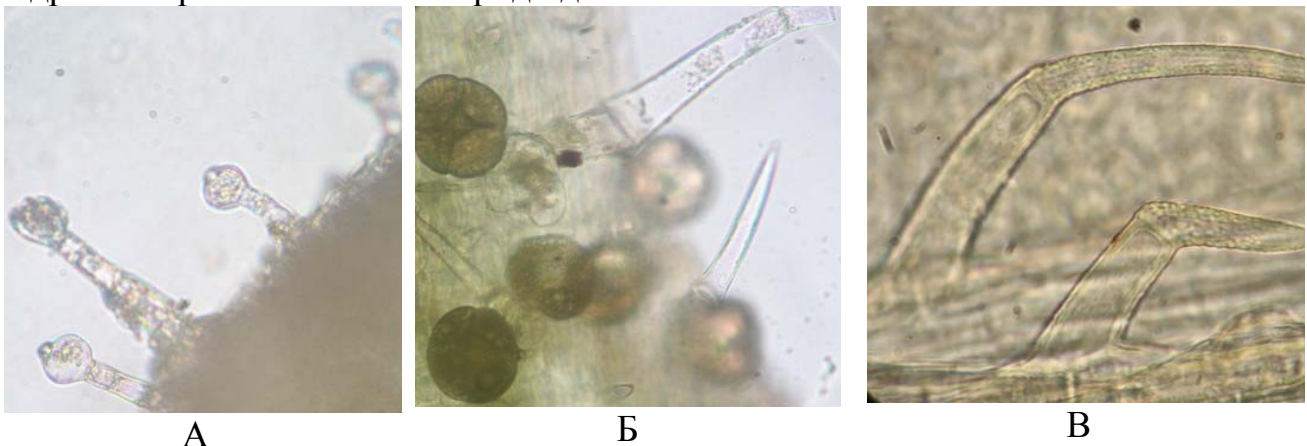


Рис. 3. Діагностичні відмінності сировини листя вітексу священного та вітексу коноплевидного: головчасті волоски нижнього епідермісу листка вітексу священного (А); голчасті волоски та чотириклітинні ефіроолійні залозки нижнього епідермісу листка вітексу священного (Б); характерна форма голчастих волосків нижнього епідермісу листка вітексу коноплевидного (В). Збільшення $\times 400$.

Визначення антирадикальної активності водних витяжок з листя вітексу священного та листя вітексу коноплевидного проводили спектрофотометричним методом після реакції з ДФПГ у порівнянні з кислотою аскорбіною. Результати показали, що антирадикальна активність витяжок зі співвідношенням сировина-екстрагент 1:25, 1:17 та 1:12,5 (сумарний вміст фенольних сполук 17-32 мг/мл) співставна за антирадикальною активністю з відповідними концентраціями кислоти аскорбінової.

Фармакологічні дослідження *in vivo* проведені під керівництвом д.біол.н. О.Є. Ядловського (ІФТ НАМНУ) та к.біол.н. Є.М. Решетнік (НДІ фізіології ім. ак. П. Богача). Дослідження гострої токсичності за методом В.В. Прозоровського дозволяє віднести настойки листя вітексу священного та листя вітексу коноплевидного до майже нетоксичних. Настойка листя вітексу священного при проведенні дослідження методом «відкритого поля» виявляла седативну активність, що не поступалася референтному лікарському засобу

«Кропиви собачої настойка настойка». Дослідження гепатопротекторної активності з використанням парацетамольної моделі ураження печінки виявили гепатопротекторну активність водного витягу з листя вітексу коноплевидного, що не поступається референтному лікарському засобу «Силібор».

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведені узагальнені дані вирішення наукової задачі щодо комплексного фармакогностичного вивчення листя, суцвіть та стебел вітексу священного та вітексу коноплевидного з визначенням якісного складу та кількісного вмісту окремих сполук та груп БАР, стандартизації сировини та перспективної субстанції, встановлення її біологічної активності.

