

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Зоценко Людмила Олексіївна

УДК 615.322:582.929.4

ДИСЕРТАЦІЯ

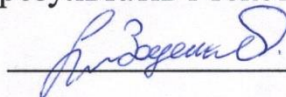
Фармакогностичне вивчення представників роду *Elsholtzia*

226 – Фармація, промислова фармація

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 Л.О. Зоценко

Науковий керівник Кисличенко Вікторія Сергіївна, доктор фармацевтичних наук, професор

Харків – 2023

АНОТАЦІЯ

Зоценко Л.О. Фармакогностичне вивчення представників роду *Elsholtzia*. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація» (22 – Охорона здоров'я). – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2023.

Дисертаційна робота присвячена комплексному фармакогностичному вивченню представників роду *Elsholtzia*: ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Nyl.) та ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia stauntonii* Benth.), одержанню та фітохімічному дослідженню лікарських засобів на основі перспективної лікарської рослинної сировини (ЛРС), а також стандартизації ЛРС та одержаних лікарських рослинних засобів.

Хімічними реакціями, хроматографією на папері (ПХ), у тонкому шарі сорбенту (ТШХ), газовою (ГХ), високоефективною (ВЕРХ), хромато-мас-спектрометрією (ГХ/МС) та рентген-флуоресцентним методом вивчено склад біологічно активних речовин (БАР) листя, суцвіть, трави та стебел ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона. У результаті проведеного аналізу виявлені амінокислоти, вуглеводи, органічні, фенолкарбонові та гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, антоціани, катехіни, таніни, хлорофіли, каротиноїди, фітостероли, жирні кислоти, леткі сполуки, макро- та мікроелементи.

Кількісний аналіз БАР у досліджуваних видах сировини ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона проводили хімічними та інструментальними методами. Встановлено вміст амінокислот, протеїну, полісахаридів, клітковини, органічних кислот, зокрема аскорбінової кислоти, вітамінів В₁, В₂, В₃, В₉, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, проціанідинів, танінів, рослинних пігментів і суми ліпофільних сполук.

Гравіметричним методом проведено визначення фракційного складу полісахаридів – водорозчинних полісахаридів (ВРПС), пектинових речовин (ПР), геміцелюлози А (ГЦ А) та Б (ГЦ Б). Встановлено, що за вмістом в траві ельшо-

льції вйчастої та ельшольції Стаунтона переважала фракція ВРПС – $6,70 \pm 0,45$ % і $7,78 \pm 0,52$ % відповідно. Крім того, трава ельшольції Стаунтона домінувала за вмістом усіх фракцій порівняно з травою ельшольції вйчастої.

У траві ельшольції вйчастої та ельшольції Стаунтона визначено вміст вітамінів – B_1 , B_2 , B_3 і B_9 . Вітамін B_3 визначений у найбільшій кількості в обох видах сировини – $2,31 \pm 0,26$ мг/100г і $6,67 \pm 0,34$ мг/100 г, а вітамін B_9 мав найнижчий показник – $0,002 \pm 0,0001$ мг/100 г і $0,003 \pm 0,0001$ мг/100 г відповідно.

Вилучення танінів із сировини ельшольції вйчастої та ельшольції Стаунтона здійснювали водою та етанолом різної концентрації (20 % – 96 %). Встановлено, що вміст танінів у сировині ельшольції вйчастої був значно нижчий, ніж у сировині ельшольції Стаунтона. Для листя ельшольції вйчастої найкращим екстрагентом для вилучення танінів був 40 % етанол ($0,94 \pm 0,02$ %), для суцвіть – 50 % етанол ($0,76 \pm 0,01$ %), для стебел – 90 % етанол ($0,48 \pm 0,01$ %), для трави – 70 % етанол ($0,54 \pm 0,01$ %). Для сировини ельшольції Стаунтона встановлені такі показники вмісту танінів: у листі та суцвіттях максимальний вміст спостерігався при використанні 70 % етанолу – $1,49 \pm 0,07$ % і $1,33 \pm 0,06$ %, у стеблах і траві – 50 % етанолу ($0,67 \pm 0,03$ % і $1,15 \pm 0,06$ % відповідно).

Методом вичерпної екстракції хлороформом в апараті Сокслета одержано ліпофільні фракції (ЛФ) трави ельшольції вйчастої та ельшольції Стаунтона, вихід яких склав $10,02 \pm 0,60$ % і $8,61 \pm 0,52$ % відповідно. Проведено вивчення складу ЛФ та встановлено наявність хлорофілів та каротиноїдів. Вміст даних речовин визначено як у ЛФ, так і у траві. Встановлено, що вміст рослинних пігментів був вищий у ЛФ, ніж у сировині.

Методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії визначено амінокислотний склад листя, суцвіть і трави ельшольції вйчастої та ельшольції Стаунтона. У результаті дослідження ідентифіковано та визначено вміст у листі та траві ельшольції вйчастої по 18, у суцвіттях ельшольції вйчастої та усіх видах сировини ельшольції Стаунтона – по 19 амінокислот. В усіх досліджуваних видах сировини глютамінова кислота містилася у найбільших кількостях. Серед

незамінних амінокислот у сировині ельшольції в'ійчастої домінував лейцин, а ельшольції Стаунтона – лейцин і метіонін.

Методом ГХ/МС вивчено склад моносахаридів, органічних кислот, фітостеролів та летких сполук у досліджуваних видах сировини двох видів ельшольції. У вільному стані у листі та траві ельшольції в'ійчастої та листі та суцвіттях ельшольції Стаунтона ідентифіковано по 3 моноцукри, у суцвіттях ельшольції в'ійчастої та траві ельшольції Стаунтона – по 4 цукри. У листі та траві ельшольції в'ійчастої та у траві ельшольції Стаунтона виявлено по 9 зв'язаних цукрів, у суцвіттях ельшольції в'ійчастої та у листі та суцвіттях ельшольції Стаунтона – по 8. За кількісним вмістом в усіх досліджуваних видах сировини як у вільному, так і у зв'язаному стані домінувала глюкоза.

У листі ельшольції в'ійчастої ідентифіковано та визначено вміст 8, у суцвіттях – 6, у листі ельшольції Стаунтона – 9, у суцвіттях – 10, у траві обох видів – по 7 органічних кислот. Яблучна, янтарна та лимонна кислоти визначені в усіх видах сировини. У листі та суцвіттях ельшольції в'ійчастої та ельшольції Стаунтона у значній кількості визначена лимонна, а у траві обох видів – янтарна кислота.

У траві ельшольції в'ійчастої та ельшольції Стаунтона ідентифіковано 5 і 2 фітостеролів відповідно. Загальний вміст фітостеролів був вищий у траві ельшольції Стаунтона – $3,646 \pm 0,073$ мг/г. Домінуючою сполукою для обох видів ельшольції був γ -ситостерол, вміст якого був $0,580 \pm 0,004$ мг/г і $3,302 \pm 0,019$ мг/г відповідно.

Серед летких сполук у листі ельшольції в'ійчастої ідентифіковано 27, у суцвіттях – 21, у траві – 7 сполук, а в ельшольції Стаунтона – 22, 29 і 40 компонентів відповідно. У сировині ельшольції в'ійчастої у домінантній кількості визначені ельшольціакетон і дегідроельшольціакетон, а у сировині ельшольції Стаунтона – каріофілен і каріофілен оксид. Дані сполуки можна вважати речовинами-маркерами для досліджуваних видів сировини.

Методом ВЕРХ проведено вивчення фенольних сполук – гідроксикоричних кислот і флавоноїдів. У листі ельшольції в'ійчастої ідентифіковано 4, у суц-

віттях і траві – по 8 гідроксикоричних кислот; у листі та суцвіттях ельшольції Стаунтона ідентифіковано по 6, у траві – 9 гідроксикоричних кислот. Хлорогенова кислота домінувала у траві обох видів ельшольції. При вивченні розмаринової кислоти у сировині ельшольції Стаунтона було проведено визначення природи екстрагенту на процес вилучення даної сполуки із сировини. Так, 70 % етанол виявився найкращим екстрагентом для листя, суцвіть і стебел – $2,11 \pm 0,04$ %, $2,37 \pm 0,05$ % і $0,65 \pm 0,01$ % відповідно, а 50 % етанол для трави – $1,47 \pm 0,03$ %.

При вивченні флавоноїдів у листі ельшольції війчастої ідентифіковано 6, у листі ельшольції Стаунтона – 4, у суцвіттях обох видів ельшольції – по 5, у траві – по 6 флавоноїдних сполук. У найбільшій кількості в усіх досліджуваних об'єктах містилися лютеолін, неогесперидин і нарінгенін. У траві обох видів ельшольції ідентифіковано та визначено вміст 4 катехинів, серед яких домінував катехін: у траві ельшольції війчастої – $1009,11 \pm 20,18$ мкг/г, у траві ельшольції Стаунтона – $791,34 \pm 15,83$ мкг/г. У суцвіттях ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона ідентифіковано та визначено вміст 8 і 11 антоціанів відповідно. За вмістом у суцвіттях ельшольції війчастої переважали ціанідин-3-глюкозид і мальвідин-3-галактозид ($33,99 \pm 0,68$ % і $33,23 \pm 0,66$ % відповідно); у суцвіттях ельшольції Стаунтона – мальвідин-3-арабінозид і мальвідин-3-глюкозид ($41,72 \pm 0,83$ % і $27,33 \pm 0,55$ % відповідно).

Жирнокислотний склад сировини ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона вивчали методом ГХ. У сировині ельшольції війчасто визначено по 14, ельшольції Стаунтона – по 15 вільних жирних кислот, серед яких у листі, суцвіттях і стеблах ельшольції війчастої ідентифіковано по 12, у траві – 10, у листі та суцвіттях ельшольції Стаунтона – по 12, у стеблах і траві – по 13 жирних кислот. Серед насичених жирних кислот найбільший вміст визначено для пальмітинової кислоти, серед ненасичених – для ліноленової, а у стеблах ельшольції Стаунтона – для лінолевої. Сума ненасичених жирних кислот була вищою у сировині ельшольції війчастої та у суцвіттях, стеблах і траві ельшольції Стаунтона. У листі ельшольції Стаунтона переважали насичені жирні кислоти.

Рентген-флуоресцентною спектрометрією проведено вивчення елементного складу сировини ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона. Ідентифіковано та визначено вміст 16 елементів. В усіх видах сировини у найбільшій кількості містилися калій, кальцій та сульфур. Вміст важких металів був у межах вимог гранично допустимих концентрацій для сировини та харчових продуктів

Вивчено морфолого-анатомічну будову та ультраструктуру поверхні епідермальної тканини трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона. Відмінними морфологічними діагностичними ознаками визначено характер опушення стебла, листкової пластинки та віночка; форма та край листа; колір віночка. Для ельшольції війчастої анатомічними діагностичними ознаками є наявність дрібних залозистих трихом, які поодинокі розміщені на жилках, довгих простих трихом на центральній жилці з нижнього боку та простих трихом черешка, що втричі довші за аналогічні у ельшольції Стаунтона, для ельшольції Стаунтона – це наявність численних трихом та масивні скупчення склеренхіми у стеблі. При вивченні ультраструктури поверхні епідермальної тканини до загальних ознак віднесені гіпостоматичний тип листкової пластинки, аномоцитний тип продихового апарату, розпластані проекції та звивисті обриси клітин, добре розвинена кутикула, будова та тип трихом. Відмінними ознаками були характер опушення центральної та бічних жилок, зморшкуватості нижньої поверхні листкової пластинки, ступінь розвитку опушення на стеблі та рельєф поверхні епідерми.

Для стандартизації трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона та розробки способу одержання лікарських засобів на її основі визначено показники якості (втрата в масі при висушуванні, вміст загальної золи, золи, нерозчинної в хлористоводневій кислоті, та екстрактивних речовин) та технологічні параметри сировини (середній розмір часток, питома маса, об'ємна та насипна густина, пористість, нарізність, вільний об'єм шару, коефіцієнт поглинання екстрагенту для різних розчинників).

На основі результатів проведених експериментальних досліджень розроблено спосіб одержання сухих екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшо-

льції Стаунтона. Як екстрагент для одержання екстракту з трави ельшольції в'ійчастої використовували 20 % етанол у співвідношенні сировина-екстрагент 1:25, а з трави ельшольції Стаунтона – 70 % етанол у співвідношенні сировина-екстрагент 1:10. Для одержаних екстрактів методом ВЕРХ вивчено склад БАР: встановлено наявність 10 і 8 гідроксикоричних кислот та 8 і 5 флавоноїдів відповідно. Спектрофотометрією встановлено вміст гідроксикоричних кислот, флавоноїдів і суми поліфенолів: у сухому екстракті трави ельшольції в'ійчастої – $1,77 \pm 0,08$ %, $3,38 \pm 0,14$ % і $5,31 \pm 0,21$ %, у сухому екстракті трави ельшольції Стаунтона – $5,68 \pm 0,23$ %, $6,03 \pm 0,24$ % і $14,52 \pm 0,48$ % відповідно.

Для сухих екстрактів трави ельшольції в'ійчастої та ельшольції Стаунтона вивчено гостру токсичність і фармакологічну активність. За класифікацією К. К. Сидорова обидва екстракти були віднесені до V класу токсичності (практично нетоксичні речовини). Методами *in vitro* та *in vivo* для сухих екстрактів встановлено помірну антимікробну, антифунгальну, аналгетичну, протизапальну та анксіолітичну активності.

Новизна проведених досліджень підтверджена патентами України на корисну модель «Спосіб стандартизації трави ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) в багатокомпонентних рослинних сумішах» та «Спосіб отримання сухих екстрактів рослинного походження з антибактеріальною дією».

На основі проведених фармакогностичних досліджень розроблено проекти МКЯ «Ельшольції в'ійчастої трава», «Ельшольції Стаунтона трава», «Ельшольції в'ійчастої трави екстракт сухий» та «Ельшольції Стаунтона трави екстракт сухий».

Результати хімічного та анатомічного дослідження впроваджено в науково-дослідну роботу споріднених кафедр закладів вищої освіти України.

Ключові слова: ельшольція в'ійчаста, ельшольція Стаунтона, трава, фармакогностичне вивчення, сухий екстракт, антимікробна активність, антифунгальна активність, аналгетична активність, протизапальна активність, анксіолітична активність, антиоксидантна активність.

Список публікацій здобувача

1. Зоценко Л. О., Цуркан О. О. Амінокислотний склад надземних органів *Elsholtzia Stauntonii* Benth. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика*. 2017. Вип.28. С. 51–56. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)
2. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Дослідження макро- і мікроелементного складу сировини *Elsholtzia stauntonii* та *Elsholtzia ciliata*. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. Вип.1. С. 63–66. DOI: 10.33617/2522-9680-2019-1-63 (Особистий внесок – брала участь в обробці, узагальненні результатів та підготовці статті)
3. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С., Панасенко О. І. Дослідження технологічних параметрів сировини трави ельшольції Стаунтона та трави ельшольції в'ійчастої. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2020. Т. 14, №4. С. 245–250. DOI: 10.33250/14.04.245 (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, в обговоренні, обробці результатів дослідження та підготовці статті)
4. Zotsenko L., Kyslychenko V. Fatty acids composition study of Mint Bush (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) and Chinese Vietnamese balm (*Elsholtzia ciliata* Thun.) in aboveground parts. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020. № 46. Vol. 1. P. 42–50. (Особистий внесок – брала участь в обговоренні, обробці результатів дослідження та підготовці статті)
5. Зоценко Л. О. Вивчення вітамінного складу трави деяких видів роду *Elsholtzia* Willd. *Annals of Mechnikov Institute*. 2021. №4. С. 74–78. DOI: 10.5281/zenodo.5761417 (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)
6. Anatomical and Ultrastructure Differences Between Some Species of the Genus *Elsholtzia* Willd. of Flora of Ukraine. / L. Zotsenko, N. Nuzhyna, V. Kyslychenko, O. Futorna. *Pharmacognosy Journal*. 2021. Vol. 13, Issue 4. P. 977–987. (Scopus) DOI: 10.5530/pj.2021.13.126 (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)
7. The Study of Phenolic Composition and Acute Toxicity, Anti-

inflammatory and Analgesic Effects of Dry Extracts of Some *Elsholtzia* Genus (Lamiaceae) Species / L. Zotsenko, V. Kyslychenko, K. Kalko, S. Drogozov. *PharmacologyOnline*. 2021. Vol. 2. P. 637–49. (Scopus) (*Особистий внесок* – одержувала екстракти, брала участь в обговоренні результатів дослідження та написанні статті)

8. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Дослідження вмісту вуглеводів у сировині деяких видів роду *Elsholtzia* Willd. *Annals of Mechnikov Institute*. 2022. № 1. С. 85-89. DOI: 10.5281/zenodo.6350433 (*Особистий внесок* – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, в обговоренні, обробці результатів дослідження та підготовці статті)

9. Патент на корисну модель № 100673. Спосіб стандартизації трави ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) в багатокомпонентних рослинних сумішах / Зоценко Л. О., Цуркан О. О., Гудзенко В. А. (Україна). № u201413200; Заявл. 09.12.2014; Опубл. 10.08.2015, Бюл. № 1. (*Особистий внесок* – брала участь в патентному пошуку, одержанні лікарського засобу та оформленні патенту)

10. Патент на корисну модель № 148148, МПК А61К 36/00. Спосіб отримання сухих екстрактів рослинного походження з антибактеріальною дією / Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. (Україна). № u202006318; Заявл. 29.09.2020; Опубл. 15.07.2021; Бюл. № 8. (*Особистий внесок* – брала участь в патентному пошуку, одержанні лікарського засобу та оформленні патенту)

11. Зоценко Л. О., Цуркан О. О. Дослідження вмісту розмаринової кислоти у траві ельшольції Стаунтона. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: матеріали II міжнародної науково-практичної internet-конференції, 21-23 березня 2016 р., м. Харків. Харків: Видавництво НФаУ, 2016. С. 115-116.

12. Зоценко Л. О., Гудзенко В. А. Дослідження вмісту розмаринової кислоти в екстрактах надземних частин ельшольції Стаунтона. *Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали XXXIII Всеукраїнської науково-практичної конференції за участю міжнародних

спеціалістів, 8 квітня 2016 р., м. Харків. Харків.: Видавництво НФаУ, 2016. С. 62.

13. Зоценко Л. О., Цуркан О. О. Дослідження вмісту поліфенольних сполук в екстрактах надземних частин ельшольції Стаунтона. *Хімія природних сполук*: матеріали IV Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, 21-22 квітня 2016 р., м. Тернопіль. Тернопіль: ТДМУ, 2016. С. 60–61.

14. Зоценко Л. О., Цуркан О.О. Ідентифікація та кількісне визначення мікро-та мікроелементів в сировині *Elsholtzia Stauntonii* Benth. *Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали II міжнародної науково-практичної конференції, 28-29 березня 2018 р., м. Харків. Харків: Видавництво НФаУ, 2018. С. 131–132.

15. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Визначення вмісту суми органічних кислот у траві ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) та ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* Thun.). *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали V Міжнародної науково.-практичної інтернет-конференції, 26 листопада 2020 р., м. Харків. Харків: Видавництво НФаУ, 2020. С. 195–196.

16. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Визначення вмісту хлорофілів та каротиноїдів у траві ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) та ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* Thun.). *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: матеріали IV Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, 26-27 листопада 2020 р., м. Харків. Харків: Видавництво НФаУ, 2020. С. 102–103.

17. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Визначення гострої токсичності сухих екстрактів ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) та ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* Thun.). *Planta+. Наука, практика та освіта*: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, 19 лютого 2021 р., м. Київ. Київ: НМУ Богомольця, 2021. С. 306–307.

18. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Дослідження кількісного та якісного

складу біологічно активних речовин в сухому екстракті трави ельшольції стаунтона. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: збірник матеріалів III Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, 2 квітня 2021 р., м. Харків. Харків: Видавництво НФаУ, 2021. С. 88.

19. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Дослідження фітостеролів у траві двох видів ельшольції. *Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень*: матеріали V Міжнародної наукової конференції, 2 квітня 2021 р., м. Березоточа. Березоточа, 2021. С. 264–268.