1. За допомогою якісних реакцій та хроматографічних методів аналізу в листі, суцвіттях та стеблах вітексу священного та вітексу коноплевидного ідентифіковано 143 сполуки (вільні та зв'язані цукри, водорозчинні полісахариди, пектинові речовини, геміцелюлози, амінокислоти, аліфатичні та гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, іридоїди, таніни, сапоніни, лігнани, моно-, сескві- та дитерпени) з них 20 речовин для даного виду ЛРС ідентифіковані вперше.
2. Із ліпофільних витяжок з листя, стебел та суцвіть вітексу священного та вітексу коноплевидного методом ГХ-МС: вуглеводні, жирні кислоти, моно- та сесквітерпени, аліфатичні монокарбонові кислоти, причому у сировині вітексу коноплевидного значно переважають похідні каріофілену (до 3,4 г/кг), а вітексу священного - α -пінен та 1,8-цинеол.
3. У листі, стеблах та суцвіттях вітексу священного та вітексу коноплевидного встановлено наявність 7 насичених та 10 ненасичених жирних кислот, серед яких переважає ліноленова (22,87 - 38,46 %); найвищий вміст жирних кислот для вітексу священного встановлений у суцвіттях, а для вітексу коноплевидного — у листі. Визначено вміст 6 макро- та 13 мікроелементів, серед яких переважають калій, залізо і марганець та переважну кумуляцію кремнію, заліза, алюмінію і цинку у листі вітексу священного, а заліза-у вітексу коноплевидного.
4. З листя вітексу священного в індивідуальному стані виділені сполуки: 1 ароматична кислота, 3 флавоноїди, 2 іридоїди та 1 дитерпен.
5. Кількісно визначали вміст 2 флавоноїдів, 4 гідроксикоричних кислот та 2 іридоїдів в досліджуваній сировині хроматографічними методами, причому вміст орієнтину у вітчизняній сировині був високим (до 2 %), а гідроксикоричних кислот - значно нижчим (вміст кофейної кислоти не перевищував 0,06 %) від літературних даних. Найвищий вміст флавоноїдів визначено у суцвіттях вітексу священного (7,6%), а дубильних речовин – в суцвіттях вітексу коноплевидного (2,2%), водночас вміст гідроксикоричних кислот вищий у сировині вітексу коноплевидного і коливається в межах 3,5 - 6,1%.
6. Визначено кількісний вміст різних фракцій вуглеводів у листі, стеблах та суцвіттях вітексу священного та вітексу коноплевидного, причому

найвищий вміст ВРПС - в стеблах вітексу священного (6%), ПР - в листі обох видів (1,6-3,2%), геміцелюлози – в листі і стеблах вітексу коноплевидного (2,5%). Переважне накопичення п-гідроксибензойної кислоти встановлено при визначенні органічних кислот вітексу священного та вітексу коноплевидного методом хромато-мас-спектрометрії. Серед летких компонентів у досліджуваній сировині переважають сесквітерпеноїди. У суцвіттях та листі вітексу священного домінують β -каріофілен та транс- β -фарнезен, у стеблах - транс- β -фарнезен, спатуленол та епі- α -кадінол; у всіх видах сировини вітексу коноплевидного значно переважає β -каріофілен та епі- α -кадінолу (до 679,6 мг/кг), що є характерною його ознакою, при повній відсутності транс- β -фарнезену, щоможе бути використано для стандартизації сировини.

7. Проведене вивчення накопичення БАР в листі, суцвіттях та стеблах протягом вегетації та визначено оптимальним терміном заготівлі фазу цвітіння. Визначені основні анатомо-діагностичні ознаки листя вітексу священного та вітексу коноплевидного.
8. Одержані настойки вітексу священного та вітексу коноплевидного, для яких визначені гостра токсичність та встановлена помірна седативна активність; для водних витяжок виявлені антирадикальна та гепатопротекторна дії. Розроблені проекти МКЯ на «Вітексу священного листя», «Вітексу коноплевидного листя» та «Вітексу священного листя настойка».

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Ющишена, О. В. Кількісне визначення різних груп вуглеводів в листі, стеблах та суцвіттях вітексу священного (*Vitex agnus-castus* L.) та вітексу коноплевидного (*Vitex cannabifolia* Sieb.) / О. В. Ющишена, О. О. Цуркан // Фармацевтичний журнал. – 2013. – №4. – С. 89–94. *Внесок дисертанта – проведення експериментальної частини дослідження, обробка отриманих результатів та їх оцінка, написання статті.*
2. Дослідження ефірної олії листя, стебел та суцвіть *Vitex agnus-castus* L. та *V. cannabifolia* Sieb. / О. В. Ющишена, О. О. Цуркан, О. А. Корабльова, Н. П. Ковальська // Фармацевтичний часопис. – 2013. – №4 (29). – С. 38–42. *Внесок дисертанта – проведення експериментальної частини дослідження, обробка отриманих результатів та їх оцінка, написання статті.*
3. Дослідження мінерального складу листя, суцвіть та стебел вітексу священного (*Vitex agnus-castus* L.) та вітексу коноплевидного (*Vitex cannabifolia* Sieb.) / О. О. Цуркан, О. В. Ющишена, І. В. Ніженковська, О. А. Корабльова // Вісник фармації. – 2014. – №1 (77). – С. 36–39. *Внесок дисертанта – обробка результатів дослідження та їх оцінка, написання статті.*
4. Вітекс священний (*Vitex agnus-castus* L.) та вітекс коноплевидний (*V. cannabifolia* Sieb.) – перспективні лікарські рослини (огляд літератури) / О.