ANNOTATION

Zotsenko L.O. Pharmacognostic study of representatives of *Elsholtzia* genus. – Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for obtaining the scientific degree of Doctor of Philosophy in specialty 226 "Pharmacy, industrial pharmacy" (22 - Health care). – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2023.

The dissertation is devoted to the complex pharmacognostic study of representatives of *Elsholtzia* genus: Vietnamese lemon balm (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl.) and mintshrub (*Elsholtzia stauntonii* Benth.), obtaining and phytochemical research of medicinal products based on promising medicinal plant materials (PRM), as well as standardization of PRM and obtained herbal medicinal products.

The composition of biologically active compounds (BAC) of *Elsholtzia ciliata* and *Elsholtzia stauntonii* leaves, inflorescences, herb and stems was studied by chemical reactions, paper chromatography (PC), thin layer chromatography (TLC), gas chromatography (GC), high-performance chromatography (HPLC), chromatography-mass spectrometry (GC/MS) and X-ray fluorescence method. As a result of the analysis, amino acids, carbohydrates, organic, phenolic and hy-

droxycinnamic acids, flavonoids, anthocyanins, catechins, tannins, chlorophylls, carotenoids, phytosterols, fatty acids, volatile compounds, macro- and microelements were found.

Quantitative analysis of BAC in the studied types of plant raw materials of *Elsholtzia ciliata* and *Elsholtzia stauntonii* was carried out by chemical and instrumental methods. The content of amino acids, proteins, polysaccharides, fiber, organic acids, in particular ascorbic acid, vitamins B₁, B₂, B₃, B₉, hydroxycinnamic acids, flavonoids, procyanidins, tannins, plant pigments and the amount of lipophilic compounds was determined.

The gravimetric technique was used to determine the fractional composition of polysaccharides such as water-soluble polysaccharides (WSP), pectin substances (PS), hemicellulose A (HC A) and B (HC B). It was found that the content in *Elsholtzia ciliata* and *Elsholtzia stauntonii* herb was dominated by the WSP fraction and equaled $6,70 \pm 0,45$ % and $7,78 \pm 0,52$ %, respectively. In addition, *Elsholtzia stauntonii* herb dominated in the content of all fractions in comparison to *Elsholtzia ciliata* herb.

The content of vitamins B₁, B₂, B₃ and B₉ was determined in *Elsholtzia ciliata* and *Elsholtzia stauntonii* herb. Vitamin B₃ was determined in the largest amount in both types of plant raw materials and equaled $2,31 \pm 0,26$ mg/100g and $6,67 \pm 0,34$ mg/100g, and vitamin B₉ had the lowest value that equaled $0,002 \pm 0,0001$ mg/100g and $0,003 \pm 0,0001$ mg/100 g, respectively.

Extraction of tannins from *Elsholtzia ciliata* and *Elsholtzia stauntonii* plant raw material was carried out with water and ethanol of different concentrations (20 %–96 %). It was determined that tannins content in *Elsholtzia ciliata* plant raw material was significantly lower than in *Elsholtzia stauntonii* plant raw material. The best extractant for extracting tannins was 40 % ethanol ($0,94 \pm 0,02$ %), in particular, for inflorescences – 50 % ethanol ($0,76 \pm 0,01$ %), for stems – 90 % ethanol ($0,48 \pm 0,01$ %), for herb – 70 % ethanol ($0,54 \pm 0,01$ %). The following indicators of tannin content were detected for *Elsholtzia stauntonii* plant raw material: in leaves and inflorescences, the maximum was observed when using 70% ethanol – $1,49 \pm 0,07$ % and

1,33±0,06 %, in stems and herb – 50 % ethanol (0,67±0,03 % and 1,15±0,06 %, respectively).

By the exhaustive extraction technique with chloroform in a Soxhlet apparatus, lipophilic fractions (LF) of *Elsholtzia ciliata* and *Elsholtzia stauntonii* herb were obtained, the yield of which was 10,02±0,60 % and 8,61±0,52 %, respectively. The composition of LF was studied and the presence of chlorophylls and carotenoids was determined. The content of these substances was detected both in LF and in herb. It was determined that the content of plant pigments was higher in LF than in plant raw materials.

The amino acid composition of *Elsholtzia ciliata* and *Elsholtzia stauntonii* leaves, inflorescences and herb was determined by of ion-exchange liquid column chromatography technique. As the result of the research, 18 amino acids were identified and determined in *Elsholtzia ciliata* leaves and herb. Nineteen amino acids were identified and determined in *Elsholtzia ciliata* inflorescences and in all types of *Elsholtzia stauntonii* plant raw material. In all studied types of plant raw material, glutamic acid was present in the largest quantities. Among the essential amino acids, leucine was a dominant compound in *Elsholtzia ciliata* plant raw material, and leucine and methionine dominated in *Elsholtzia stauntonii*.

The composition of monosaccharides, organic acids, phytosterols, and volatile compounds in the investigated types of plant raw material of two *Elsholtzia* species was studied using the GC/MS technique. In the free state, 3 monosugars were identified in *Elsholtzia ciliata* leaves and herb and in *Elsholtzia stauntonii* leaves and inflorescences. 4 sugars were detected in *Elsholtzia ciliata* inflorescences and *Elsholtzia stauntonii* herb. 9 bound sugars were found in *Elsholtzia ciliata* leaves and herb and in *Elsholtzia stauntonii* herb, 8 of them in *Elsholtzia ciliata* inflorescences and in *Elsholtzia stauntonii* leaves and inflorescences. According to the quantitative content in all studied types of plant raw material both in free and in the bound state, glucose was a dominant compound.

The content of 8 organic acids was identified and determined in *Elsholtzia ciliata* leaves, 6 – in the inflorescences. Nine organic acids were determined in

Elsholtzia stauntonii leaves 9, 10 – in the inflorescences. Seven organic acids were found in the herb of both species. Malic, succinic and citric acids are identified in all types of plant raw material. A significant amount of citric acid was determined in *Elsholtzia ciliata* and *Elsholtzia stauntonii* leaves and inflorescences, and succinic acid was found in the herb of both species.

Five and two phytosterols have been identified in *Elsholtzia ciliata* and *Elsholtzia stauntonii* herb, respectively. The total content of phytosterols was higher in *Elsholtzia stauntonii* herb and equaled $3,646 \pm 0,073$ mg/g. The dominant compound for both species of *Elsholtzia* was γ -sitosterol, the content of which was $0,580 \pm 0,004$ mg/g and $3,302 \pm 0,019$ mg/g, respectively.

Among the volatile compounds, 27 compounds were identified in *Elsholtzia ciliata* leaves, 21 in the inflorescences, 7 compounds in the herb. Twenty-two, 29, and 40 volatile compounds were determined in *Elsholtzia stauntonii* herb, respectively. Elsholtziaketone and dehydroelsholtziaketone were determined in dominant quantities in *Elsholtzia ciliata* plant raw material, and caryophyllene and caryophyllene oxide were found in *Elsholtzia stauntonii* plant raw materials. These compounds can be considered as marker substances for the studied types of plant raw materials.

Phenolic compounds such as hydroxycinnamic acids and flavonoids were studied by HPLC technique. Four hydroxycinnamic acids were identified in *Elsholtzia ciliata* leaves, and 8 hydroxycinnamic acids each in the inflorescences and herb; 6 hydroxycinnamic acids were identified in *Elsholtzia stauntonii* leaves and inflorescences, and 9 in herb. Chlorogenic acid was a major compound in the herb of both *Elsholtzia* species. When studying rosmarinic acid in *Elsholtzia stauntonii* plant raw material, the nature of the extractant for the process of extracting of this compound from the plant raw material was determined. Thus, 70 % ethanol turned out to be the best extractant for leaves, inflorescences and stems – $2,11 \pm 0,04$ %, $2,37 \pm 0,05$ % and $0,65 \pm 0,01$ %, respectively, and 50 % ethanol was the best extractant for herb – $1,47 \pm 0,03$ %.

When studying flavonoids, 6 flavonoid compounds were identified in *Elsholtzia ciliata* leaves, 4 in *Elsholtzia stauntonii* leaves, 5 of each in the inflorescences of both *Elsholtzia* species, and 6 in herb. Luteolin, neohesperidin, and naringenin were found in the largest amount in all studied objects. The content of 4 catechins was identified and determined in the herb of both *Elsholtzia* species, among which catechin dominated. Its content in *Elsholtzia ciliata* herb was $1009,11 \pm 20,18$ $\mu\text{g/g}$, in *Elsholtzia stauntonii* herb it equaled $791,34 \pm 15,83$ $\mu\text{g/g}$. 8 and 11 anthocyanins were identified and determined in *Elsholtzia ciliata* and *Elsholtzia stauntonii* inflorescences, respectively. Cyanidin-3-glucoside and malvidin-3-galactoside ($33,99 \pm 0,68$ % and $33,23 \pm 0,66$ %, respectively) prevailed in the inflorescences of *Elsholtzia ciliata*. Malvidin-3-arabinoside and malvidin-3-glucoside ($41,72 \pm 0,83$ % and $27,33 \pm 0,55$ %, respectively) were dominant compounds in *Elsholtzia stauntonii* inflorescences.

The fatty acid composition of *Elsholtzia ciliata* and *Elsholtzia stauntonii* plant raw material by the GC technique. 14 free fatty acids were identified in *Elsholtzia ciliata* plant raw material, 15 – in *Elsholtzia stauntonii*, among which 12 were identified in *Elsholtzia ciliata* leaves, inflorescences and stems, 10 in herb; 12 in *Elsholtzia stauntonii* leaves and inflorescences, in each, the stems and herb, 13 fatty acids were detected. Among saturated fatty acids, the highest content was determined for palmitic acid, among unsaturated fatty acids – for linolenic acid, and in *Elsholtzia stauntonii* stems – for linoleic acid. The sum of unsaturated fatty acids was higher in *Elsholtzia ciliata* plant raw material and in *Elsholtzia stauntonii* inflorescences, stems and herb. Saturated fatty acids predominated in *Elsholtzia stauntonii* leaves.

X-ray fluorescence spectrometry was used to study the elemental composition of *Elsholtzia ciliata* and *Elsholtzia stauntonii* plant raw material. The content of 16 elements has been identified and defined. All types of plant raw material contained the largest amount of potassium, calcium and sulfur. The content of heavy metals was within the requirements of maximum permissible concentrations for plant raw materials and food products.

The morphological and anatomical structure and ultrastructure of the surface of the epidermal tissue of *Elsholtzia ciliata* and *Elsholtzia stauntonii* herb was studied. Distinctive morphological diagnostic features are determined by the pubescence of the stem, leaf plate, and corolla; shape and edge of the leaf; corolla color. For *Elsholtzia ciliata*, the anatomical diagnostic features are the presence of small glandular trichomes that are singly located on the veins, long simple trichomes on the central vein from the lower side, and simple petiole trichomes that are three times longer than those of *Elsholtzia stauntonii*. Such distinctive features for *Elsholtzia stauntonii* is the presence of numerous trichomes and massive accumulations of sclerenchyma in the stem. When studying the epidermal tissue surface ultrastructure, the hypostomatic type of the leaf plate, the anomocytic type of the stomatal apparatus, flattened projections and sinuous outlines of cells, a well-developed cuticle, the structure and type of trichomes are classified as common features. Distinctive features were the pubescence character of the central and lateral veins, the wrinkling of the lower surface of the leaf blade, the degree of pubescence development on the stem, and the topography of the epidermal surface.

Quality indicators (loss in mass during drying, content of total ash, ash insoluble in hydrochloric acid, and extractive substances) and technological parameters of plant raw material (average particle size specific gravity, volume and bulk density, porosity, cross section, free layer volume, extractant absorption coefficient for different solvents) were determined in order to standardize *Elsholtzia ciliata* and *Elsholtzia stauntonii* herb and develop a method of obtaining medicinal products based on it.

Based on the results of the experimental studies, a method of obtaining *Elsholtzia ciliata* and *Elsholtzia stauntonii* herb dry extracts was developed. As an extractant, 20 % ethanol was used in the ratio of plant raw material to extractant of 1:25 from *Elsholtzia ciliata* herb, and 70 % ethanol was used in the ratio of plant raw material to extractant of 1:10 from *Elsholtzia stauntonii* herb. For the obtained extracts, the BAC composition was studied by HPLC technique: the presence of 10 and 8 hydroxycinnamic acids and 8 and 5 flavonoids, respectively, was detected. The

content of hydroxycinnamic acids, flavonoids, and the sum of polyphenols was determined by spectrophotometry. It equaled $1,77 \pm 0,08$ %, $3,38 \pm 0,14$ % and $5,31 \pm 0,21$ % in *Elsholtzia ciliata* herb dry extract. It equaled $5,68 \pm 0,23$ %, $6,03 \pm 0,24$ % and $14,52 \pm 0,48$ % in *Elsholtzia stauntonii* herb dry extract, respectively.

Acute toxicity and pharmacological activity were studied for *Elsholtzia ciliata* and *Elsholtzia stauntonii* herb dry extracts. According to K. K. Sydorov's classification, both extracts were assigned to the V class of toxicity (practically non-toxic substances). Moderate antimicrobial, antifungal, analgesic, anti-inflammatory, anxiolytic and antiradical activity was determined for dry extracts by *in vitro* and *in vivo* methods.

The novelty of the conducted research is confirmed by patents of Ukraine for the useful model «of Standardization technique of *Elsholtzia stauntonii* herb (*Elsholtzia stauntonii* Benth.) in multi-component plant mixtures» and «Method of obtaining of dry extracts of plant origin with antibacterial action».

The projects of the quality control techniques (QCT) «*Elsholtzia ciliata* herb», «*Elsholtzia stauntonii* herb», «*Elsholtzia ciliata* herb dry extract» and «*Elsholtzia stauntonii* herb dry extract» were worked out on the basis of the conducted pharmacognostic studies.

The results of chemical and anatomical research are incorporated into the research work of related departments of higher education institutions of Ukraine.

Key words: *Elsholtzia ciliata*, *Elsholtzia stauntonii*, mintshrub, Vietnamese lemon balm, herb, pharmacognostic study, dry extract, antimicrobial activity, antifungal activity, analgesic activity, anti-inflammatory activity, anxiolytic activity, antioxidant activity, antiradical activity.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	20
ВСТУП.....	21
РОЗДІЛ 1 БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД ТА ЗАСТОСУВАННЯ РОСЛИН РОДУ <i>ELSHOLTZIA</i> Willd. (Огляд літератури)..	27
1.1 Ботанічна характеристика рослин роду Ельшольція (<i>Elsholtzia</i> Willd.)	27
1.2 Хімічний склад ельшольції війчастої та Стаунтона.....	32
1.3 Фармакологічні властивості та застосування ельшольції війчастої та Стаунтона.....	41
1.4 Застосування рослин роду Ельшольція у традиційній медицині та його господарське значення	46
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕНЬ	50
2.1 Короткі відомості про об'єкти дослідження.....	50
2.2 Відомості про реактиви, методи та методики.....	50
2.3 Методики дослідження БАР у сировині ельшольції.....	53
2.4 Методики визначення показників якості та технологічних параметрів сировини	79
2.5 Методики проведення фармакологічних досліджень	82
РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ СКЛАДУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН СИРОВИНИ ЕЛЬШОЛЬЦІЇ ВІЙЧАСТОЇ ТА ЕЛЬШОЛЬЦІЇ СТАУНТОНА....	88
3.1 Дослідження нітрогеновмісних сполук	88
3.2 Дослідження вуглеводів.....	92
3.3 Дослідження органічних кислот	103
3.4 Дослідження вітамінів.....	109
3.5 Дослідження гідроксикоричних кислот	110
3.6 Дослідження флавоноїдів.....	115
3.7 Дослідження танінів	125
3.8 Дослідження ліпофільних речовин	127
3.9 Дослідження хлорофілів і каротиноїдів	128

	19
3.10 Вивчення жирнокислотного складу.....	130
3.11 Дослідження фітостеролів	135
3.12 Дослідження летких сполук.....	137
3.13 Дослідження елементного складу	151
Висновки до розділу 3	153
РОЗДІЛ 4 ВИВЧЕННЯ МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНОЇ БУДОВИ ТРАВИ	
ЕЛЬШОЛЬЦІЇ ВІЙЧАСТОЇ ТА ЕЛЬШОЛЬЦІЇ СТАУНТОНА. ВИЗНАЧЕННЯ	
ПОКАЗНИКІВ ЯКОСТІ ТА ТЕХНОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ СИРОВИНИ. 161	
4.1 Вивчення морфологічних ознаки сировини.....	161
4.2 Вивчення анатомічної будови сировини	162
4.3 Визначення показників якості сировини.....	176
4.4 Визначення технологічних параметрів сировини	178
Висновки до розділу 4	180
РОЗДІЛ 5 ОДЕРЖАННЯ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ СУХИХ ЕСКТРАКТІВ ТРАВИ	
ЕЛЬШОЛЬЦІЇ ВІЙЧАСТОЇ ТА ЕЛЬШОЛЬЦІЇ СТАУНТОНА..... 182	
5.1 Попереднє скринінгове вивчення антимікробної активності	182
5.2 Одержання сухих екстрактів трави ельшольцїї війчастої та ельшольцїї	
Стаунтона та їх фітохімічне дослідження	191
5.3 Дослідження фармакологічної активності сухих екстрактів	196
5.3.1 PASS-прогноз фармакологічної дії.....	196
5.3.2 Визначення гострої токсичності	201
5.3.3 Вивчення фармакологічних властивостей.....	204
Висновки до розділу 5	209
ВИСНОВКИ.....	211
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	213
ДОДАТКИ.....	230

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АРА – антирадикальна активність

БАР – біологічно активі речовини

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

ВРПС – водорозчинні полісахариди

ГАМК – γ -Аміномасляна кислота

ГХ – газова хроматографія

ГХ/МС – газова хроматографія/масс-спектрометрія

ГЦ А – геміцелюлоза А

ГЦ Б – геміцелюлоза Б

ДУ – Державна установа

ДФПГ – 2,2-дифеніл-1-пікрилгідрозил

ДФУ – Державна фармакопея України

ЖКС – жирнокислотний склад

ЛФ – ліпофільна фракція

МБцК – мінімальна бактерицидна концентрація

МІК – мінімальна інгібуюча концентрація

МКЯ – методи контролю якості

НАМНУ – Національна академія медичних наук України

ПР – пектинові речовини

ПХ – паперова хроматографія

РФМ – рентгено-флуоресцентний метод

СЕЕВ – сухий екстракт ельшольції вільчастої

СЕЕС – сухий екстракт ельшольції Стаунтона

СЗ – стандартний зразок

ТШХ – тонкошарова хроматографія

УФ – ультрафіолетова область

ЦНС – центральна нервова система

LD₅₀ – полулетальна доза

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Фармацевтичний ринок є важливим сектором економіки будь-якої країни, а також критерієм її економічного та соціального розвитку, рівня добробуту населення. Розвинену фармацевтичну промисловість вважають показником високої інноваційності економіки країни. На сьогодні в усьому світі значно зріс інтерес лікарів і населення до лікарських засобів рослинного походження [27, 57]. Третину фармацевтичного ринку України займають лікарські засоби з рослинної сировини та їх частка щорічно зростає на 5-7% [57, 85]. Зацікавленість до використання фітозасобів пояснюється їх численними перевагами перед синтетичними препаратами. У першу чергу, вони майже не викликають алергічних реакцій, мають менше побічних ефектів і малотоксичні, що зумовлює можливість їх застосування протягом тривалого часу для лікування хронічних захворювань. Завдяки комплексу біологічно активних речовин, вони виявляють широкий спектр лікувальних властивостей. Крім того, природні сполуки мають вищу біодоступність, ніж речовини синтетичного походження [19, 57].

Підвищений попит на засоби рослинного походження зумовлює необхідність збільшення асортименту лікарської рослинної сировини, підвищення вимог до її якості, розширення виробництва та удосконалення технологій одержання лікарських засобів на її основі [53]. Зростаюча потреба фармацевтичної та парфумерно-косметичної промисловості у високоякісній рослинній сировині, є однією з причин пошуку нових перспективних ефіроносів, а також розробки методів її стандартизації [81].

Особливий інтерес викликають рослини, що мають комплекс корисних властивостей, до яких, без сумніву, належать представники роду Ельшольція (*Elsholtzia* Willd.) – ельшольція війчаста (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Nyl.) та ельшольція Стаунтона (*Elsholtzia stauntonii* Benth.). Ельшольція війчаста росте по всій території України, а ельшольція Стаунтона – культивується як ефіроолійна рослина. Сировина ельшольції виявляє антимікробну, спазмолітичну, відхарку-

вальну, потогінну, гемостатичну, анальгізуючу, вітрогінну та діуретичну дії. У традиційній медицині різних країн світу її застосовують для лікування туберкульозу, набряків, гострого гастриту, асцити, ерозії шийки матки тощо [98]. Дослідження хімічного складу ельшольції війчастої розпочато у 1924 році, коли вперше було одержано ефірну олію з трави даної рослини. На сьогодні вивченню біологічно активних речовин ельшольції війчастої присвячено багато праць закордонних науковців [89, 105, 108, 140, 144, 149, 155]. Що стосується ельшольції Стаунтона, даний вид вивчений значно менше [62, 83, 124, 152].

В Україні рід ельшольція є неофіціальним, а сировина потребує стандартизації. Оскільки рослина має багатий хімічний склад БАР та широкий спектр фармакологічної активності, то актуальним є проведення комплексного фармакогностичного вивчення сировини ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона з метою розробки методів стандартизації сировини та створення на її основі ефективних вітчизняних лікарських засобів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану проблемної комісії «Фармація» МОЗ і НАМН України та є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (номер державної реєстрації 0114U000946).

Мета і завдання дослідження

Метою дисертаційної роботи було проведення комплексного порівняльного фармакогностичного вивчення представників роду *Elsholtzia*: ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Nyl.) і ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia stauntonii* Benth.), стандартизація рослинної сировини, розробка та стандартизація одержаних лікарських рослинних засобів.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- провести пошук та аналіз даних сучасної наукової літератури щодо ботанічної характеристики, хімічного складу, застосування представників роду Ельшольція у медицині та народному господарстві;

- здійснити комплексне порівняльне фітохімічне вивчення складу БАР та визначити їх вміст у сировині ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона;
- обрати перспективну сировину для одержання лікарських рослинних засобів;
- визначити морфолого-анатомічні діагностичні ознаки, показники якості за вимогами ДФУ та технологічні параметри сировини;
- розробити технології одержання потенційних лікарських засобів із перспективних видів сировини та вивчити їх хімічний склад;
- стандартизувати ЛРС та одержані на її основі лікарські рослинні засіби;
- провести вивчення фармакологічної активності.

Об'єкт дослідження – комплексне порівняльне вивчення сировини ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона та одержаних на їх основі лікарських засобів.

Предмет дослідження – визначення якісного складу та вмісту БАР у сировині ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона та лікарських рослинних засобів на її основі, стандартизація сировини та лікарських засобів, вивчення фармакологічної активності одержаних лікарських рослинних засобів.

Методи дослідження

Фізичні (втрата в масі при висушуванні, розчинність); *фізико-хімічні* (хроматографія на папері та в тонкому шарі сорбенту, високоефективна рідинна хроматографія, газорідинна хроматографія, спектрофотометрія в УФ- та видимій областях спектру, рентген-флуоресцентний метод, титриметрія, гравіметрія); *хімічні* (реакції ідентифікації); *технологічні* (ситовий аналіз, об'ємна вага, питома маса, насипна маса, пористість сировини, порізність шару, вільний об'єм шару, коефіцієнт поглинання екстрагенту, вибір екстрагенту, співвідношення сировина – екстрагент); *мікроскопічні* (мікропрепарати з поверхні та поперечні зрізи органів рослини); *фармакологічні* (*in vitro* та *in vivo*); *статистичні* (статистична обробка результатів за вимогами ДФУ).

Наукова новизна отриманих результатів

Уперше проведено комплексне порівняльне фармакогностичне вивчення

трави двох видів Ельшольції – ельшольції в'їчастої та ельшольції Стаунтона. Хімічними та фізико-хімічними методами визначено амінокислоти, вуглеводи, органічні та жирні кислоти, фенольні сполуки, хлорофіли, каротиноїди, фітостероли, леткі сполуки, макро- та мікроелементи.

Для трави ельшольції в'їчастої та ельшольції Стаунтона встановлено морфолого-анатомічні діагностичні ознаки та запропоновано параметри стандартизації.

Розроблено способи одержання сухих екстрактів з трави ельшольції в'їчастої та ельшольції Стаунтона, проведено їх дослідження та запропоновано параметри стандартизації. Вивчено гостру токсичність та фармакологічну активність сухих екстрактів з трави ельшольції в'їчастої та ельшольції Стаунтона.

Новизна наукових досліджень підтверджена патентами України на корисну модель № 100673 «Спосіб стандартизації трави ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia stauntonii* Benth.) в багатокомпонентних рослинних сумішах» та № 148148 «Спосіб отримання сухих екстрактів рослинного походження з антибактеріальною дією».

Практичне значення отриманих результатів

На основі даних, одержаних під час виконання фармакогностичного аналізу, розроблено проекти МКЯ: «Ельшольції в'їчастої трава», «Ельшольції Стаунтона трава», «Ельшольції в'їчастої трави екстракт сухий» та «Ельшольції Стаунтона трави екстракт сухий».

Результати фармакогностичного дослідження трави ельшольції в'їчастої та ельшольції Стаунтона впроваджено у науково-дослідну роботу кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця, кафедри природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії Запорізького державного медичного університету, кафедри фармацевтичної і біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет», лабораторії фармацевтичного аналізу ДП «Державний експертний центр МОЗ України».

Особистий внесок здобувача

Безпосередньо автором здійснено:

- пошук, аналіз та узагальнення даних сучасної літератури за темою дисертаційної роботи;
- встановлено склад та визначено вміст БАР у траві ельшольції війчас-тої та ельшольції Стаунтона;
- визначено морфолого-анатомічні діагностичні ознаки, показники якості та технологічні параметри для сировини, що вивчалася;
- розроблено технологію одержання та проведено фітохімічне дослідження ельшольції трави екстракту сухого;
- запропоновано параметри стандартизації та розроблено МКЯ «Ельшольції трава», «Ельшольції трави екстракт сухий»;
- проведено узагальнення результатів вивчення антибактеріальної активності лікарських засобів на основі ельшольції трави.

Наукові роботи опубліковані у співавторстві з Кисличенко В.С., Цуркан О.О., Панасенко О.І., Нужиною Н., Футорною О., Калько К., Дроговоз С.М. Співавторами наукових праць є науковий керівник та науковці, спільно з якими проведені дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал та основний творчий доробок.

Постановка мети та завдань, обговорення результатів проведені разом із науковим керівником.

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня: II міжнародній науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (м. Харків, 21-23 березня 2016 р.); XXXIII Всеукраїнській науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів «Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 8 квітня 2016 р.); IV Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (м. Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р.); II

міжнародній науково-практичній конференції «Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 28-29 березня 2018 р.); V Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (м. Харків, 26 листопада 2020 р.); IV Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (м. Харків, 26-27 листопада 2020 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Planta+. Наука, практика та освіта» (м. Київ, 19 лютого 2021 р.); III Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (м. Харків, 2 квітня 2021 р.); V Міжнародній науковій конференції «Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень» (м. Березоточа, 2 квітня 2021 р.).

Обсяг та структура дисертації

Дисертаційна робота викладена на 254 сторінках машинописного тексту, складається із анотації, вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 4 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 168 сторінок друкованого тексту. Робота проілюстрована 54 таблицями та 82 рисунками. Список використаних джерел налічує 159 найменувань, з них 86 кирилицею та 73 латиницею.

РОЗДІЛ 1
БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД ТА ЗАСТОСУ-
ВАННЯ РОСЛИН РОДУ *ELSHOLTZIA* Willd.
(Огляд літератури)

1.1 Ботанічна характеристика рослин роду Ельшольція (*Elsholtzia* Willd.)

Рід *Elsholtzia* Willd. належить до родини Глухокропивні (*Lamiaceae*) і налічує понад 40 видів. Це однорічні та багаторічні трав'янисті рослини, напівкущі, рідше кущі, від 6-40 см до 100-150 см заввишки. Стебла прості або гіллясті, коротко опушені, чотиригранні. Листки супротивні, опушені з одного або обох боків, по краю зубчасті, з точковими залозками, мають сильний аромат, особливо при розтиранні. Квітки зібрані в густі, щільно скручені, несправжні мутовки, що розташовані в пазухах приквітків, які коротші або довші за квітки, та формують повстисто-опушені, циліндричні, колосоподібні, щільні, односторонні суцвіття, які в свою чергу, утворюють складну, велику верхівкову волоть. Приквітки дрібні, неоппадаючі, округлі або широкояйцеподібні, зелені, загострені, війчасті. Чашечка яйцеподібна, трубчаста або дзвоникоподібна, п'ятизубчаста, з вузьколанцетними або майже шилоподібними зубцями, плівчата, залозиста, густо опушена або волосиста, має п'ять жилок. Віночок дрібний, коротко-опушений зовні та опушений або голий всередині, зазвичай ліловий або червоно-фіолетовий, рідше білий і жовтуватий, трубчасто-дзвоникуватий, у 3 рази довший за чашечку, неясно двогубий, по краю ворсистий. Трубочка віночка пряма, верхня губа нерозсічена, шоломоподібна, нижня губа трилопатева, з великою середньою долею, край цільний, на верхівці припіднятий або виїмчастий. Тичинок 4, зазвичай випуклі, рівні довжині віночка або 2 злегка виступають з нього, нитки голі, вільні, пильовики двочасткові. Гінецей із 2 плодолистиків, голий. Зав'язь верхня, кожне гніздо зав'язі з несправжньою перетинкою. Плід – сухий, дрібний, розпадається на 4 однонасінні горішкоподібні долі. Горішки довжиною 1 мм, гладенькі або бугристі, шорохуваті, від яйцеподібної до продовгуватої форми, голі або слабко опушені [121, 151].

Центром походження та видоутворення роду *Elsholtzia* є Китай, де вона зростає в усіх провінціях – 33 види. Вид широко поширений у Східній Азії, Індокитаї та Японії, зустрічається у більшості районів Індії, а також у Малайзії та Монголії. Рослини роду *Elsholtzia* Willd. поширені переважно у помірних регіонах Північної півкулі, а також у Північній Америці. Більшість представників роду зустрічається на висоті від 1000 до 3000 метрів над рівнем моря. Ростуть на горбистих луках, пустирях, у лісах, долинах. Культивується у багатьох країнах Європи та Північної Америки (рис. 1.1) [112, 143].

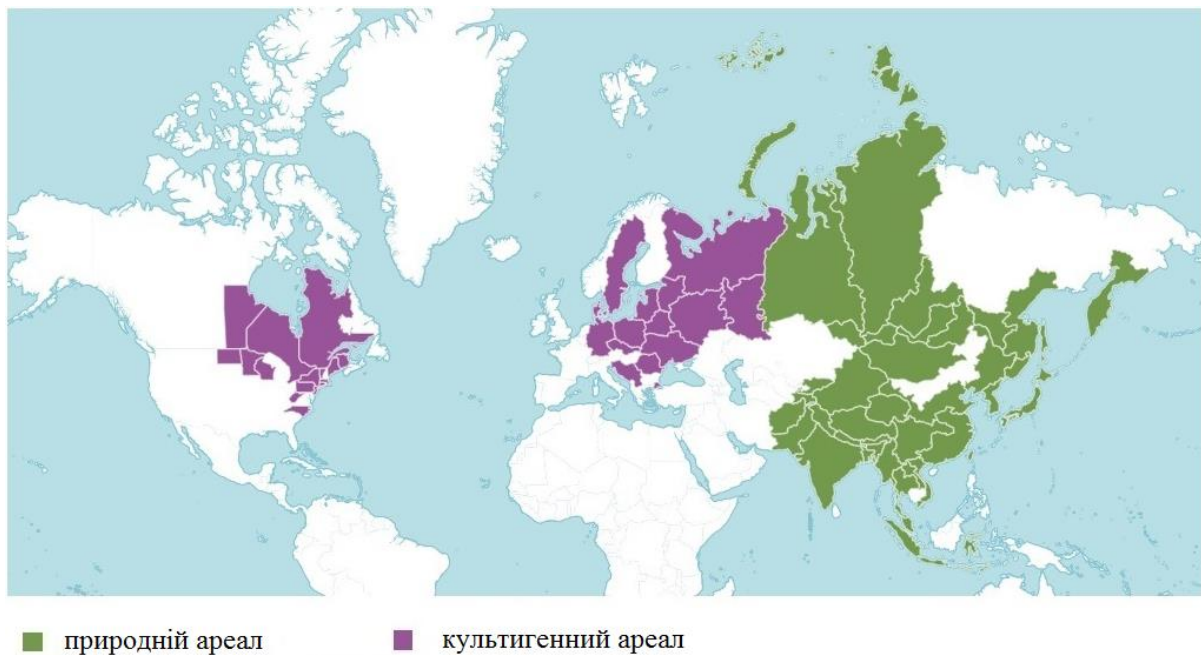


Рис. 1.1 Ареал поширення роду *Elsholtzia* Willd. [112].

У Європі ельшольція війчаста з'явилася не раніше XVI ст. Швидше за все, вона потрапила до Європи у середині XVIII ст. з насінням, яке посилав з Китаю ченець-ізуїт Г. Кмел. У США відомості про ельшольцію війчасту як заносний бур'ян вперше з'явилися у 1887 р. у містечку Нотр-Дам-дю-Лак (канадська провінція Квебек). Наступна згадка про рослину датується 1909 р.: її було знайдено у США біля штату Мен. З цього моменту вид активно розселяється, освоюючи різні місця зростання [112, 133].

На теперішній час ельшольція війчаста сформувала великий вторинний ареал. У Європі вид вирощується у садах, часто дичавіє. Вона зустрічається на засмічених ландшафтах, по берегах і мілинах річок. У Канаді та на сході США

як заносна рослина зростає на засмічених місцях, уздовж доріг та на узліссях лісів. Поширена у Західному та Східному Сибіру до 54 с. ш. Як заносна рослина відзначається на Далекому Сході, Кавказі [112, 143].

В Україні в дикому вигляді зустрічається лише ельшольція війчаста *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Nyl. (син. ельшольція гребінчаста (*Elsholtzia cristata* Willd.)), ельшольція Патрена (*Elsholtzia Patrinii* (Lepech.) Garcke). Вона вважається адвентивною рослиною, а в деяких регіонах – інвазійною та бур'яном. Зростає розсіяно в усіх кліматичних зонах України. Найбільші зарості зосереджені в Центральному Полісі та на Закарпатті. Ростає, переважно, на берегах річок, у садах, городах, полях як бур'ян [11, 47, 78, 82].

Це однорічна, трав'яниста рослина зі стрижневим коренем. Кореневі розгалуження знаходяться у верхніх ґрунтових горизонтах на глибині від 5 до 20 см. Стебло 10-70 см заввишки, прямостояче, чотиригранне, у нижній частині вкорінюється, у верхній частині розгалужене, нерівномірно опушене по гранях і борозенках, з більш густим опушенням під вузлами і у верхній частині під суцвіттям (рис. 1.2) [46, 112, 133, 151].



Рис. 1.2 Зовнішній вигляд ельшольції війчастої.

Листки довгочерешкові, 1,5-10 см завдовжки, 1-3,5(4) см завширшки, яйцеподібно-еліптичні або ланцетні, в основі клиноподібні, до верхівки поступово звужені, по краю дрібно городчасто-пилчасті, із 15-20 гострими зубцями з кожного боку, розсіяно опушені. Черешки в 2 рази коротші за листову пластинку. Суцвіття густе, колосоподібне, циліндричне, переважно однобічне, складається з несправжніх мутовок, 2-6 см завдовжки і 1 см завширшки. Кількість квіток у несправжніх мутовках коливається від 11 до 17. Квіткова вісь опушена. Приквітки зелені, трав'янисті, округлі або широкояйцеподібні, 4-5 мм завдовжки, 5-6 мм завширшки, з гострою верхівкою довжиною 1 мм, по краю дрібновійчасті, мають жилки. Чашечка 1,5-2 мм довжиною, яйцеподібна, з майже однаковими зубцями, залозиста, густо опушена, війчаста. Віночок ліловий, 3-4 мм завдовжки, зовні коротко опушений, з війчастими лопатями. Плід – темно-бурий, яйцеподібний, гладенький горішок, тупуватий на верхньому кінці, 1-1,5 мм завдовжки. Цвіте в липні-серпні, плоди достигають у вересні [46, 112, 133, 151].

Ельшольція Стаунтона (*Elsholtzia stauntonii* Benth.) (син. *Aphanochilus stauntonii* Benth.) походить з Китаю, де зростає по берегах річок, у заростях чагарників або на кам'янистих місцях на висоті 700-1600 м над рівнем моря. Культивується як ефіроолійна рослина в Криму [75, 78]. Зокрема, у Національному Нікітському ботанічному саду на початку 2000-х років був виведений сорт Рожева хмаринка [19, 58].

Це листопадний прямостоячий напівкущ заввишки від 70 см до 150 см. Стебла у верхній частині сильно розгалужені, фіолетово-червоні, сіро-опушені короткими м'якими волосками (рис. 1.3) [111, 112, 133, 151].

Листки прості, черешкові, супротивні, восени червоніють. Черешок 4-6 мм завдовжки, фіолетовий, коротко-опушений. Листкова пластинка від ланцетної до еліптично-ланцетної форми, верхня сторона гола, пурпурна по краю та середній жилці, нижня білувата, щільно-залозиста, основа звужена, край пилчасто-зубчастий, верхівка загострена. Суцвіття вузькі, колосоподібні, прямі, густоквіткові, однобічні, сіро-опушені короткими м'якими волосками, завдовжки до 20 см. Мувки складаються з 5-10 квіток. Приквітки від ланцетних до лінійно-ланцетних, 2-3 мм завдовжки. Квітконіжка завдовжки 0,5 мм.



Рис. 1.3 Зовнішній вигляд ельшольції Стаунтона.

Чашечка трубчасто-дзвоникувата, зовні – густо сіро-повстиста, всередині – гола, за винятком зубців. Зубці яйцевидно-ланцетні, завдовжки приблизно 0,5 мм, майже однакові за розміром. Віночок рожево-фіолетовий, близько 9 мм завдовжки, зовні вкритий білими ворсинками, всередині – зрідка залозистий. Трубочка нижньої зрослої частини віночка лійчаста, завдовжки близько 6 мм, до горла 2,5 мм завширшки; верхня губа довжиною близько 2 мм, з неглибокою виїмкою на верхівці; середня частина нижньої губи заокруглена, близько 3 мм завдовжки; бічні частки яйцеподібні або округлі, трохи коротші середньої частини. Передні тичинки сильно виступають. Плоди – еліпсоподібні, гладенькі горішки. Цвіте з кінця серпня до середини жовтня. В кліматичних умовах України період дозрівання плодів не встигає відбутися через настання перших приморозків [133, 151].

1.2 Хімічний склад ельшольції війчастої та Стаунтона

Численними дослідженнями хімічного складу ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Nyl.) доведено, що трава рослини містить феноли, ефірну олію, флавоноїди, стероїди та тритерпени [95].

Відомо, що надземна частина ельшольції війчастої накопичує ефірну олію, максимальний вміст якої спостерігається під час цвітіння рослини. Дослідженню компонентного складу ефірної олії трави ельшольції війчастої присвячена велика кількість наукових праць закордонних і вітчизняних вчених. Результати проведених досліджень свідчать, що компонентний склад ефірної олії ельшольції війчастої коливається залежно від місця зростання [111, 112].