О. Цуркан, І. В. Ніженковська, О. В. Ющишена, О. А. Корабльова // Фітотерапія. Часопис. – 2014. – №1. – С. 51–55. *Внесок дисертанта – пошук літературних джерел та їх аналіз, написання статті.*

5. Ющишена, О. В. Жирні кислоти листя, стебел та суцвіть вітексу священного (*Vitex agnus-castus* L.) / О. В. Ющишена, О. О. Цуркан, О. А. Корабльова // Здобутки клінічної та експериментальної медицини. – 2014. – №1 (20). – С. 139–141. *Внесок дисертанта – обробка результатів дослідження та їх оцінка, написання статті.*

6. Дослідження іридоїдів *Vitex agnus-castus* L. та *V. cannabifolia* Sieb. / О. О. Цуркан, І. В. Ніженковська, О. В. Ющишена, Н. П. Ковальська, О. А. Корабльова // Фармацевтичний журнал. – 2014. – №2. – С. 101–104. *Внесок дисертанта – проведення експериментальної частини дослідження, обробка отриманих результатів та їх оцінка, написання статті.*

7. Yushchyshena, O. Phenolic compounds content in *Vitex agnus-castus* L. and *V. cannabifolia* Sieb. growing in Ukraine / O. Yushchyshena, O. Tsurkan // Journal of Medicinal Plants Studies. – 2014. – Vol. 2, № 5. – P. 36–40. *Внесок дисертанта – проведення експериментальної частини дослідження, обробка отриманих результатів та їх оцінка, написання статті.*

8. Пат. на кор. модель 94853 Україна, МПК⁶ А61К 35/66. Застосування листя вітексу священного як седативного засобу / О. О. Цуркан, І. В. Ніженковська, О. В. Ющишена, О. А. Корабльова. – № 201404092 ; заявл. 16.04.14 ; опубл. 10.12.14, Бюл. № 23. – 4 с. *Внесок дисертанта – приготування настоек, оформлення патенту.*

9. Изучение накопления фенолопроизводных веществ в листьях *Vitex agnus-castus* L. и *V. cannabifolia* Sieb. на разных стадиях вегетации / А. А. Цуркан, И. В. Ниженковская, О. А. Кораблева, О. В. Ющишена // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск: Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, 2013. – Вып. 68. – С.128–130.

10. Цуркан, А. А. Качественное обнаружение иридоидов в листьях, стеблях и соцветиях *Vitex agnus castus* L. и *V. cannabifolia* Sieb. / А. А. Цуркан, О. В. Ющишена // Медицина, фармация и общественное здоровье. Материалы. Евразийский Конгресс с международным участием/ Под ред. А.С. Гаврилова – Екатеринбург: УГМА, 21-23 мая 2013 – С. 125–127.

11. Ющишена, О. В. Изучение антирадикальной активности водно-спиртовых экстрактов *Vitex agnus-castus* L. / О. В. Ющишена // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск: Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, 2014. – Вып. 69. – С. 250–253.

12. Ющишена, О. В. Исследование гидроксикоричных кислот листьев, стеблей и соцветий *Vitex agnus-castus* L. и *V. cannabifolia* Sieb. / О. В. Ющишена // Фармация и общественное здоровье). Материалы конференции под ред. Г.Н. Андриановой (Екатеринбург, 21 мая 2014 года). – Екатеринбург: УГМУ, 2014 – С.474–477.

13. Фитохимические особенности представителей рода *Vitex* L. в условиях Лесостепи Украины / О. А. Кораблева, Д. Б. Рахметов, М. В. Рысь, М. И. Шанайда, О. В. Ющишена // Лекарственные растения: фундаментальные и прикладные проблемы: материалы I Международной научной конференции (Новосибирск, 21-22 мая 2013)/ Новосибир. гос. аграрн. ун-т. – Новосибирск: Изд-во НГАУ, 2013. – С. 173–175.