Вченими Китайського аграрного університету досліджено компонентний склад ефірної олії даного виду ельшольції, одержану методом гідродистиляції. Газовою хроматографією/мас-спектрометрією ідентифіковано 36 сполук, що становило 98,3% від загального вмісту олії. Основними компонентами були дегідроельшольцикетон (26,5%), ельшольцикетон (14,6%) (рис. 1.4), (R)-карвон (16,6%) і D-лімонен (4,1%). Ефірна олія містила більшу кількість монотерпеноїдів (83,4%), ніж сесквітерпеноїдів (8,3%) [89].

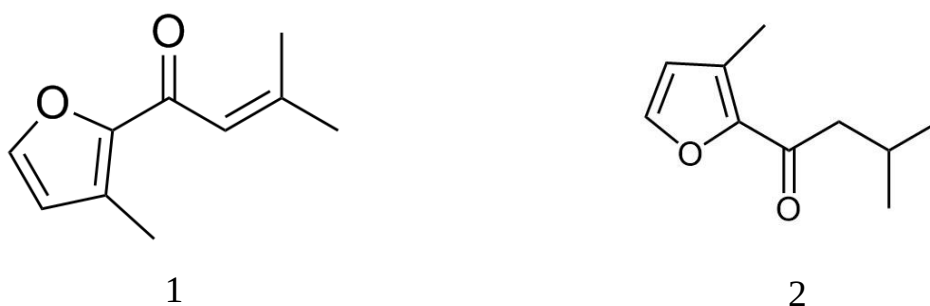


Рис. 1.4 Специфічні компоненти ефірної олії – дегідроельшольцикетон (1) і ельшольцикетон (2).

Подібні дослідження проведені у Корейському інституті науки і технологій, у результаті яких у ефірній олії ельшольції війчастої домінуючими компонентами виявилися ліналоол, ельшольцикетон, нагінатокетон і його ізомер, міристицин і сесквітерпеновий спирт [87, 122].

Корейські вчені Джонс-Хі Кім і Де-Хо Чон, використовуючи газову хромато-мас-спектрометрію, визначили склад летких сполук екстракту з листя

ельшольції в'ійчастої. Ідентифіковано 22 сполуки, основними з яких були дигідроагетон (62,7%), β -каріофелен (4,96%), гермакрен-d (4,03%) і α -гумулен (1,34%) [126].

Дослідження, проведені в Центрі біологічних досліджень «Stejarul», П'ятра Нямц (Румунія), дозволили ідентифікувати 17 основних хімічних сполук в ефірній олії ельшольції в'ійчастої: α -пінен (0,3%), сабінен (0,2%), 1-октен-3-ол (0,3%), β -пінен (0,8%), 3-октанон (0,2%), мірцен (0,1%), 3-октанол (0,1), *n*-цимол (0,6%), лімонен (0,1%), евкаліптол (6,3%), γ -терпінен (1,2%), ацетофенон (2,2%), (Z)-цинерон (50,8%), ліналоол (2,7%), епоксид розфурану (20,6%), α -терпінеол (1,0%), β -каріофілен (6,2%). Ефірна олія рослини характеризується високим вмістом (Z)-цинерону (50,8%) та епоксиду розфурану (20,6%), а також інших сполук: евкаліптол (6,3%), β -каріофілен (6,2%) і ацетофенон (2,2%) [95].

Дослідження науковців Литовського університету медичних наук, Університету Вітаутаса Великого та Вільнюського університету аналізували методом газової хроматографії та мас-спектрометрії зразки ефірної олії, одержані шляхом гідродистиляції, екстракції етанолом та динамічної твердофазної мікроекстракції. Всього було ідентифіковано 48 сполук, серед яких дегідроельшольцикетон, ельшольцикетон, сесквітерпени β -бурбонен, каріофілен, α -каріофілен, гермакрен D і α -фарнезен були виявлені у домінуючих кількостях у складі ефірної олії зі свіжих, заморожених і висушених зразків трави ельшольції в'ійчастої, одержаної шляхом динамічної твердофазної мікроекстракції. У ефірній олії, одержаній гідродистиляцією, було ідентифіковано 26 компонентів, основними сполуками якої були дегідроельшольцикетон (78,28%) і ельшольцикетон (14,58%) [99, 154].

З ельшольції в'ійчастої дегідроельшольцикетон (3-метил-2-(3-метилбут-2-еноїл)фуран) вперше був виділений та встановлена його структура у 1993 році казахськими вченими Дембицьким А. Д., Калінкіною Г. І., Бергалієвою Є. Ш. [104].

У Технологічному університеті Шеньсі вивчено ефіроолійний склад листя, квіток і насіння ельшольції в'ійчастої. Усього було ідентифіковано 58 сполук, які представлені 2 ароматичними сполуками, 8 алкенами, 12 енолами, 3

спиртами, 2 фенолами, 5 простими естерами, 9 альдегідами та кетонами, 8 складними ефірами, 2 карбоновими кислотами, 1 алкіном і 6 алкілатами. П'ятнадцять компонентів були спільними компонентами для листя, квіток і насіння. Домінуючими компонентами в ефірній олії листя були β -ліналоол (12,06%), каріофілен (11,02%), евгенол (9,67%), каріофіленоксид (9,61%) та 1-октен-3-ол (8,89%), квіток – β -ліналоол (11,52%), β -лонон (11,08%), евгенол (10,56%), каріофілен (9,57%) і ретиналь (3,81%), насіння – каріофілен (11,13%), β -ліналоол (10,86%), евгенол (9,32%), каріофіленоксид (8,83%) та 1-октен-3-ол (6,08%) [149].

Ефірна олія, одержана з надземної частини ельшольції війчастої, зібраної на стадії цвітіння в Цзінь Чжун, провінція Шаньсі, ідентифіковано сімнадцять компонентів, основними з яких були ельшольцикетон (9,16%), етиловий естер 9,12,15-октадекатрієнкової кислоти (13,74%), 9,12-октадекадієнова кислота (13,59%), тетратріаконтан (11,25%) і октакозан (9,49%) [103].

Науковцями Університету Санджі та Національного університету Пу-кйонг встановлено, що вміст монотерпенів був вищим, ніж сесквітерпенів в ефірній олії ельшольції війчастої. Монотерпени представлені карвоном (26,180%), камфорою (2,304%), борнеолом (9,974%), дигідрокарвеолом (3,296%), α -цитралем (4,025%), геранієвою кислотою (2,961%), тоді як сесквітерпени α -гумуленом (0,918%), (-)-спатуленолом (0,974%), α -каріофіленоксидом (2,014%), глобулолом (1,362%), β -каріофіленоксидом (0,750%). Компонентами, що містилися у найбільшій кількості, були 1-октен-3-ол, ацетофенон і бутилат-гідрокситолуол [142].

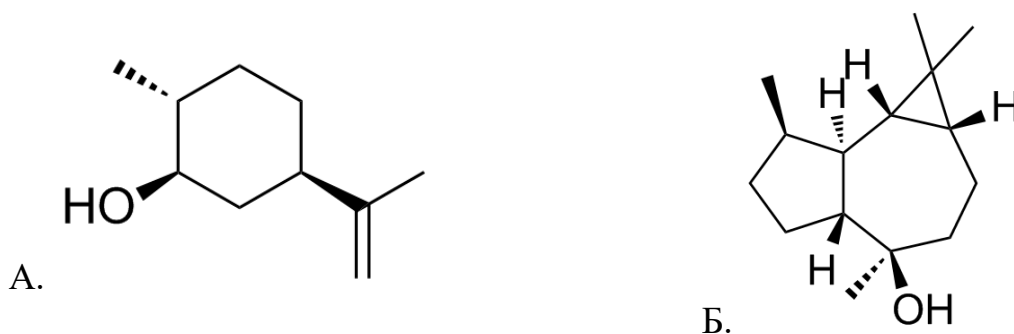


Рис. 1.5 Деякі компоненти ефірної олії ельшольції війчастої: дигідрокарвеол (А) і глобулол (Б).

Науковці Інституту розвитку лікарських рослин Китайської академії медичних наук і Пекінського медичного коледжу (Пекін, Китай) разом з дослідниками факультету фармації Шаньдунського університету традиційної китайської медицини (Цзінань, Китай) дослідили компонентний склад ефірної олії трави та квіток ельшольції війчастої. У досліджуваній сировині виявлено 61 сполуку, серед яких 39 компонентів були спільними для обох видів сировини. 47 і 53 сполуки ідентифіковані в траві та квітках ельшольції війчастої відповідно. Установлено, що основними компонентами для трави та квіток були ельшольцикетон (84,20% і 88,03%), каріофілен (4,3% і 3,33%) і 3-октанол (3,11% і 1,53%). У траві виявлено 8 відмінних компонентів, включаючи 3-гептанон і ліналоол, тоді як у квітках – 14, включаючи 2-метилбутанову кислоту та периллен [155].

В ефірній олії, одержаній з культивованої рослини ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyland.) з двох регіонів В'єтнаму, було ідентифіковано понад 30 компонентів, основними складовими якої були нераль (15,2-20,5%), гераніаль (19,5-26,5%), лімонен (10,9-14,2%) і (Z)-*n*-фамезен (10,8-11,7%). Виявлені також оксигеновані сполуки: ліналоол, нерол, нераль, гераніаль, гераніол, нерил, геранілформіат і ацетат, (Z)-метилгеранат і (Z)-неролідол [102].

Закордонними вченими проаналізовано чотири зразки ефірної олії ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl.) та встановлено, що основними компонентами були перилен (2,1-3,9%), ельшольцикетон (3,3-19,3%), α -дегідроельшольцин (2,0-5,7%), дегідроельшольцикетон (66,1-72,4%) і гумулен (1,5-3,8%) [127].

Іншими закордонними науковцями проведені дослідження компонентного складу ефірної олії інтродукованої ельшольції війчастої, яке дозволило встановити, що домінуючими компонентами були нагінатокетон (74,3%) та ельшольцикетон (11,9%). Інші складові ефірної олії визначені у значно менших кількостях [20].

Серед фенольних сполук у траві ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl.) ідентифіковані (7E,9E)-3-гідроксиавеналумової кислоти 3-O-[6'-O-(E)-кофеїл]- β -D-глюкопіранозид, акацетин-7-O-[β -D-глюкопіранозил

(1'''→2'')-4'''-О-ацетил-α-L-рамнопіранозил(1'''→6'')]-β-D-глюкопіранозид, акацетин-7-О-[6'''-О-ацетил-β-D-глюкопіранозил(1'''→2'')-3'''-О-ацетил-α-L-рамнопіранозил(1'''→6'')]-β-D-глюкопіранозид, акацетин-7-О-[3''',6'''-ди-О-ацетил-β-D-глюкопіранозил(1'''→2'')-4'''-О-ацетил-α-L-рамнопіранозил(1'''→6'')]-β-D-глюкопіранозид, гнафаліїн С, акацетин-7-О-[6'''-О-ацетил-β-D-глюкопіранозил(1'''→2'')-α-L-рамнопіранозил(1'''→6'')]-β-D-глюкопіранозид, акацетин-7-О-[6'''-О-ацетил-β-D-глюкопіранозил(1'''→2'')-4'''-О-ацетил-α-L-рамнопіранозил(1'''→6'')]-β-D-глюкопіранозид, лінарин, акацетин-7-О-[4'''-О-ацетил-α-L-рамнопіранозил(1'''→6'')]-β-D-глюкопіранозид, апігенін, апігетрин, 5-гідрокси-6,7-диметоксифлавоон, 5-гідрокси-7,8-диметоксифлавоон, 6-гідрокси-5,7,8-триметоксифлавоон, бутин, ізооканін, 3,2',4'-тригідрокси-4-метоксихалкон, 4'-О-β-D-глюкопіранозил-3,2'-дигідрокси-4-метоксихалкон, оканін-4-метокси-4'-О-β-D-глюкопіранозид, неоізоліквіритин, сульфуретин, N-транс-ферулоїлоктопамін, еверластозид L, 1-(3',4'-дигідроксицинамоїл)циклопентан-2,3-діол, етилкофеат, осмундацетон, *n*-гідроксибензальдегід, бензил-β-D-глюкопіранозид, нерил-β-D-глюкопіранозид, 3,5-ди-О-кофеїлхінна, розмаринова, (E)-*p*-кумарова, кофейна, (Z)-*n*-кумарова, *n*-гідроксибензойна, 3,4-дигідроксибензойна та ванілінова кислоти [100]. В іншому дослідженні в траві ельшольції в'ійчастої був ідентифікований флавоон ороксилін А [135].

У надземній частині ельшольції в'ійчастої виявлено тритерпенові сполуки, серед яких була ідентифікована урсолова кислота (рис. 1.6) [135].

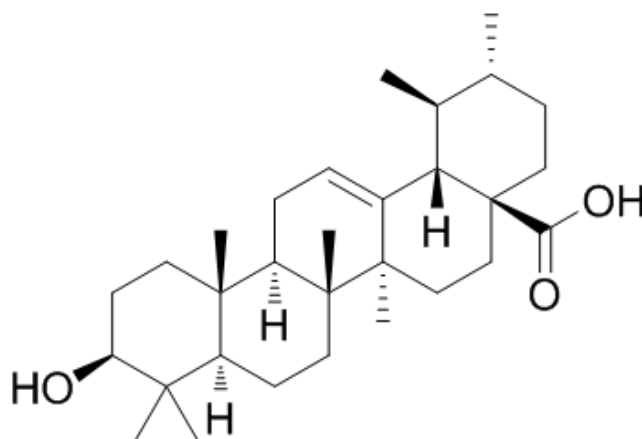


Рис. 1.6 Структурна формула урсолової кислоти.

Литовські вчені дослідивши фенольний склад ельшольції війчастої, встановили наявність гідроксикоричних кислот і флавоноїдів. Серед гідроксикоричних кислот ідентифіковані хінна, неохлорогенова, хлорогенова, *n*-кумарова, ферулова кислоти. Флавоноїди представлені проціанідинам В, вітексинам, лютеолін-7-рутинозидом, лютеолін-7-глюкозидом, апігенін-7-глюкозидом, нарингенином, діосметинам і кризинам (рис. 1.7) [105]. Також проведений порівняльний аналіз вмісту суми фенольних сполук і флавоноїдів у різних видах сировини ельшольції війчастої. Дослідження показали, що вміст суми поліфенолів коливався від $61,25 \pm 1,91$ до $94,67 \pm 1,91$ мг/г від у перерахунку на галову кислоту та суху сировину. Так, кількість фенольних сполук у траві склала $94,67 \pm 1,91$ мг/г, у листі – $89,55 \pm 3,91$ мг/г, у квітках – $77,39 \pm 0,94$ мг/г, у стеблах – $61,25 \pm 1,91$ мг/г. Вміст суми флавоноїдів лежав у межах від $5,06 \pm 0,08$ до $15,43 \pm 1,86$ мг/г у перерахунку на рутин та суху сировину. Найвищий вміст флавоноїдів був у траві – $15,43 \pm 1,86$ мг/г, квітках – $14,22 \pm 0,67$ мг/г і листі – $14,16 \pm 0,65$ мг/г. У стеблах цей показник значно нижчий і становив $5,06 \pm 0,08$ мг/г [108].

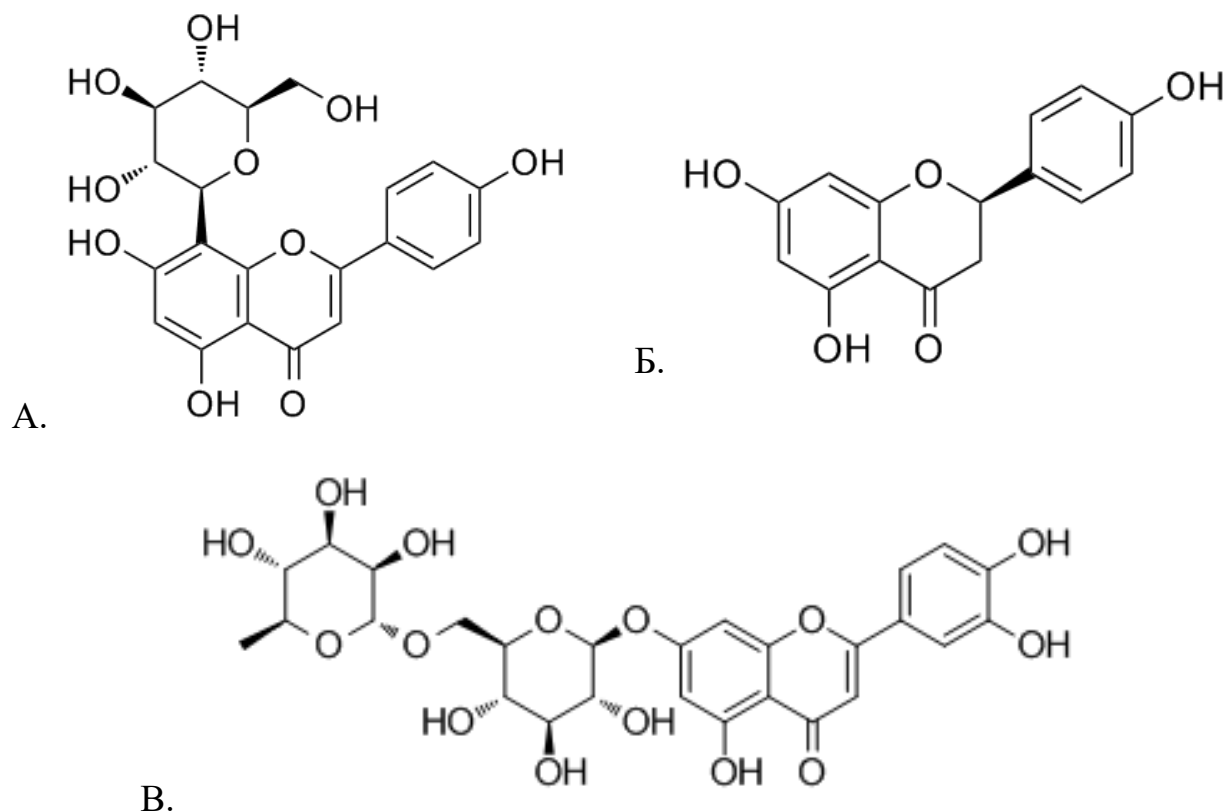
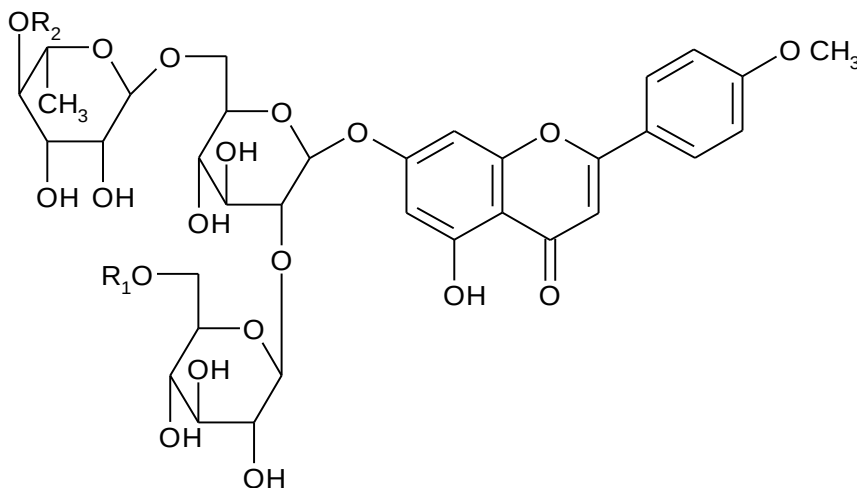


Рис. 1.7 Структура деяких флавоноів ельшольції війчастої: вітексин (А), нарингенин (Б) і лютеолін-7-рутинозид (В).

Корейський вчений Агунг Нугрохо зі співавторами виділили три акацетинтриглікозиди з трави ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl.) – 7-O-β-D-глюкопіранозил-(1→2)[α-L-рамнопіранозил-(1→6)]-β-D-глюкопіранозид, 7-O-(6-O-ацетил)-β-D-глюкопіранозил-(1→2)[α-L-рамнопіранозил-(1→6)]-β-D-глюкопіранозид і 7-O-(6-O-ацетил)-β-D-глюкопіранозил-(1→2)[(4-O-ацетил)-α-L-рамнопіранозил-(1→6)]-β-D-глюкопіранозид акацетину (рис. 1.8). Структури цих сполук визначено на основі даних 2D-ЯМР-спектроскопії [144].



$R^1 = R^2 = H$ – 7-O-β-D-глюкопіранозил-(1→2)[α-L-рамнопіранозил-(1→6)]-β-D-глюкопіранозид,

$R^1 = COCH_3$, $R^2 = H$ – 7-O-(6-O-ацетил)-β-D-глюкопіранозил-(1→2)[α-L-рамнопіранозил-(1→6)]-β-D-глюкопіранозид,

$R^1 = R^2 = COCH_3$ – 7-O-(6-O-ацетил)-β-D-глюкопіранозил-(1→2)[(4-O-ацетил)-α-L-рамнопіранозил-(1→6)]-β-D-глюкопіранозид акацетину.

Рис. 1.8 Структура акацетинглікозидів, виділених з трави ельшольції війчастої.

На кафедрі хімії Північно-західного педагогічного університету (Ланьчжоу, Китай) з трави ельшольції війчастої виділені та встановлено структуру таких флавоноїдів: 5-гідрокси-6-метилфлаванон-7-O-α-D-галактопіранозид, 5-гідрокси-6,7-диметоксифлаван, 5-гідрокси-7,8-диметоксифлаван і 5-гідрокси-7,4'-диметоксифлавонол [140].

Ельшольція Стаунтона вивчена значно менше у порівнянні з ельшольцією війчастою. Згідно досліджень науковців Північно-західного педагогічного уні-

раторину, 5,7-диметоксил-4'-гідрокси-флавоон, муксіангрини I-III, ізоформонетин-4'-глюкозид, ізорамнетин-3-O-рутинозид, кверцетин-3-O- β -галакто-(6 $\rightarrow$ 1)- α -рамнозид [158].

Дослідженням ефірної олії ельшольції Стаунтона займалися науковці Республіки Молдова та Румунії. Вони встановили, що накопичення ефірної олії в рослині залежить від віку, фенологічної стадії та органу рослини. Максимальна кількість ефірної олії накопичується в 2-5-річних рослинах (1,05-1,15 %) у фазі повного цвітіння: у траві – 0,95-1,12 %, у суцвіттях – 1,85-2,25 %. В одержаній ефірній олії ідентифіковано 16 компонентів, серед яких основними є: (Z)-цинерон (43,3 %) та епоксид розфурану (33,2 %). Іншими важливими сполуками були: евкаліптол (6,2 %), β -каріофілен (3,9 %) і ацетофенон (1,6 %) [146].

Дослідження ефірної олії ельшольції Стаунтона займалися також американські вчені. Так, ефірну олію одержували з квітучої трави ельшольції Стаунтона, вирощеної у передмісті Камдену, штат Делавер, Сполучені Штати Америки, та досліджували її компонентний склад. Вихід олії становив 0,18±0,01%. В одержаній ефірній олії ідентифіковано та визначено вміст 19 компонентів, з яких у домінуючих кількостях містилися розфуран (41,73±0,62%) та розфурану епоксид (40,36±0,89%) [152].

Науковці Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України провели вивчення біохімічного складу сировини інтродуценту ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia stauntonii* Benth.) у різні фази вегетації рослини. Встановлено, що найвищий вміст аскорбінової кислоти спостерігався у фазі відростання рослини, тоді як накопичення дубильних речовин було визначено у фазі цвітіння. Щодо вмісту ефірної олії у надземній частині ельшольції Стаунтона, то її найвищий вміст був визначений у період масового цвітіння. Вміст рослинних пігментів – хлорофілів і каротиноїдів у найбільшій кількості встановлено в період бутонізації рослини [3].

У Нікітському ботанічному саду проведено дослідження ефірній олії ельшольції Стаунтона сорту Розова хмаринка, в результаті якого виявлено 36 компонентів, з яких 30 – ідентифіковано. За масовою часткою переважали монотерпенові похідні фурану: розфуран – 41,1% та його оксид – розфуранепок-

сид – 24,0%; сесквітерпен каріофілен - 8,5%. Також визначені: фенольна ароматична речовина евгенол – 1,5%, монотерпеновий спирт ліналоол – 1,1%, сесквітерпени α -гумулен – 2,7% та гермакрен Д – 1, 1% [83].

Дослідження ефірної олії ельшольції Стаунтона, вирощеної у передгірній зоні Криму, вивчали у Науково-дослідному інституті сільського господарства Криму. Встановлено, що максимальний вміст ефірної олії відмічався у фазу масового цвітіння і становив 1,48%. У цю ж фазу в суцвіттях і листі також відмічалося максимальне накопичення ефірної олії: 1,82% і 1,11% відповідно. Методом газорідинної хроматографії в ефірній олії виявлено 43 компоненти, з яких ідентифіковано 31. Домінуючими компонентами були похідні фурану – розфуран і розфурану епоксид [62].

1.3 Фармакологічні властивості та застосування ельшольції війчастої та Стаунтона

Лікувальні властивості рослин роду ельшольція обумовлені її різноманітним хімічним складом. Так, завдяки наявності аскорбінової кислоти виявляються протизапальні, жарознижувальні та регенеративні властивості. Наявність дубильних речовин сприяє прояву в'язучої дії. Ефірні олії покарщують травлення та зумовлюють вітрогонну активність. Крім того, завдяки комплексу біологічно активних речовин для прослин роду ельшольція притаманні діуретична, антибактеріальна та антимікотична дії. Тому багато праць закордонних учених присвячені дослідженню фармакологічних властивостей представників даного роду [111].

Так, литовські вчені провели дослідження щодо вивчення антиаритмічних властивостей ефірної олії ельшольції війчастої. Одержані результати показали, що досліджувана ефірна олія модулює серцеву електричну активність, переважно пригнічуючи провідність Na^+ та може бути рекомендована як природний антиаритмічний засіб [89].

Ефірна олія ельшольції війчастої виявляє антипроліферативну активність по відношенню до ракових клітин ліній гліобластоми людини (U87), раку підш-

лункової залози (Panc-1) і потрійного негативного раку молочної залози (MDA-MB231)) *in vitro*, про що свідчать дослідження проведені науковцями Литви. Дослідниками встановлено, що значення половинної максимальної ефективної концентрації знаходилося в діапазоні 0,017-0,021%. Життєздатність нормальних фібробластів людини під впливом досліджуваних концентрацій ефірної олії була статистично значно вищою порівняно з життєздатністю ракових клітин ($p < 0,05$) [99].

Китайськими вченими на моделі загибелі нейронних клітинах мишачого гіпокампу HT22 встановлено нейрозахисні властивості для фенольних сполук ельшольції війчастої. Серед них 23 сполуки, включаючи нові речовини 1 і 3, продемонстрували нейропротекторну дію проти спричиненої глутаматом загибелі клітин HT22. Значення половинної максимальної ефективної концентрації знаходилося в межах 1,5-8,3 мкМ [100].

Фармакологічна активність водних екстрактів суцвіть, листя, стебел та коренів ельшольції війчастої була вивчена китайськими вченими Сянпін Лю та Цзя Цзя зі співавторами. Дослідження проведені *in vitro* показали, що найвища антиоксидантна активність притаманна екстракту коренів ельшольції, що пов'язано з високим вмістом фенольних сполук [115].

Дослідження корейських учених щодо наявності антихолінестеразної активності ефірної олії ельшольції війчастої показали, що значення інгібувальної концентрації для ацетилхолінестерази та бутирилхолінестерази становили 42,37 мкг/мл і 121,34 мкг/мл відповідно. Одержані дані свідчить, що ефірна олія, яка вивчалася, може знижувати ризик втрати пам'яті пацієнтів, які страждають на хворобу Альцгеймера [142].

Науковцями Республіки Корея досліджено вплив етанолового екстракту ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Nylander) на інтерстиціальний фіброз нирок, спричинений односторонньою обструкцією сечоводу. Дослідження проведено *in vitro* для оцінки протизапальних і антифіброзних ефектів екстракту з використанням ліпополісахариду і трансформуючого фактору росту- β (TGF- β) Лікування екстрактом зменшувало спричинену ліпополісахаридом надмірну експресію ядерного фактора κB , фактора некрозу пухлини (TNF- α) та

інтерлейкіну-6 і покращувало окислювальний стрес у клітинах RAW 264.7. Крім того, спостерігалось пригнічення TGF- β -індукованого α -актину гладких м'язів і експресію матриксної металопротеїнази 9 у мезангіальних клітинах нирок людини. Лікування екстрактом протягом 14 днів покращували пошкодження нирок, спричинене односторонньою обструкцією сечоводу, і послаблювало гістопатологічні зміни та інтерстиціальний фіброз [109].

Науковцями Кореї було досліджено вплив етанольного екстракту ельшольції війчастої на ожиріння, спричинене дієтою з високим вмістом жиру. Збільшення маси тіла, маси жирової тканини та розміру адипоцитів були зменшені у мишей із ожирінням, які отримували досліджуваний екстракт, порівняно з мишами контрольної групи. Також у групі мишей, що одержували екстракт, значно знизилась концентрація загального холестерину, тригліцеридів і лептину в сироватці порівняно з концентраціями у нелікованих мишей із ожирінням. Крім того, екстракт значно пригнічував підвищені рівні експресії мРНК рецептора γ , синтаз жирних кислот і білка, що зв'язує жирні кислоти в адипоцитах, у підшкірній жировій тканині мишей із ожирінням. Крім того, лікування екстрактом пригнічувало диференціювання преадипоцитів 3T3-L1 і накопичення жиру. Таким чином встановлено, що екстракт ельшольції війчастої зменшує ожиріння, спричинене дієтою з високим вмістом жиру, шляхом зниження експресії деяких пов'язаних з ліпогенезом генів у жировій тканині мишей [119, 157].

Водний екстракт ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Nylander) пригнічує опосередковане огрядними клітинами алергічне запалення, що підтверджено дослідженнями корейськими вченими. Водний екстракт інгібував системну та опосередковану імуноглобуліном Е місцеву анафілаксію та вивільнення гістаміну в сироватці крові у мишей, знижував внутрішньоклітинні рівні кальцію та вивільнення гістаміну з тучних клітин людини (HMC-1), активованих форболом 12-міристатом 13-ацетатом та іонофором кальцію A23187. Крім того, знижував експресію генів і секрецію прозапальних цитокінів, таких як фактор некрозу пухлини- α , інтерлейкін-1 β та інтерлейкін-6. Інгібуючий ефект досліджуваного екстракту на експресію цитокінів був залежним від ядерного фактора kB і p38 мітоген-активованої протеїнкінази [110].

Корейські вчені встановили виражену антимікробну активність по відношенню до *Staphylococcus aureus* для екстракту ельшольції війчастої [4]. Учений з Китаю Тіан Гуанг-Хуї встановив, що компоненти ефірної олії листя ельшольції війчастої мають виражену інгібувальну активність, особливо по відношенню до *Bacillus subtilis* CMCC63501 і *Escherichia coli* ATCC25922 [149].

Китайські науковці вивчали CO₂-екстракт ельшольції війчастої на наявність антимікробної та антиоксидантної дії. Результати свідчили, що досліджуваний екстракт виявляв антибактеріальну дію по відношенню до трьох еталонних штамів: грампозитивних (*Staphylococcus aureus* і *Bacillus subtilis*) і грамнегативних бактерій (*Escherichia coli*). Мінімальна інгібувальна концентрація визначена в діапазоні 1,25-2,5 мг/мл, а розмір зони інгібування коливався від 8,4 до 11 мм. Але CO₂-екстракт продемонстрував низький рівень антиоксидантної активності: він мав низьку здатність поглинати вільні радикали та низьку інгібувальну активність проти перекисного окислення в системі ліпосом [103].

В'єтнамські та італійські дослідники вивчали фракції петролейного етеру, діетилового етеру, етилацетату, н-бутанолу та відповідної водної субфракції на наявність впливу на медіатори запалення та шляхи, цілісність бар'єру та/або склад кишкової мікробіоти. Оцінку антиоксидантного потенціалу проводили як при запаленні, так і при окисному стресі в макрофагах J774A.1. У проведених аналізах усі протестовані екстракти/субфракції виявляли антиоксидантну дію в концентраціях 5 мкг/мл. Усі протестовані екстракти та субфракції не виявляли цитотоксичної активності, за винятком водної фракції, яка продемонструвала незначний антипроліферативний ефект (20,67–1,2 порівняно з необробленими макрофагами) [107].

Дослідження фармакологічних властивостей спиртових екстрактів листя, стебел, квіток та цілої трави ельшольції війчастої проводили литовські вчені на модельних системах окиснення радикалів 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразил, зниження антиоксидантної сили феруму і 2,2'-азіно-біс(3-етилбензотіазолін-6-сульфової кислоти). Усі досліджувані екстракти достовірно знижували рівень секреції прозапальних цитокінів TNF-, IL-6 та простагландину E2, індукованих обробкою ліпополісахаридом у культурі клітин перитонеальних макрофагів

миші. Екстракти стебла та квітів були найбільш ефективними у зниженні вивільнення цитокінів, але екстракт листя продемонстрував сильніший вплив на секрецію простагландину E2 [108].

Науковці з Кореї та В'єтнаму дослідили вплив осмундацетону, виділеного з ельшольції війчастої, на індуковану глутаматом окисну токсичність в клітинах гіпокампу HT22. Було оцінено вплив лікування осмундацетоном на надлишок активних форм кисню, рівень внутрішньоклітинного кальцію, конденсацію хроматину, апоптоз і рівень експресії білків, пов'язаних з окислювальним стресом. Осмундацетон продемонстрував нейропротекторний ефект проти токсичності глутамату в концентрації 2 мкМ. Зменшуючи накопичення активних форм кисню, а також стимулюючи експресію білка теплового шоку 70 і гемоксигенази-1, він запускав механізм самозахисту в нейрональних клітинах. Антиапоптотичний ефект осмундацетону був продемонстрований через його інгібування конденсації хроматину, накопичення кальцію та зменшення кількості апоптотичних клітин. Він значно пригнічував фосфорилювання мітоген-активованих протеїнкіназ, включаючи c-Jun NH2-кінцеву кіназу, позаклітинну сигнал-регульовану кіназу та р38-кінази. Таким чином, проведені дослідження показали, що осмундацетон може бути потенційним агентом у підтримуючому лікуванні нейродегенеративних захворювань [137].

Крім того, корейські вчені дослідили можливість використання ефірної олії ельшольції війчастої для лікування наркотичної залежності. Встановлено, що лікування ефірною олією підвищувало експресію дофамінтранспортуючого білку порівняно з експресією амфетаміну за рахунок посилення фосфорилювання мітоген-активованих протеїнкіназ та індукції гіперфосфорилювання білка. Дане дослідження свідчить про те, що ефірна олія ельшольції війчастої може відновити функцію дофаміну в мозку за рахунок збільшення доступності дофамінтранспортуючого білка у наркозалежних [113].

Бельгійськими та в'єтнамськими дослідниками проведено вивчення антилейшманіальної активності ефірної олії ельшольції війчастої. Результати показали, що досліджувана ефірна олія ельшольції війчастої мала помірну антилейшманіальну активність зі значеннями IC50 $8,49 \pm 0,32$ нл/мл [118].

У відділі громадської охорони здоров'я Коледжу природничих наук Університету Кейм'юн досліджували можливість застосування комплексного рослинного екстракту, у складу якого містилася ельшольція війчаста, для лікування atopічного дерматиту. Результати дослідження свідчили, що комбінований рослинний екстракт виявляв високу антиоксидантну, протизапальну та протисвербіжну дію, а саме зменшував кількість вільних радикалів, продукцію нітрогену оксиду та не мав подразнюючої дії, що дає змогу рекомендувати його у терапії даної патології [125].

Кузьмін О. зі співавторами провели дослідження щодо визначення антиоксидантної здатності водно-спиртових настоек із сировини пряно-ароматичних рослин, зокрема ельшольції Стаунтона. Встановлено, що для настойки ельшольції Стаунтона притаманна здатність зв'язувати вільні радикали [94].

1.4 Застосування рослин роду Ельшольція у традиційній медицині та його господарське значення

У традиційній медицині різні види ельшольції застосовують як детоксикаційний, протизапальний, знеболювальний засоби [112].

Настої та відвари трави ельшольції війчастої у традиційній медицині застосовують як жарознижувальний, протиблювотний та діуретичний засіб, для покращення травлення, як вітрогінний засіб при метеоризмі, шлункових та кишкових спазмах, для лікування респіраторних захворювань, туберкульозу, пневмонії, жовтяниці, міом, ерозій, гастриту та асцити. Найчастіше відвари використовують для лікування застуди, кашлю, лихоманки, діареї, дизентерії, розладів травлення, теплового та сонячного удару, при болю у животі, блювоті, головному болю, відсутності потовиділення, холері, носових кровотечах, для усунення неприємного запаху з рота. При стоматиті рекомендують полоскати рот відваром трави ельшольції війчастої. Ефірну олію використовують як ранозагоювальний та антимікотичний засіб [112].

У китайській традиційній медицині деякі види даного роду застосовують як засіб від нетравлення, болю в животі, здуття живота, гастроентериту, дизентерії, носових кровотеч, кашлю з кров'ю, післяпологової абдоміналії, кровоточивих і гнійних ран, а також для лікування гепатиту, дизентерії, фауциту, тонзиліту, зубного болю, гострого гастроентериту, гострого та хронічного пієлонефриту [112].

Ельшольцію пухнастоквіткову зазвичай приймають як засіб від сибірської виразки, грипу, епідемічного менінгіту, фаринголарингіту, тонзиліту, маміту, пневмонії, бронхіту, малярії [112].

Траву ельшольції в'ійчастої використовують у кулінарії. М'ясним стравам вона надає не тільки приємного присмаку й аромату, але й сприяє кращому засвоєнню. Також вона добре поєднується зі стравами з овочів, риби, яєць, сиру, бобових. Нею ароматизують рослинні олії, оцет, алкогольні та безалкогольні напої, її додають до чорного та зеленого чаю [112].

Учені Національного університету харчових технологій (Київ, Україна) у співпраці з науковцями Української корпорації виноградарства та виноробної промисловості «Укрвинпром» та Національного авіаційного університету провели дослідження з визначення антиоксидантної здатності настоянки ельшольції Стаунтона з метою використання в технології лікєро-горілочаних виробів. Мінімальне теоретичне значення окисно-відновного потенціалу (ВП) для досліджуваної настоянки становило 117 мВ, водневий показник – 7,09 одиниць рН, значення енергії відновлення – 127,0 мВ, значення сенсорної оцінки – 9,54 бала. Одержані результати дозволили запропонувати дану настоянку в технології лікєро-горілочаних виробів [89].

Насіння ельшольції в'ійчастої багате жирною олією, яку використовують у лакофарбовій і миловарній промисловості [112].

Ефірну олію ельшольції можна використовувати як екологічно безпечний інсектицид, ефективний проти бліх і клопів [112].

Так, для ефірної олії ельшольції в'ійчастої встановлено фумігантну токсичність проти сіноїду (*Liposcelis bostrychophila*) із значенням LC50 475,2 мг/л. Компоненти ефірної олії, такі як карвон, дегідроельшольцикетон та ельшольци-

кетон мали значення LC50 417,4, 658,2 та 547,3 мг/л відповідно. Ефірна олія також виявила контактну токсичність щодо сеноїду із значенням LC50 145,5 мг/см², а карвон, дегідроельшольцикетон і ельшольцикетон виявляли гостру токсичність із значеннями LC50 57,0, 151,5 та 194,1 мг/см² відповідно. Одержані результати показали, що ефірна олія та виділені компоненти мають потенціал як природні інсектициди/фуміганти для боротьби з комахами - шкідниками зерна [89, 112].