14. Ющишена, О. В. Исследование гидроксикоричных кислот витекса священного (*Vitex agnus-castus* L.) и витекса коноплевидного (*V. cannabifolia* Sieb.). / О. В. Ющишена // Сб. матер. Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург; 14-15 апреля 2014 г.) – СПб.: Изд-во СПХФА, 2014. – С. 616–619.

15. Исследование иридоидов *Vitex agnus-castus* L. и *V. cannabifolia* Sieb. / А. А. Цуркан, И. В. Ниженковская, О. В. Ющишена, О. А. Кораблева // Лекарственные растения: биоразнообразие, технологии, применение: сб. науч. ст. по матер. I Международной научно-практической конференции (Гродно, 5-6 июня 2014 года). – Гродно: ГГАУ, 2014. – С. 193–196.

16. Phytochemical Investigation of *Vitex cannabifolia* Growing in Ukraine / O. Tsurkan, I. Nizhenkovska, O. Korablova, O. Yushchishena // The Application of Analytical Methods for the Development of Natural Products: 9th International Symposium on Chromatography of Natural Products. Book of abstracts (Lublin, May 26-29, 2014). – 2014. – P. 67.

17. Ющишена, О. В. Исследование дубильных веществ листьев, стеблей и соцветий *Vitex agnus-castus* L. / О. В. Ющишена // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: материалы Всероссийской конференции (Барнаул, 22-24 апреля 2014) / под. ред. Н. Г. Базарновой, В. И. Маркина. – Барнаул: Изд-во Алт. ун-та. – 2014. – С. 172–173.

18. Ющишена, О. В. Розробка методу визначення сумарного вмісту фенілпропаноїдів у надземній частині *Vitex agnus-castus* L. та *V. cannabifolia* Sieb. / О. В. Ющишена, О. А. Корабльова // Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої Всесвітньому дню здоров'я (м. Київ, 4-5 квітня 2013 р.). Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2013. – Спец. вип. №2. – С. 206.

19. Ющишена, О. В. *Vitex cannabifolia* Sieb. – перспективна лікарська сировина для створення дієтичної добавки з гепатопротекторною активністю / О. В. Ющишена, О. А. Корабльова // Функціональні харчові продукти – дієтичні добавки – як дієвий засіб різнопланової профілактики захворювань. Матеріали I міжнародної науково-практичної конференції (Харків, 11-12 квітня 2013). – Харків: В. “ЕСЕН”. – 2013. – С. 269–271.

20. Ющишена, О. В. Органічні кислоти надземної частини витексу коноплевидного та витексу священного / О. В. Ющишена, О. А. Корабльова // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів. Матеріали 5-ї науково-практичної конференції з

міжнародною участю (Тернопіль, 27-28 вересня 2013). – Т.: Укрмедкнига, 2013. – С. 66–67.

21. Ющишена, О. В. Визначення кастицину у *Vitex agnus-castus* L. та *V. cannabifolia* Sieb., що проростають на території України / О. В. Ющишена, О. А. Корабльова // Матеріали V (67) Міжнародного науково-практичного конгресу студентів та молодих вчених «Актуальні проблеми сучасної медицини» (Київ, 23-25 жовтня 2013 р.). Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2013. – Спец. вип. №4 (74). – С. 328–329.

22. Ющишена, О. В. Хромато-масс-спектрометрическое определение жирных кислот в листьях, стеблях и соцветиях *Vitex cannabifolia* Sieb. / О. В. Ющишена // Химия и технология растительных веществ: Тезисы докладов VIII Всероссийской научной конференции (Калининград, 7-10 октября 2013). Сыктывкар-Калининград, 2013. – С. 263.

Окрім вищеперерахованих, результати дослідження опубліковані ще у 11 тезах доповідей.

АНОТАЦІЯ

Ющишена О. В. Фармакогностичне вивчення надземної частини вітексу священного (*Vitex agnus-castus* L.) та вітексу коноплевидного (*V. cannabifolia* Sieb.). – 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, 2016.

Дисертаційну роботу присвячено комплексному фармакогностичному вивченню сировини вітексу священного (*Vitex agnus-castus* L.) та вітексу коноплевидного (*V. cannabifolia* Sieb.), розробці фітозасобів на їхній основі, а також стандартизації лікарської рослинної сировини та запропонованої настойки. В сировині, що вивчалася, досліджено якісний склад та визначено кількісний вміст основних груп біологічно активних речовин.