Для ефірної олії з надземних частин ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Nylander) встановлено контактну токсичність і фумігантну активність проти дорослих особин і личинок жука-шкідника продовольчих продуктів – хрущака малого булавовусого (*Tribolium castaneum*). Аналіз контактної токсичності показав, що ефірна олія виявила мікрограмову активність щодо знищення дорослих особин даного шкідника ($LD_{50} = 7,79$ мкг/доросла особина) і личинок ($LD_{50} = 24,87$ мкг/личинка). Тест на фумігантну активність показав LD_{50} 11,61 мг/л повітря для дорослих особин і 8,73 мг/л повітря для личинок [145, 150].

Китайські науковці провели дослідження щодо наявності фумігантної активності неочищених рослинних екстрактів ельшольції Стаунтона проти дорослих комах, личинок, лялечок і яєць сигаретного жука (*Lasioderma serricorne*). Досліджувані екстракти показали виражену фумігантну токсичність проти сигаретного жука, причому личинки та дорослі особини були більш чутливі, ніж яйця та лялечки. Токсичність екстрактів значно зростала зі збільшенням дози. Скоригована смертність личинок, дорослих особин, лялечок і яєць досягала 99,32 %, 97,97 %, 44,67 % і 33,33 % відповідно у дозі 40 мкл/л у повітрі після 48 годинного впливу. Результати свідчать про те, що екстракти ельшольції Стаунтона є перспективними фумігантними засобами у боротьби з сигаретним жуком [130].

Садівники вирощують ельшольцію війчасту як декоративну пряно-ароматичну рослину завдяки її яскравим, фіолетовим квіткам, що зібрані в колосоподібні суцвіття, соковитому листю та приємному аромату, який одночасно нагадує запах цитрусів, м'яти та меліси. Рослина невибаглива, але віддає пе-

ревагу сонячним місцям. Вона добре виглядає і окремими групами, і серед інших трав і квітів. Ельшольція – гарний медонос. Вона може давати з одного гектара до 170 кг меду [112].

Аналіз даних сучасної літератури показав, що рослини роду Ельшольція мають багатий хімічний склад і широкий спектр фармакологічної активності, що робить їх цінним джерелом одержання лікарської рослинної сировини. Вони мають достатню сировинну базу, оскільки зростають у дикому вигляді та культивуються в різних країнах, зокрема в Україні. Але, дослідження хімічного складу та фармакологічних властивостей стосуються переважно ельшольції війчастої. Відомості щодо вивчення ельшольції Стаунтона носять фрагментарний характер. Крім того, у літературі відсутні дані щодо стандартизації як ельшольції війчастої, так і ельшольції Стаунтона. Тому проведення фармакогностичного вивчення представників роду *Elsholtzia* є актуальним.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Короткі відомості про об'єкти дослідження

Об'єктами досліджень були суцвіття, листя, стебла та трава ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона. Ельшольція війчаста росте майже по усій території України, крім степових районі, де вона зустрічається спорадично. Культивується. Ельшольція Стаунтона сорту Розова хмаринка внесена у 2015 році до Державного реєстру сортів рослин придатних для поширення в Україні та успішно культивується [19]. Обидва види належать до ефіроолійних культур.

Сировину заготовляли в 2014-2018 роках у період масового цвітіння рослин (серпень – вересень). Висушували у затінку під наметами, розклавши тонким шаром (2-3 см) на папері та періодично перемішуючи. Висушену сировину упаковували у мішечки з тканини і зберігали у сухому, захищеному від прямого сонячного світла, прохолодному приміщенні. Для проведення досліджень використовували середню пробу сировини.

Дослідження проводили на 5 серіях видів сировини, що вивчалися.

2.2 Відомості про реактиви, методи та методики

1. Вивчення хімічного складу БАР сировини ельшольції війчастої та Стаунтона проводили за допомогою хімічних реакцій ідентифікації та хроматографічного аналізу. При проведенні хімічного аналізу використовували такі реакції та реактиви:

- 0,2 % розчин нінгідрину – виявлення амінокислот;
- купрум-тартратний реактив, розчин α -нафтолу – виявлення вільних і зв'язаних цукрів;
- 96 % етанол – виявлення полісахаридів;
- ціанідинова реакція за Бріантом, розчин феруму (III) хлориду, 10 % розчин натрію гідроксиду, 2 % розчин алюмінію хлориду, 2 % розчин плюмбуму

ацетату – виявлення флавоноїдів;

- з розчином ваніліну в кислоті хлористоводневій концентрованій – виявлення катехінів;

- 10 % етанольний розчин натрію гідроксиду, 2 % етанольний розчин плюмбуму ацетату – виявлення антоціанів;

- 1 % розчин желатини, 1 % розчин хініну гідрохлориду, 30 % розчин феруму (III) амонію сульфату – виявлення танінів [69].

2. Для проведення хроматографічного аналізу використовували ТШХ-пластини «Sorbfil»-ПТСХ-А-УФ, «Silufol UV-254», «Silufol UV-366» та різні марки паперу хроматографічного марки «Filtrak» (FN 1, 3, 7, 14). Дослідження проводили методами низхідної одновимірної, висхідної одновимірної та двовимірної хроматографії на папері та в тонкому шарі сорбенту. У дослідженнях використовували СЗ, атестовані та повірені прилади, хімічні реактиви кваліфікації ч.д.а. або х.ч. або «для ВЕРХ»; співвідношення розчинників для хроматографічного вивчення брали в об'ємних одиницях.

Хроматографування здійснювали у таких рухомих фазах:

№ 1 – *n*-бутанол – кислота оцтова льодяна – вода очищена (4:1:2);

№ 2 – етанол – хлороформ – аміак – вода очищена (70:40:20:2)

№ 3 – етилацетат – кислота мурашина безводна – вода очищена (10:2:3);

№ 4 – 2 % кислота оцтова;

№ 5 – 15 % кислота оцтова;

№ 6 – кислота мурашина безводна – кислота оцтова льодяна – вода очищена – етилацетат (11:11:25:100);

№ 7 – хлороформ – кислота оцтова – вода очищена (13:6:2);

№ 8 – хлороформ – метанол (9:1);

№ 9 – ацетон – *n*-бутанол – вода очищена (7:2:1);

№10 – гексан – ацетон (6:4);

№ 11 – гексан – ацетон (6:2) [69].

Виявлення речовин на хроматограмах проводили за допомогою таких реактивів:

А. розчин анілінфталату;

- В. 0,5 % розчин бромтимолового синього в метанолі;
- С. 3 % розчин феруму (III) хлориду;
- Д. пари аміаку концентрованого;
- Е. розчин 10 % натрію гідроксиду в етанолі;
- Ф. розчин 2 % алюмінію хлориду в етанолі;
- Г. 2 % розчин *n*-диметиламінобензальдегіду у суміші етанолу та хлористоводневої кислоти [69].

3. УФ-спектри поглинання та оптичну густину розчинів реєстрували на спектрофотометрах Hewlett Packard 8452A, Mecasys Optizen POP та Shimadzu UV-1800 у кюветі з товщиною робочого шару 10 мм.

4. Визначення амінокислотного складу проводили на автоматичному аналізаторі амінокислот ААА Т-339М («Мікротехн», Чехія), обладнаному реєструвальним фотоелементом.

4. Елементний склад визначали за допомогою рентгено-флуоресцентного спектрофотометру «ElvaX-med» (Україна) на базі науково-технічного центру «Віріа».

5. Вивчення вітамінного складу проводили на спектрофлуориметрі Luminescence Spectrometer Perkin Elmer LS-50.

6. Дослідження органічних кислот, моносахаридів, летких речовин, фенольних сполук і ліпофільного комплексу здійснювали на газовому хроматографі Agilent 6890N обладнаному мас-детектором (модель 5973inert, Agilent technologies, USA).

7. Вивчення жирнокислотного складу проводили на газовому хроматографі «Селміхром-1» з полум'яно-іонізаційним детектором.

8. Визначення фенольних сполук та антоціанів проводили на рідинному хроматографі, обладнаному діодноматричним детектором Shimadzu HPLC-system, ser.20 з діодно-матричним детектором, обладнаними вакуумним дегазатором, автоматичним інжектором, чотирьохканальним насосом градієнту низького тиску і термостатом колонок.

9. Встановлення фармакологічної активності одержаного лікарського рослинного засобу проводили *in vivo* та *in vitro*.

10. Статистичну обробку одержаних експериментальних даних проводили методами варіаційної статистики за допомогою програми Excel-2019. Графіки будували за допомогою програми Origin та Excel-2019.

11. Для вивчення анатомічної будови використовували свіжу та повітряно-суху сировину, фіксовану у суміші 96% етанол – гліцерин – вода (1:1:1) та освітлену хлоралгідратом. Зрізи і препарати з поверхні виконували за стандартними методиками. Дослідження проводили на мікроскопі XSP-146TR. Фотографії зроблені за допомогою цифрової камери Canon Power Shot A630. Мікроскопічні виміри проводили за допомогою окуляр-мікрометра мікроскопу та програми ImageJ. Статистичну обробку даних проводили за допомогою програми Statistica 8, достовірність результатів визначали за t-критерієм Стьюдента. Ультраструктуру сировини вивчали за допомогою скануючого мікроскопа SEM JSM-6060 LA.

2.3 Методики дослідження БАР у сировині ельшольції

Одержання витяжок для проведення фітохімічного дослідження. Для проведення експерименту використовували водні, водно-етанольні та хлороформні витяжки з сировини ельшольції війчастої та Стаунтона.

Для одержання водних і водно-етанольних витяжок подрібнену сировину екстрагували відповідним екстрагентом: полісахариди, аміно- та органічні кислоти, таніни – водою очищеною; фенольні сполук (флавоноїди, гідроксикоричні кислоти), сапоніни – 50 % етанолом, 70 % етанолом, 96 % етанолом, антоціани – 70 % етанолом з додаванням 1 % кислоти хлористоводневої концентрованої. Співвідношення сировина – екстрагент становило 1:10, 1:25 та 1:50. Екстракцію проводили на киплячій водяній бані зі зворотним холодильником протягом 30 хв. Кратність екстракції складала 3 рази. Витяжки фільтрували крізь фільтр і концентрували [69].

Для ВЕРХ-аналізу готували водно-етанольні екстракти за такою методикою: 1,0000 г (точна наважка) подрібненої сировини поміщали в конічні колби місткістю 100 мл або 250мл, колби приєднували до зворотних холодильників,

додавали 25 мл етанолу відповідної концентрації та витримували на киплячій водяній бані протягом 45 хв. Після цього витяжки охолоджували до кімнатної температури та фільтрували крізь фільтри «червона стрічка» у мірні колби місткістю 25,00 мл. Об'єми витяжок доводили до 25,00 мл етанолом тієї ж концентрації.

Гідролізати екстрактів для ВЕРХ-аналізу одержували таким способом: у конічні колби місткістю 100 мл вміщували 1,0000 г (точна навка) подрібненої сировини, додавали 25 мл суміші 96 % етанол – вода – 25 % кислота хлористоводнева (25:20:5), приєднували до зворотних холодильників і нагрівали протягом 90 хв на киплячій водяній бані. Проби охолоджували до кімнатної температури (20°C), відфільтровували в мірні колби та доводили об'єми до 25,00 мл 50 % етанолом.

Ліпофільні екстракти одержували вичерпною екстракцією сировини гексаном в апараті Сокслета. Одержані ліпофільні екстракти після відгону екстрагенту використовували для ідентифікації та кількісного визначення жирних кислот, каротиноїдів, тритерпеноїдів [51, 59].

Методики кількісного аналізу БАР у сировині ельшольції вйчасної та ельшольції Стаунтона.

1. *Дослідження амінокислот.* Кількісний вміст амінокислот визначали спектрофотометричним методом за відомою методикою [44, 134].

Вивчення *амінокислотного складу* проводили методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії. Ідентифікацію та визначення вмісту амінокислот здійснювали за методикою Штейна і Мура у сучасній модифікації. Приготування випробовуваного розчину: зразок сировини масою близько 100 мг поміщали у пробірку, додавали 0,5 мл води очищеної та 0,5 мл кислоти хлористоводневої концентрованої. Пробірку охолоджували в суміші сухого льоду з диметилкетонем. Після охолодження з пробірки відкачували повітря за допомогою вакуумного насоса для запобігання окиснення амінокислот. Гідроліз проводили протягом 24 год у термостаті з постійною температурою 106°C. Після закінчення гідролізу пробірку розкривали, попередньо охолодивши її до кімнатної температури, вміст кількісно переносили у скляний бюкс і розміщували у

вакуум-ексикаторі над гранульованим натрію гідроксидом. З ексикатора видаляли повітря за допомогою вакуумного насоса. Після висушування зразків у бюкси додавали 3-4 мл деіонізованої води та повторювали процедуру висушування. Підготовлені зразки розчиняли в 0,3 н літій-цитратному буфері (рН 2,2) і наносили на іонообмінну колонку аналізатора амінокислот, заповнену катіонітом марки Ostion LGANB. Для реєстрації амінокислот у елюатах використовували метод детекції нінгідрином [76]. Нінгідрин, взаємодіючи з аміногрупою амінокислоти, утворює сполуку гідриндантин, що дає забарвлення при 560 нм (винятком є комплекс з проліном і оксипроліном, що мають максимум поглинання при 440 нм).

Кількість мікромолей амінокислоти в досліджуваному зразку визначали за відношенням площі піка амінокислоти в досліджуваному зразку до площі піка цієї ж самої амінокислоти в розчині стандартної суміші амінокислот, що відповідає одному мікромолю кількості кожної амінокислоти. Помноживши кількість мікромолей на молекулярну масу амінокислоти, отримували відповідну кількість амінокислоти в міліграмах:

$$X = \frac{S_{\text{он}} \times K \times M_{\text{в}}}{S_{\text{ст}}}, \quad (2.1)$$

де $S_{\text{он}}$ – площа піка амінокислоти в зразку;

$S_{\text{ст}}$ – площа піка амінокислоти в стандартній суміші;

K – коефіцієнт, що враховує масу і розведення зразка;

$M_{\text{в}}$ – молекулярна маса амінокислоти.

Якісний склад амінокислот визначали порівнянням хроматограм стандартної та досліджуваної сумішей [8, 76].

2. *Визначення протеїну.* Вміст протеїну визначали методом К'ельдаля за такою методикою: наважку подрібненої та абсолютно сухої сировини (близько 0,50-0,75 г) вміщували у суху колбу К'ельдаля, приливали 10 мл кислоти сульфатної концентрованої, залишали на деякий час для рівномірного змочування й обвуглення сировини кислотою, додавали близько 0,7 г каталізатора, поміщали на електричну плитку та спалювали кілька годин за слабого нагрівання. Після зникнення грудочок нагрівання підсилювали. Для змивання часток органічної речовини, які прилипали до стінок колби, її час від часу повертали, перемішую-

чи вміст. Спалювання закінчували після появи чистого зеленувато-блакитного забарвлення рідини, яке зникало після охолодження. Після охолодження у колби обережно додавали близько 60 мл води очищеної. У прийомні колби з бюретки вміщували 30 мл 0,1 н розчину кислоти сульфатної, 3-4 краплі індикатора – метилового червоного та підставляли під холодильник перегінного апарату Кьельдаля так, що кінчик трубки холодильника обов'язково був занурений у кислоту. Колбу Кьельдаля ставили на нагрівальний прилад перегінного апарату і щільно закривали корком, обладнаним крапельловлювачем і спеціальною лійкою; через лійку в колбу обережно приливали 40 мл натрію їдкого (густиною 1,26-1,28 г/см³) та відганяли аміак, що утворювався. Кінець відгонки перевіряли за реактивом Неслера або червоним лакмусовим папером. Після закінчення відгонки, вміст прийомних колб відтитровували 0,1 н розчином натрію гідроксиду до золотисто-жовтого забарвлення.

Розрахунок вмісту азоту (X, %) проводили за формулою:

$$X = \frac{T \times (a - b) \times 100}{N}, \quad (2.2)$$

де Т – титр 0,1 н розчину натрію їдкого, мг;

а – кількість 0,1 н натрію їдкого, використаного на титрування, мл;

б – кількість 0,1 н натрію їдкого, яка не вступила в реакцію з аміаком після його відгону, мл;

Н – наважка абсолютно сухої сировини, мг [56].

3. *Дослідження полісахаридів.* Визначення вмісту водорозчинних полісахаридів проводили за методикою ДФУ 2.0, т. 3 монографія «Подорожника великого листя» гравіметричним методом [18].

Виділення *полісахаридних фракцій* проводили гравіметричним методом. Для вилучення фракцій використовували методику послідовного виділення полісахаридів Бейлі: ВРПС, ПР, ГЦ А і ГЦ Б. Визначення проводили гравіметричним методом. Висушену подрібнену сировину знежирювали хлороформом в апараті Соскслета до знебарвлення розчинника, після чого видаляли спирторозчинні сполуки. Для цього точну наважку (20 г) повітряно-сухого шроту екстрагували 200 мл 82 % етанолу при кімнатній температурі у співвідношенні сировина-екстрагент 1:10 протягом 2 год. Одержану витяжку фільтрували, а шрот

повторно екстрагували. Витяжку відфільтровували, видаляли екстрагент та одержували суму спирторозчинних сполук [42, 43].

Із висушеного шроту виділяли фракцію ВРПС. Наважку повітряно-сухого шроту екстрагували гарячою водою у співвідношенні сировина-екстрагент 1:10 при нагріванні на киплячій водяній бані протягом 1 год при постійному перемішуванні. Екстракцію повторювали ще раз в описаних вище умовах. Одержані витяжки об'єднували та випаровували до 1/5 від початкового об'єму. ВРПС осаджали трикратним об'ємом 96 % етанолу при кімнатній температурі. Осад, що утворився, відфільтровували, промивали 96 % етанолом, етилацетатом, висушували до постійної маси та зважували. Одержували фракцію ВРПС [42, 43].

Зі шроту, що залишився після одержання ВРПС, виділяли фракцію ПВ. Екстракцію проводили двічі сумішшю 0,5 % розчинів кислоти щавлевої та амонію оксалату (1:1) у співвідношенні сировина-екстрагент 1:20 при температурі 80-85°C протягом 2 год. Одержані витяжки об'єднували, концентрували та ПВ осаджували трикратним об'ємом 96 % етанолу. Осад, що утворився, відфільтровували, промивали етанолом, етилацетатом, висушували до постійної маси та зважували. Одержували фракцію ПВ [42, 43].

Із шроту, що залишився після виділення ВРПС та ПВ, одержували фракцію ГЦ дворазовою екстракцією 7 % розчином натрію гідроксиду у співвідношенні сировина-екстрагент 1:10 при кімнатній температурі протягом 12 год. Лужну витяжку відфільтровували. До фільтрату додавали кислоту оцтову льодяну до появи осаду. Осад відфільтровували, висушували до постійної маси та зважували. Одержували фракцію ГЦ А. До фільтрату додавали двократний об'єм 96 % етанолу. Осад, що утворився, відфільтровували, промивали етанолом, етилацетатом, висушували до постійної маси та зважували. Одержували фракцію ГЦ Б [42, 43].

Вміст полісахаридної фракції (X, %) розраховували за формулою:

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \times 100 \times 100}{m \times (100 - W)}, \quad (2.3)$$

де m_1 – маса фільтру з осадом, в г;

m_2 – маса фільтра, в г;

m – маса наважки досліджуваної сировини, в г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, % [42, 43].

Вивчення *моносахаридного складу* здійснювали методом ГХ/МС. Параметри хроматографування:

- колонка капілярна HP-5ms (30m×0,25mm×0,25mkm, Agilent technologies, USA);
- температура випаровувача – 250 °C;
- температура інтерфейсу – 280 °C;
- розділення проводили в режимі програмування температури – початкову температуру 160 °C витримували впродовж 8 хв., піднімали з градієнтом 5 °C/хв до 240 °C. Кінцеву температуру витримували впродовж 6 хв;
- об'єм проби – 1 мкл;
- режим поділу потоку – 1:50;
- детектування проводили в режимі SCAN в діапазоні (38-400 m/z);
- швидкість потоку газу носія крізь колонку – 1,2 мл/хв.