З листя вітексу священного було виділено в індивідуальному стані та встановлено структуру 7 сполук: 1 ароматична кислота, 3 флавоноїди, 2 іридоїди та 1 дитерпен.

Методами ГХ-МС, ВЕРХ, атомно-абсорбційної спектроскопії та УФ-спектрофотометрії встановлено наявність та визначено кількісний вміст флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, дубильних речовин, іридоїдів, амінокислот, різних груп вуглеводів, карбонових кислот, терпеноїдів, а також 19 макро- та мікроелементів, та 17 жирних кислот.

Проведено стандартизацію листя вітексу священного та листя вітексу коноплевидного, запропоновано технологію виробництва настойки листя вітексу священного. Для запропонованих засобів виявлено антирадикальну, седативну та гепатопротекторну активності, встановлена їх нетоксичність.

Ключові слова: вітекс священний, вітекс коноплевидний,

фармакогностичне вивчення, біологічно активні речовини, настойка, седативна, гепатопротекторна, антирадикальна активність.

АННОТАЦІЯ

Ющишена О.В. Фармакогностическое изучение наземной части витекса священного (*Vitex agnus-castus* L.) и витекса коноплевидного (*V. cannabifolia* Sieb.). – 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, 2016.

Диссертация посвящена комплексному фармакогностическому исследованию витекса священного (*Vitex agnus-castus* L.) и витекса коноплевидного (*V. cannabifolia* Sieb.), а также разработке настойки на его основе, стандартизации лекарственного растительного сырья и полученной настойки. С помощью качественных реакций, ТСХ, ГХ-МС и ВЭЖХ в листьях, стеблях и соцветиях витекса священного и витекса коноплевидного установлено наличие разных классов углеводов, жирных, гидроксикоричных, amino- и других классов органических кислот, иридоидов, флавоноидов, дубильных веществ, лигнанов, моно-, сескви- и дитерпенов, а также тритерпеновых сапонинов, гидроксикоричных кислот, и других классов соединений. Всего идентифицировано 143 соединения, из них 20 в исследуемом сырье найдены впервые. Из листьев витекса священного выделено и установлено структуру 7 соединений: 1 ароматическая кислота, 3 флавоноида, 2 иридоида и 1 дитерпен.

Методом ГХ-МС в листьях, соцветиях и стеблях витекса священного и витекса коноплевидного был определен качественный состав и количественное содержание ряда биологически активных соединений – жирных и карбоновых кислот, липофильных и летучих соединений. В результате было установлено содержание 17 жирных кислот, среди которых во всех видах сырья преобладали ненасыщенные жирные кислоты. Наибольшее содержание летучих соединений обнаружено в стеблях витекса священного (6187,5 мг/кг) и соцветиях витекса коноплевидного (6454,3 мг/кг), среди групп соединений преобладают сесквитерпеноиды. Главным компонентом летучих соединений витекса коноплевидного является β -кариофиллен (от 52,17 % в соцветиях до 56,12 % в стеблях). Для стеблей витекса священного характерным является преобладание транс- β -фарнезена (15,39 %), спатуленола (14,33 %) и эпи- α -кадинола (10,98 %). В листьях и соцветиях доминирует β -кариофиллен (25,54 % и 18,30 % соответственно). Также этим методом было качественно и количественно определено 6 алифатических, 6 ароматических и 2 гидроксикоричные кислоты, установлено наибольшее содержание *n*-гидроксибензойной кислоты.

Методом атомно-адсорбционной спектроскопии установлен элементный состав исследуемого сырья, было обнаружено и установлено количественное содержание 6 макро- и 13 микроэлементов.

Впервые определено количественное содержание ВРПС (до 6,03%), пектинов (до 3,25%) и гемицеллюлозы А и Б (до 2,33% и 0,23% соответственно) в листьях, стеблях и соцветиях витекса священного и витекса коноплевидного.

Методом ВЭЖХ проведено количественное определение 2 иридоидов, 2 флавоноидов и 2 гидроксикоричных кислот. Методами УФ-спектрофотометрии установлен количественный состав суммы флавоноидов, гидроксикоричных кислот, таннинов, иридоидов, органических кислот, аминокислот, а также разных фракций углеводов в сырье витекса священного и витекса коноплевидного.