Методика: для одержання вільні моносахаридів 0,200 мг сировини перетигли до порошкоподібного стану в скляній ступці, поміщали у віалу, додавали 10 мл 80 % етанолу та екстрагували сировину на ультразвуковій бані за температури 80 °C протягом 4 год. Відбирали екстракт, випаровували до сухого залишку та ресуспендували додаванням водного розчину внутрішнього стандарту із розрахунку 250 мкг на пробу. Суму вільних і зв'язаних моносахаридів одержували наступним чином: до наважки сировини додавали 2 мл 2М кислоти трифтороцтової та гідролізували за температури 100 °C протягом 6 год. Відбирали 2 мл гідролізату випаровували та промивали водою до видалення кислоти трифтороцтової. Ресуспендували додаванням водного розчину внутрішнього стандарту із розрахунку 250 мкг на пробу. Для одержання альдонітрильних похідних моносахаридів екстракт/гідролізат, випаровували до сухого залишку на роторному випаровувачі та додавали 0,3 мл дериватизуючого реактиву (32 мг/мл гідроксиламіну солянокислого в суміші піридин/метанол (4:1). Розчинений екстракт витримували протягом 25 хв за температури 75 °C. Ацетилювання альдонітрильних похідних моносахаридів вели за температури 75 °C протягом 15 хв. До реакційної суміші додавали 1 мл дихлоретану, надлишок дериватиза-

ційних реагентів видаляли подвійною екстракцією 1 н розчином кислоти хлористоводневої та води. Дихлоретановий шар висушували до сухого залишку та розчиняли в 300 мкл суміші гептан/етилацетат (1:1). Ідентифікацію моносахаридів досліджуваної суміші проводили шляхом порівняння часів утримування стандартних моносахаридів та з використанням бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби. Як внутрішній стандарт використовували розчин сорбітолу.

Масу моносахариду в 1 г сировини (X , мг) розраховували за формулою:

$$X = \frac{S_x \times C_{\text{вст}} \times V_{\text{роз}} \times 1000}{S_{\text{вст}} \times m \times V_{\text{екстр}}}, \quad (2.4)$$

де S_x – площа піку моносахариду;

$C_{\text{вст}}$ – концентрація внутрішнього стандарту, мг/мл;

$V_{\text{роз}}$ – об'єм розчинника для екстракції/гідролізу проби, мл;

$S_{\text{вст}}$ – площа піку внутрішнього стандарту;

m – наважка сировини, мг;

$V_{\text{екстр}}$ – об'єм екстракту, взятий для аналізу, мл [60, 90].

Вміст *клітковини* визначали гравіметричним методом за наступною методикою: 2,5-3,0 г (точна наважка) повітряно-сухої сировини, вміщували до хімічного стакану місткістю 500 мл, додавали 200 мл 1,25 % кислоти сульфатної та відмічали рівень рідини у стакані восковим олівцем. Рідину в стакані кип'ятили протягом 30 хв при періодичному перемішуванні скляною паличкою з гумовим наконечником. По мірі випаровування рідини у стакан доливали гарячу воду до позначки, щоб не збільшувалась концентрація кислоти. Після закінчення кип'ятіння рідину в стакані залишали на 2-5 хв, даючи сформуватися осаду. Фільтрування здійснювали, занурюючи лійку з фільтром, що приєднана до водоструменевого насосу, у ще гарячу рідину для відсмоктування її зі стакана. Лійку занурювали таким чином, що її краї не доставали до осаду. Після видалення майже усієї рідини в стакан додавали до позначки гарячу воду очищену, давали осаду осісти та знову відсмоктували рідину крізь лійку. Процедуру повторювали до нейтральної реакції фільтрату за лакмусом. До залишку після

промивання додавали 100 мл 2,5 % розчину натрію гідроксиду, об'єм рідини у стакані доводили до позначки холодною водою очищеною. Вміст стакану кип'ятили протягом 30 хв, підтримуючи постійний об'єм рідини у стакані додаванням киплячої води очищеної. Розчин охолоджували, фільтрували та осад тричі промивали гарячою водою очищеною. До стакану додавали трохи води, підкисленої 2-3 краплями кислоти сульфатної розведеної. Осад зі стакану за допомогою гарячої води очищеної переносили на паперовий фільтр, попередньо висушений разом з бюксом у термостаті протягом 1 год за температури 130 °С, і зважували. Осад на фільтрі промивали тричі гарячою водою, а потім послідовно 50 мл етанолу та 50 мл діетилового етеру. Фільтр з осадом на лійці залишали на ніч у витяжній шафі, а вранці переносили у той самий бюкс, у якому висушували фільтр, і висушували за температури 130 °С протягом 2 годин. Бюкс охолоджували в ексікаторі та зважували. Різниця між масою фільтра з клітковиною і масою порожнього фільтра дорівнює кількості сирової клітковини у наважці сировини. Вміст сирової клітковини (X, %) у перерахунку на абсолютно суху сировину розраховували за формулою:

$$X = \frac{b \times 100 \times 100}{a \times (100 - W)}, \quad (2.5)$$

де а – наважка сировини, г;

б – маса сирової клітковини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, % [56].

4. *Дослідження органічних кислот.* Вміст органічних кислот визначали титриметричним методом за методикою ДФУ 2.1, монографія «Шипшини плоди^N» [15].

Вивчення органічних кислот також проводили методом ГХ/МС. Параметри хроматографування:

- колонка капілярна HP-5ms (30m×0,25mm×0,25mkm, Agilent technologies, USA);
- температура випаровувача – 250 °С;
- температура інтерфейсу – 280 °С;

- розділення проводили в режимі програмування температури: початкову температуру 50 °С витримували впродовж 4 хв, потім піднімали з градієнтом 5 °С/хв до 300 °С, яку витримували впродовж 5 хв;

- об'єм проби – 1 мкл;
- режим поділу потоку – 1:50;
- детектування проводили в режимі SCAN в діапазоні (38-400 m/z);
- швидкість потоку газу носія через колонку – 1,0 мл/хв.

Методика: наважку сировини 0,2-1,0 г (точна наважка), екстрагували 10 мл 0,1 % розчину кислоти фосфорної на ультразвуковій бані за температури 80 °С протягом 4 год у скляних герметичних віалах із тефлоновою кришкою. Одержаний екстракт центрифугували при 3 тис об/хв та фільтрували крізь одноразовий мембранний фільтр з порами 0,22 мкм.

Аліквоту зразку випаровували до сухого залишку на роторному випарувачі. Сухий залишок розчиняли у 390 мкл 1 М розчину натрію гідроксиду, додавали 333 мкл метанолу та 67 мкл піридину, ретельно перемішували протягом 5 с. До суміші додавали 80 мкл метилхлороформату, ретельно перемішували протягом 60 с. Утворені деривати екстрагували 400 мкл хлороформу з подальшим додаванням 400 мкл 50 М розчину натрію гідрокарбонату. Для подальшого аналізу використовували хлороформну фазу.

Хроматографічне розділення проводили на газовій хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973inert.

Ідентифікацію кислот проводили шляхом порівняння часів утримання стандартів амінокислот та за бібліотекою мас-спектрів NIST 02. Кількісне визначення проводили з використанням стандартних розчинів органічних кислот. Кількісний вміст визначали методом зовнішніх стандартів. Кількісний вміст кислот проводили в перерахунку на лимонну кислоту.

Вміст кожної кислоти (X, мг/г) розраховували за формулою:

$$X = \frac{C \times V}{m \times 1000}, \quad (2.6)$$

де C – концентрація кислоти, визначена хроматографічно, мкг/мл;

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса наважки сировини, г;

1000 – коефіцієнт перерахунку мкг в мг [88].

5. *Дослідження аскорбінової кислоти.* Вміст аскорбінової кислоти встановлювали спектрофотометричним методом за методикою ДФУ 2.0, т. 3, монографія «Шипшина» [18].

Також кількісне визначення аскорбінової кислоти проводили фотометричним методом. Близько 5,0 г (точна наважки) сировини розтирали в ступці з 5 мл 6 % розчину кислоти метафосфорної та піску, переносили в мірну колбу місткістю 100 мл, змиваючи ступку і товкачик невеликими порціями розчину кислоти метафосфорної до тих пір, поки об'єм не досягне позначки. Вміст витримували протягом 10 хв, перемішували та фільтрували. У ділильну лійку вносили 1 мл одержаного екстракту, додавали 6 % розчин кислоти метафосфорної до об'єму 5 мл, 4 мл ацетатного буферного розчину та 2 мл розчину натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту, перемішували та додавали 10 мл бутилацетату. Оптичну густину бутанольного розчину вимірювали за довжини хвилі 500 нм.

Вміст аскорбінової кислоти (X , мг/100 г) розраховували за формулою:

$$X = \frac{(V_1 - V_2 - V_3) \times T \times V_4 \times 100}{m \times V_5}, \quad (2.7)$$

де V_1 – об'єм розчину натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту, витрачений під час випробування, мл;

V_2 – об'єм надлишку розчину натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту, визначений за калібрувальним графіком, мл;

V_3 – об'єм розчину натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту, витрачений у контрольному досліді, мл;

V_4 – об'єм екстракту, одержаний екстрагуванням вітаміну С з наважки сировини, мл;

V_5 – об'єм екстракту, взятий для випробування, мл;

T – титр розчину натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту, г/мл;

m – маса наважки сировини, г [24].

Паралельно проводили випробування для побудови калібрувального графіку та контрольне випробування вмісту редукувальних речовин.

Для визначення вмісту редукувальних речовин у ділильну лійку вміщували 1 мл екстракту, додавали 4 мл ацетатного буферного розчину, 2 мл розчину

формальдегіду, перемішували, витримували 10 хв, додавали розчин натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту та 10 мл бутилацетату, струшували та давали розшаруватись. Після цього визначали оптичну густину органічного шару за довжини хвилі 500 нм.

Побудова калібрувального графіку. Готували 5 розчинів натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту. У ділительні лійки вносили: у 1-шу – 5 мл 6 % розчину кислоти метафосфорної, у решту послідовно – 0,2 мл; 0,4 мл; 0,6 мл; 0,8 мл розчину натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту та додавали 6 % розчин кислоти метафосфорної до об'єму 5 мл. В усі ділительні лійки додавали по 5 мл ацетатного буферного розчину, перемішували та додавали по 10 мл бутилацетату, закривали пробками, перемішували 10 с, давали відстоятись та розшаруватись. Оптичну густину органічного шару вимірювали за довжини хвилі 500 нм. За одержаними даними будували калібрувальний графік залежності оптичної густини від об'єму натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту.

Приготування 6 % розчину кислоти метафосфорної. 15 г метафосфорної кислоти розчиняли в 250 мл води очищеної, додавали 40 мл кислоти оцтової льодяної, доводили об'єм розчину водою очищеною до 500 мл, перемішували та фільтрували в склянку з притертою пробкою. Зберігали в холодильнику не більше 10 днів [24-26].

6. *Дослідження вітамінів.* Визначення вмісту вітамінів B_1 , B_2 і B_9 проводили флуорометричним методом.

6.1. Методика визначення вітаміну B_1 (тіаміну): 5,0 г (точна наважка) подрібненої сировини вміщували в колбу, додавали 30 мл 0,1 н розчину кислоти хлористоводневої та проводили депротеїнізацію, нагріваючи колбу на киплячій водяній бані протягом 15 хвилин та охолоджували. Невідділяючі осад, рН розчину доводили до 4,5, додаючи по краплях 4 М Na-оцетокислий буфер (рН 4,5). рН перевіряли за універсальним індикатором. Потім вносили 5 мл фосфатази та поміщали на 16-18 год до термостату при 370 °С. Після фосфоролізу пробу кип'ятили протягом 10 хв та центрифугували 20 хв при 3000 об/хв та вимірювали об'єм надосадової рідини. Надосадову рідину наносили на колонку зі смолою IRC-50, елюювали 30 мл води очищеної, а потім елюацію тіаміну про-

водили 50 мл 0,1 н розчину кислоти хлористоводневої. Із загального об'єму елюенту відбирали 5 мл, додавали 2 мл суміші 2 мл 2,5 % гексаціаноферату (III) калію та 10 мл 30 % натрію гідроксиду. Суміш витримували 3 хв, додавали 5 мл бутанолу, збовтували 2 хв. Бутанольний екстракт відбирали в суху пробірку, додавали 1 мл етанолу та ретельно перемішували. Паралельно готували компенсаційний розчин аналогічно випробовуваному, в якому замість досліджуваного зразку містилася вода очищена. Інтенсивність флуоресценції вимірювали у порівнянні зі стандартними розчинами тіаміну, в яких містилося від 0,5 до 5 мкг СЗ тіаміну хлориду в 5 мл, які обробляли аналогічно випробовуваному розчину. Вимірювання інтенсивності флуоресценції здійснювали на спектрофлуориметрі при збудженні 360 нм, емісії 430 нм.

Вміст вітаміну B_1 (X, мг/100 г) розраховували за формулою:

$$X = \frac{C_T \times (A - K_1) \times 50 \times V_1}{(C - K) \times 5 \times m \times V_2}, \quad (2.8)$$

де A – інтенсивність флуоресценції випробовуваного розчину;

K – інтенсивність флуоресценції компенсаційного розчину;

K_1 – інтенсивність флуоресценції компенсаційного розчину з хроматографічної колонки;

C_T – маса наважки тіаміну-стандарту, мкг;

C – інтенсивність флуоресценції розчину СЗ тіаміну;

m – маса наважки сировини, г;

50 – об'єм елюату з хроматографічної колонки;

5 – об'єм елюату, взятий для аналізу;

V_1 – загальний об'єм проби, мл;

V_2 – об'єм надосадової рідини, мл [63].

6.2. Вміст вітаміну B_2 (рибофлавіну) встановлювали за допомогою рибофлавінзв'язуючого апобілка, виділеного з білка курячих яєць. Методика: до 0,2 мл досліджуваного гідролізату додавали рівний об'єм 4 М розчину калію дигідрофосфату та воду очищену до об'єму 3 мл (2,6 мл). Вимірювали інтенсивність флуоресценції одержаного розчину (A). Потім додавали 50 мкл розчину рибофлавіну з концентрацією 2 мкг/мл та повторювали вимірювання інтенсивності флуоресценції (C). Додавали 30 мкл рибофлавінзв'язуючого апобілка, перемі-

шували та вимірювали інтенсивність флуоресценції після кожного додавання білка. Білок додавали до того часу, поки інтенсивність флуоресценції після 2 останніх додавань не переставала знижуватися (В). Різниця інтенсивності флуоресценції пропорціональна кількості рибофлавіну в гідролізаті. Оскільки при додаванні стандарту рибофлавіну та рибофлавінзв'язуючого апобілка об'єм у кюветі збільшився незначно (на 2-3 %), то при проведенні розрахунків розведення не враховували. Кількість рибофлавінзв'язуючого апобілка, необхідну для титрування рибофлавіну, підбирали для кожного досліджуваного зразка емпірично. Концентрації досліджуваних розчинів рибофлавіну та рибофлавінзв'язуючого апобілка визначали спектрофотометричним методом (коефіцієнт молярної екстинції рибофлавіну при 455нм – $1,25 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, для рибофлавінзв'язуючого апобілка при 282нм – $4,9 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Інтенсивність флуоресценцію вимірювали за довжині хвилі збуджуючого світла 465 нм, випускаючого – 525нм.

Вміст рибофлавіну (X, мг/100 г) розраховували за формулою:

$$X = \frac{(A-B) \times 0,10 \times V}{(C-A) \times 0,2 \times m}, \quad (2.9)$$

де 0,2 – об'єм гідролізату, взятий для аналізу, мл;

0,10 – кількість доданого стандарту рибофлавіну, мг/мл;

V – загальний об'єм гідролізату, мл;

m – наважка досліджуваної сировини, г [4, 9].

6.3. Методика визначення *вітаміну B₉ (фолієвої кислоти)*: дві наважки сировини масою 1,0 (точна наважка), поміщали в колби, додавали ацетатний буферний розчин з рН 4,5 та нагрівали на водяній бані протягом 5 хв. У другу колбу після охолодження додавали ферментний препарат з нирок свині у кількості 100,0 мг на 1,0 г сировини. В обидві колби додавали по 2 краплі толуєну та витримували у термостаті за температури 37 °С протягом 24 год. Потім колбу з гідролізатом кип'ятили на водяній бані протягом 5 хв, охолоджували, доводили об'єми розчинів водою очищеною до 50 мл і фільтрували.

Для осадження білків до частини фільтрату додавали таку кількість 57 % розчину кислоти хлорної, щоб її кінцева концентрація дорівнювали 5 %, і залишали на льоду на 30 хв.. Осад, що утворився, відфільтровували або центри-

фугували на холододу до одержання прозорого фільтрату, миттєво рН фільтрату доводили до 7,0 заздалегідь визначеною кількістю 5 н розчину калію гідроксиду, залишали на льоду 10-15 хв і центрифугували для видалення осаду калію хлорнокислого.

Для видалення тирозину до одержаного безбілкового фільтрату додавали 0,5 мл кислоти оцтової льодяної, 0,35 г гідраргіруму оцтовокислого, кип'ятили протягом 5 хв зі зворотним холодильником, охолоджували, додавали 0,75 г натрію хлориду, залишали на льоду протягом 2 год і центрифугували. рН центрифугату доводили ацетатним буфером до 3,9-4,1, а об'єм розчину водою очищеною до 30 мл.

До ½ одержаного розчину по краплях додавали 4 % розчин калію перманганату до зникнення рожевого забарвлення. Суміш витримували протягом 5 хв і надлишок калію перманганату видаляли 3 % розчином перекису водня. Потім рН розчину доводили до 3,9-4,1, вимірювали об'єм і, за необхідно, розчин фільтрували. Другу половину фільтрату доводили водою очищеною до об'єму розчину, що одержаний після окиснення.

Інтенсивність флуоресценції розчинів (до та після окиснення) вимірювали на флуорометрі. Паралельно визначали інтенсивність флуоресценції стандартного розчину вітаміну В₉ (0,5 мкг/мл), обробленого аналогічно досліджуваним.

Вміст загального вітаміну В₉ (X, мкг/1100 г) розраховували за формулою:

$$X = \frac{[(A_1 - A_2) - (B_1 - B_2)] \times n \times V \times 100}{(F_1 - F_2) \times a \times 1000}, \quad (2.10)$$

де A_1 – інтенсивність флуоресценції досліджуваного розчину після окиснення;

A_2 – інтенсивність флуоресценції досліджуваного розчину до окиснення;

F_1 – інтенсивність флуоресценції стандартного розчину вітаміну В₉ після окиснення;

F_2 – інтенсивність флуоресценції стандартного розчину вітаміну В₉ до окиснення;

B_1 – інтенсивність флуоресценції розчину ферменту після окиснення;

B_2 – інтенсивність флуоресценції розчину ферменту до окиснення;

n – вміст вітаміну В₉ в 1 мл стандартного розчину, мкг;

a – наважка сировини, г;

V – фактор розведення.

Розрахунок вмісту вільного вітаміну B_9 розраховували за тією ж формулою, виключив інтенсивність флуоресценції розчину ферменту ($B_1 - B_2$) [63].

6.4. Визначення вмісту вітаміну B_3 (нікотинової кислоти) проводили спектрофотометричним методом. 5,0 г (точна наважка) подрібненої сировини розтирали в ступці з 1,5 г кальцію карбонату, вміщували у колбу місткістю 100 мл, додавали 40 мл води очищеної та кип'ятили на киплячій водяній бані зі зворотним холодильником протягом 90 хв. Суміш охолоджували та доводили до об'єму 50 мл. Гідролізат фільтрували, відбирали 25-30 мл фільтрату, додавали 1 краплю 1 % розчину фенолфталеїну та по краплях 5 н розчин кислоти хлористоводневої до знебарвлення розчину. У колбу додавали 2 мл 80 % розчину цинку сульфату, по краплях 4 н розчин натрію гідроксиду до появи рожевого забарвлення. До забарвленого розчину додавали декілька крапель 5 н розчину кислоти сульфатної до знебарвлення. Одержаний розчин залишали на 10 хв, періодично помішуючи, а потім додавали 1-2 краплі етанолу, для усунення піни, доводили об'єм розчину до 50 мл, перемішували та фільтрували крізь складчастий фільтр.