Проведено сравнительное количественное определение отдельных органических кислот в листьях, стеблях и соцветиях и установлены особенности их накопления в различных видах сырья. Во всех видах сырья доминирует *n*-гидроксibenзойная кислота.

Проведенное изучение динамики накопления БАВ в листьях, соцветиях и стеблях в течение вегетации показало наивысшее содержание фенольных соединений во всех видах сырья в период бутонизации и цветения.

Определены основные анатомо-диагностические признаки листьев витекса священного и витекса коноплевидного. Листья растений обоих видов отличаются строением игольчатых волосков нижнего эпидермиса, типом устьичного аппарата, а также наличием головчатая волосков. Предложена технология получения настойки листьев витекса священного методом перколяции. Экстрагентом избран 70% спирт этиловый, соотношение сырье: экстрагент - 1:10, экстракция четырехкратная общей продолжительностью 48 ч при температуре 15-20 °С.

Фармакологические исследования показали наличие антирадикальной, седативной и гепатопротекторной активности настойки листьев витекса священного и настойки листьев витекса коноплевидного. Исследуемые настойки практически нетоксичны. Разработаны предложены проекты методик контроля качества «Листья витекса священного», «Листья витекса коноплевидного» и «Настойка листьев витекса священного».

Ключевые слова: витекс священный, витекс коноплевидный, фармакогностическое изучение, биологически активные вещества, настойка, седативная, гепатопротекторная, антирадикальная активность.

ANNOTATION

Yushchyshena O.V. The pharmacognostic study of chaste-tree (*Vitex agnus-castus* L.) and Chinese chaste-tree (*V. cannabifolia* Sieb.) aerial parts. – A manuscript.

The thesis for a candidate of pharmaceutical sciences degree in speciality 15.00.02 – pharmaceutical chemistry and pharmacognosy. – National University of Pharmacy, Ministry of Public Health of Ukraine, Kharkiv, 2015.

The thesis is devoted to the complex pharmacognostic study of chaste-tree (*Vitex agnus-castus* L.) and Chinese chaste-tree (*V. cannabifolia* Sieb.) aerial parts,

developing of new phytotherapies on its basis, and standardization of plant material and obtained tincture. The qualitative composition and quantitative content of the main groups of biologically active substances in the leaves, stems and inflorescences of *V. agnus-castus* and *V. cannabinifolia* was determined.

7 Compounds from the leaves of chaste-tree were isolated and qualified: 1 carboxylic aromatic acid, 3 flavonoids, 2 iridoids, 1 diterpen.

Using methods of GC-MS, HPLC, atomic absorption spectroscopy and UV-spectrophotometry the identification and quantification of flavonoids, hydroxycinnamic acid derivatives, tannins, iridoids, aminoacids, different types of carbohydrates, carboxylic acids, terpenes, fatty acids and trace elements was performed.

Leaves of chaste-tree and Chinese chaste-tree were standardized and technology of *V. agnus-castus* tinctures was proposed. Developed phytotherapies were non-toxic and revealed radical scavenging, sedative and hepatoprotective activities.

Key words: chaste-tree, Chinese chaste-tree, pharmacognostic study, biologically active compounds, tincture, sedative, hepatoprotective, radical scavenging activity.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АлАТ	- аланін амінотрансфераза
БАР	- біологічно активні речовини
ВЕРХ	- високоефективна рідинна хроматографія
ВК	- вітекс коноплевидний
ВС	- вітекс священний
ВРПС	- водорозчинні полісахариди
ГДК	- гранично допустима концентрація
ГРХ	- газорідинна хроматографія
ГХ-МС	- газова хроматографія з мас-детекцією
ГЦ	- геміцелюлози
ДФПГ	- N,N-дифеніл-N-пікрилгідрозильний радикал
ІЧ	- інфрачервоний
ЛРС	- лікарська рослинна сировина
ЛФ	- лужна фосфатаза
МКЯ	- методики контролю якості
ПР	- пектинові речовини
ПХ	- паперова хроматографія
Т.пл.	- температура плавлення
ТШХ	- тонкошарова хроматографія
УФ	- ультрафіолетовий

Підписано до друку 05. 01. 2016 р.

Формат 60×84/16. Ум.-друк. арк. 0,9.

Наклад 100 пр. Зам. № б/н.

Надруковано з готового оригінал-макета

у друкарні СПД ФО Степанов В. В.

вул. Ак. Павлова, 311, м. Харків, 61168

Тел.: (057) 751-79-25