Для проведення кольорової реакції використовували 8 пробірок з притертими пробками: в три пробірки поміщали по 5 мл робочого стандартного розчину нікотинової кислоти, в чотири – по 5 мл одержаного фільтрату, в одну – 5 мл води. Усі пробірки закривали пробками і витримували на водяній бані за температури 50 °C протягом 5 хв. Потім у пробірки зі стандартним розчином, в пробірку з водою і в 2 пробірки з фільтратом додавали по 2 мл роданбромідного розчину. У 2 інші пробірки з досліджуваним розчином додавали по 2 мл води. Усі пробірки витримували на водяній бані за температури 50°C на 10 хвилин. Потім охолоджували до кімнатної температури, в кожную вносили по 3 мл розчину метолу, струшували та витримували в темному місці при кімнатній температурі протягом 1 год. Оптичну густину досліджуваних розчинів вимірювали на спектрофотометрі за довжини хвилі 400 нм. Як компенсаційний розчин використовували воду очищену.

Вміст вітаміну В₃ (X, мг/100 г) в досліджуваній сировині розраховували за формулою:

$$X = \frac{(A-A_1) \times V_0 \times V_2 \times P \times 100}{(B-B_1) \times V_1 \times V_3 \times m \times 1000}, \quad (2.11)$$

де A – оптична густина випробовуваного розчину;

A_1 – оптична густина випробовуваного розчину для сліпих поправок на барвні, інертні та амінореагуючі речовини;

B – оптична густина стандартного розчину;

B_1 – оптична густина стандартного розчину для сліпої поправки на реагент;

V_0 – об'єм гідролізату, мл

V_1 – об'єм гідролізату, взятий для очищення розчином цинку сульфатом, мл;

V_2 – об'єм гідролізату, що залишився після очищення розчином цинку сульфату, мл;

V_3 – об'єм розчину, взятий для проведення кольорової реакції, мл;

P – вміст нікотинової кислоти в 5 мл стандартного розчину, мкг/г;

m – маса наважки досліджуваної сировини, г [63, 77].

7. *Дослідження гідроксикоричних кислот.* Кількісне визначення гідроксикоричних кислот проводили спектрофотометричним методом за методикою ДФУ 2.0, т. 3, монографія «Кропиви листя^N» для трави ельшольції війчастої, монографія «Розмарину листя» для трави ельшольції Стаунтона [18].

Також використовували методом ВЕРХ. Методика: наважку досліджуваної сировини 0,1-1,0 г (точна наважка) екстрагували 5-10 мл 60 % метанолу на ультразвуковій бані за температури 80 °С протягом 4 год у скляних герметичних віалах із тефлоновою кришкою. Одержаний екстракт центрифугували при 3 тис об/хв та фільтрували крізь одноразовий мембранний фільтр з порами 0,22 мкм.

Параметри хроматографування:

- рухома фаза – метанол (А) та 0,1 % розчин кислоти мурашиної (В);
- елюювання проводили в градієнтному режимі: 0 хв – А (25 %) : В (75 %); 25 хв – А (75 %) : В (25 %); 27 хв – А (100 %) : В (0 %); 35 хв – А (100 %) : В (0 %);

- хроматографічна колонка Zorbax SB-Aq (4,6 мм±150 мм, 3,5 мкм) (Agilent Technologies, USA);
- швидкість потоку – 0,5 мл/хв;
- температура термостату – 30 °С;
- об'єм інжекції – 4 мкл;
- детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 250 та 275 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм.

Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили з використанням стандартних розчинів фенолкарбонових (галової, гідроксифенілоцтової, хлорогенової, кофейної, сирінгової, *p*-кумарової, *транс*-ферулової, синапової, *транс*-цинамової, хінної) кислот.

Вміст кожної з кислот (X , мкг/г) розраховували за формулою:

$$X = \frac{c \times V}{m}, \quad (2.12)$$

де c – концентрація речовини, визначена хроматографічно, мкг/мл;

V – об'єм екстракту, мл;

- m – маса сировини, г [101].

Визначення розмаринової кислоти здійснювали методом ВЕРХ. Методика: наважку сировини масою 0,50 г поміщали у конічну колбу місткістю 100 мл і додавали 25 мл суміші для екстрагування – 96 % етанол – вода – 25 % кислота хлористоводнева (25:20:5). Колбу приєднували до зворотного холодильника та кип'ятили на водяній бані протягом 90 хв. Витяжку охолоджували до кімнатної температури та фільтрували у мірну колбу місткістю 25 мл. Хроматографічне дослідження проводили на рідинному хроматографі, обладнаному діодноматричним детектором Shimadzu HPLC-system, ser. 20. Параметри хроматографування:

- хроматографічна колонка Phenomenex Luna C18(2) 250 мм × 4,6 мм з розміром частинок 5 мкм;
- температура колонки – 35 °С;
- довжина хвилі детектування – 330 нм;
- швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв;

- об'єм проби – 0,1 % розчин кислоти трифтороцтової у воді (А) і 0,1 % розчин кислоти трифтороцтової в ацетонітрилі (Б) у градієнтному режимі:

Час хроматографування, хв	Елюент А, %	Елюент Б, %
0-5	95	5
5-35	95 → 75	5 → 25
35-40	75	25
40-60	75 → 50	25 → 50
60-65	50 → 20	50 → 80
65-70	20	80
70-85	95	5

Ідентифікацію компонентів проводили за часом утримання та відповідністю УФ-спектрів спектрам стандартних речовин [101].

8. *Дослідження флавоноїдів.* Визначення кількісного вмісту флавоноїдів проводили спектрофотометричним методом за методикою ДФУ 2.1, монографія «Софори бутони» у траві ельшольції війчастої [15], за методикою ДФУ 2.2, монографія «Пижма квітки^N» у траві ельшольції Стаунтона [16].

Вивчення даної групи сполук також проводили методом ВЕРХ. Методика: до 0,2-0,6 г (точна наважка сировини) додавали 5 мл 80 % етанолу та екстругували на ультразвуковій бані при 80 °С протягом 5 год у скляних герметичних віалах із тефлоновою кришкою. Одержаний екстракт центрифугували при 3000 об/хв та фільтрували крізь одноразовий мембранний фільтр з порами 0,22 мкм. Хроматографування здійснювали на рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200. Параметри хроматографування:

- рухома фаза – ацетонітрил (А) та 0,1 % розчин кислоти мурашиної (В);
- градієнтний режим: 0 хв – А (5 %) : В (95 %); 20 хв – А (30 %) : В (70 %); 30 хв – А (60 %) : В (40 %); 50 хв – А (100 %) : В (0 %); 60 хв – А (100 %) : В (0 %);
- хроматографічна колонка Zorbax SB-C18 (3,5 мкм, 150 x 4,6 мм) (Agilent Technologies, USA);
- швидкість потоку – 0,25 мл/хв;
- температура термостату – 30 °С;

- об'єм інжекції – 4 мкл;

- детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 280 і 365 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм.

Ідентифікацію та кількісне визначення проводили з використанням стандартних розчинів флавоноїдів (рутину, кверцетин-3-*b*-глікозиду, нарінгіну, неогесперідину, гесперідину, кверцетину, нарінгеніну, кемпферолу, лютеоліну, апігеніну). Калібрування проводили методом зовнішніх стандартів.

Вміст флавоноїдів (X , мкг/г) розраховували за формулою:

$$X = \frac{c \times V}{m}, \quad (2.13)$$

де c – концентрація речовини, визначена хроматографічно, мкг/мл;

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини, г [139].

9. *Дослідження катехінів.* Склад катехінів вивчали методом ВЕРХ на рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200. Методика: наважку сировини 0,2-0,6 г екстрагували 10 мл 70 % розчину етанолу на ультразвуковій бані за температури 80 °С протягом 5 год в скляних герметичних віалах із тефлоновою кришкою. Одержаний екстракт центрифугували при 3000 об/хв та фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм. Як рухому фазу використовували метанол (А) та 0,1 % розчин кислоти мурашиної у воді (В). Елюювання проводили в градієнтному режимі: 0 хв – А (20 %) : В (80 %); 25 хв – А (75 %) : В (25 %); 27 хв – А (100 %) : В (0 %); 35 хв – А (100 %) : В (0 %). Параметри хроматографування:

- хроматографічна колонка Zorbaх SB-C18 (3,5 мкм, 150 x 4,6 мм) (Agilent Technologies, USA);

- швидкість потоку через колонку – 0,25 мл/хв;

- температура термостату – 35 °С;

- об'єм інжекції – 4 мкл.

Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 250 та 275 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм.

Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили з використанням стандартних розчинів катехінів (пірокатехіну, катехіну, епікатехіну, епікатехінгалату та галокатехіну).

Вміст катехінів (X, мкг/г) розраховували за формулою:

$$X = \frac{c \times V}{m}, \quad (2.14)$$

де c – концентрація сполуки, визначена хроматографічно, мкг/мл;

V – об'єм екстракту, мл;

m – наважка сировини, г [141].

10. *Дослідження антоціанів.* Кількісний вміст антоціанів, у перерахунку на ціанідину хлорид визначали за методикою ДФУ 2.0, т. 3, монографія «Чорниці плоди, свіжі» [18].

Вивчення антоціанів проводили методом ВЕРХ на рідинному хроматографі з діодно-матричним детектором, обладнаними вакуумним дегазатором, автоматичним інжектором, чотирьохканальним насосом градієнту низького тиску і термостатом колонок.

Парметри хроматографування:

- хроматографічна колонка Phenomenex Luna C18(2), розміром 250 мм х 4,6 мм, розмір частинок 5 мкм;

- рухома фаза – ацетонітрил (А) та суміш кислота оцтова– ацетонітрил – трифтороцтова кислота – вода (10:2:0,2:87,8) (В) у градієнтному елююванні:

Час хроматографування (хв)	Елюєнт А, %	Елюєнт В, %
0–20	0 → 20	100 → 80
20–25	20 → 40	80 → 60
25–35	40 → 0	60 → 80

- швидкість потоку рухомої фази через колонку – 1 мл/хв;

- температура термостату – 25 °С;

- об'єм інжекції – 10 мкл;

- довжина хвилі детектування – 520 нм.

Ідентифікацію антоціанів проводили за часом утримування та спектрами UV-VIS порівняно зі стандартизованими екстрактами чорниці, винограду та журавлини [1162].

11. *Дослідження танінів.* Вміст суми танінів у перерахунку на пірогалол визначали спектрофотометричним методом за методикою ДФУ 2.0, т. 1, монографія «Визначення танінів у лікарській рослинній сировині» [17].

12. *Одержання ліпофільних сполук.* Вилучення ліпофільних речовин проводили на апараті Сокслета вичерпною екстракцією хлороформ. На аналітичних вагах зважували пакет з фільтрувального паперу і вміщували в нього 5,0 г попередньо зваженої на ручних вагах сировини. Пакет з сировиною вміщували в екстрактор. Після того, як усі частини апарату щільно з'єднані, крізь холодильник додавали хлороформ до тих пір, поки рідина не переллється крізь сифон у приймач, а потім екстрактор ще наповнювали хлороформом приблизно на 1/3 об'єму. Екстракцію ліпофільних сполук вели при нагріванні до тих пір, поки екстрагет перестане знебарвлюватися. Досягнувши повноти вилучення, розчинник відганяли, приймач зважували, попередньо висушивши його у сушильній шафі при 90-95 °С до постійної маси.

Вміст ліпофільних речовин (X, %) розраховували за формулою:

$$X = \frac{(A-B) \times 100}{B}, \quad (2.15)$$

де А – маса приймача з ліпофільним екстрактом, г;

Б – маса порожнього приймача, г;

В – наважка сировини, г [51, 59].

13. *Дослідження рослинних пігментів.* Визначення вмісту рослинних пігментів – хлорофілів та каротиноїдів проводили спектрофотометричним методом. Методика: 0,1 г (точна наважка) подрібненої сировини вміщували в ступку з невеликою кількістю кальцію або магнію карбонату, додавали на кінчику шпателью кварцевого піску, 2-3 мл 96 % етанолу та ретельно розтирали протягом 2-3 хв. Одержану витяжку фільтрували, зливаючи по скляній паличці, крізь скляний фільтр № 3, накритий кружечком фільтрувального паперу, у скляну пробірку, підвішену на нитці в колбі Бунзена, яка приєднана до водоструйного насоса. Екстракцію пігментів з сировини новими порціями екстрагенту проводили до тих пір, доки фільтрат не знебарвлювався. Витяжку з пробірки кількісно переносили в мірну колбу місткістю 25 мл та доводили до позначки 96 % етанолом.

Для розрахунку концентрації хлорофілів a і b та каротиноїдів у витяжці визначали їх оптичну густина на спектрофотометрі за довжин хвиль, що відповідали максимумам спектра поглинання цих пігментів у 96 % етанолі: для хлорофілу a – за довжини хвилі 665 нм, для хлорофілу b – за довжини хвилі 649 нм, для каротиноїдів – за довжини хвилі 441 нм.

Концентрацію хлорофілів a (C_a , мг/л) і b (C_b , мг/л) розраховували за формулами:

$$C_a = 13,70 \times A_{665} - 5,76 \times A_{649}, \quad (2.16)$$

$$C_b = 25,8 \times A_{649} - 7,60 \times A_{665}, \quad (2.17)$$

де A_{665} – оптична густина розчину за довжини хвилі 665 нм;

A_{649} – оптична густина розчину за довжини хвилі 649 нм.

Концентрацію каротиноїдів ($C_{\text{кар.}}$, мг/л) розраховували за формулою:

$$C_{\text{кар.}} = 4,695 \times A_{441} - 0,268 \times (C_a + C_b), \quad (2.18)$$

де A_{441} – оптична густина розчину за довжини хвилі 441 нм;

$C_a + C_b$ – сумарний вміст хлорофілів a і b в розчині, мг/л.

Кількісний вміст пігментів (X , мг/г) розраховували за формулою:

$$X = \frac{V \times C \times 100}{m \times 1000 \times (100 - W)}, \quad (2.19)$$

де V – об'єм етанольної витяжки, мл;

C – концентрація пігменту в етанольній витяжці, мг/л;

m – маса наважки випробовуваної сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, % [21, 67].

Вміст хлорофілів і каротиноїдів також визначали у ліпофільній фракції.

Визначення вмісту каротиноїдів проводили спектрофотометричним методом. Для приготування випробовуваного розчину 0,05 г (точна наважка) ліпофільної фракції поміщали в мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняли у невеликій кількості гексану та доводили об'єм розчину тим же розчинником до позначки. Оптичну густина вимірювали за довжини хвилі 450 нм. Як компенсаційний розчин використовували гексан. Паралельно вимірювали оптичну густина розчину СЗ калію біхромату. Як компенсаційний розчин використовували воду очищену.

Вміст каротиноїдів (X , мг%) у перерахунку на β -каротин розраховували за формулою:

$$X = \frac{A_0 \times 0,00208 \times V \times 100 \times 100}{m \times A}, \quad (2.20)$$

де A_0 – оптична густина розчину біхромату калію;

A – оптична густина випробовуваного розчину;

0,00208 – кількість β -каротину, що відповідає 1 мл стандартного розчину калію біхромату, мг;

m – наважка сировини, г;

V – первинний об'єм розчину, мл [51, 59].

Примітка: Приготування розчину СЗ калію біхромату: 0,0900 г (точна наважка) калію біхромату вміщували у мірну колбу місткістю 250 мл, розчиняли у воді очищеній і доводили об'єм розчину водою очищеною до позначки. Розчин по забарвленню відповідає розчину, який містить 0,00208 мг β -каротину в одному мілілітрі [51, 59].

Визначення вмісту хлорофілів проводили фотоколориметричним методом. Випробовуваний розчин готували за такою методикою: 0,5 г ліпофільної фракції поміщали у мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняли у невеликій кількості 96% етанолу та доводили об'єм розчину тим же розчинником до позначки. Оптичну гуστину визначали на фотоелектроколориметрі КФК-2УХЛ з червоним світлофільтром у кюветі з товщиною шару 10 мм. Компенсаційний розчин був 96 % етанол. Паралельно вимірювали оптичну гуστину стандартного розчину Гетрі у тих самих умовах.

Вміст хлорофілу (X , %) розраховували за формулою:

$$X = \frac{A_1 \times P \times B \times 100}{m \times A_2}, \quad (2.21)$$

де A_1 – оптична густина ліпофільного екстракту;

A_2 – оптична густина стандартного розчину Гетрі;

P – розведення;

B – кількість хлорофілу, яка відповідає за кольором 1 мл стандартного розчину, г/мл;

m – наважка ліпофільного екстракту, г [51, 59].

Примітка: Приготування стандартного розчину Гетрі. Для приготування стандартного розчину Гетрі, використовували 50 мл 4% розчину калію біхромату 28,5 мл, 1% розчину купруму сульфату, 10 мл 10% розчину амонію гідроксиду, води очищеної до 1000 мл. 1 мл отриманого розчину відповідає за кольором 0,000085 г хлорофілу [51, 59].

14. *Дослідження жирних кислот.* Вивчення жирнокислотного складу проводили методом ГХ на газовому хроматографі «Селміхром-1» з полум'яно-іонізаційним детектором після попереднього метилювання.

Параметри хроматографування:

- хроматографічна колонка з нержавіючої сталі довжиною 2,5 м, внутрішнім діаметром 4 мм;
- стаціонарна фаза – Інертон після попередньої обробки 10 % діетиленгліколю сукцинатом (ДЕГС);
- газ-носій – азот;
- температура термостата колонки – 180 °С;
- температура випарника – 230 °С;
- температура детектора – 220 °С;
- швидкість потоку азоту – 30 см³/хв;
- об'єм проби – 2 мл³.

Методика: метилові ефіри жирних кислот одержували модифікованим методом Пейскера. Метилювання проводили сумішшю хлороформу, метанолу та кислоти сульфатної у співвідношенні 100:100:1. До 30-50 мкл ліпофільної фракції в скляних ампулах додавали 2,5 мл метилюючої суміші, ампули закупорювали і залишали на 3 год у термостаті при постійній температурі 105 °С. Потім вміст ампул переносили в пробірку, додавали невелику кількість порошку цинку сульфату та по 2 мл води очищеної та гексану для екстракції метилових ефірів. Екстракт перемішували, відстоювали і гексанову фазу відфільтровували для хроматографічного аналізу.

На хроматограмах жирні кислоти ідентифікували за часом утримування порівняно зі стандартними зразками жирних кислот. Еталонними зразками були

стандарти насичених і ненасичених метилових ефірів жирних кислот фірми «Sigma Ltd». Вміст жирних кислот розраховували шляхом нормалізації [14, 136].

15. *Дослідження летких сполук.* Вивчення якісного складу та визначення вмісту летких сполук проводили методом ГХ/МС. Методика: наважку сировини 0,5-1,5 г (точна наважка) поміщали до віали об'ємом 20 мл і додавали внутрішній стандарт – тридекан – із розрахунку 20 мкг на наважку з наступним розрахунком одержаної концентрації внутрішнього стандарту для проведення подальших розрахунків. До віали додавали 10 мл води очищеної та відганяли леткі сполуки з водяною парою протягом 2 год. Після перегонки леткі речовини, адсорбовані на внутрішній поверхні зворотнього холодильника, змивали, повільно додаючи 3 мл особливо чистого пентану, в суху віалу місткістю 10 мл. Змив концентрували у потоці (100 мл/хв) особливо чистого нітрогену до залишкового об'єму екстракту 100 мкл, який повністю відбирали хроматографічним шприцом.

Параметри хроматографування:

- капілярна колонка HP-5ms (внутрішній діаметр – 0,25 мм, довжина – 30 м);
- швидкість газу-носія (гелію) – 1,0 мл/хв;
- температура нагрівача введення проби – 250 °C;
- температура термостату програмувалася – від 50 до 320 °C;
- швидкість – 4 град/хв.

Для ідентифікації компонентів одержані спектри розглядали на основі загальних закономірностей фрагментації молекул органічних сполук під дією електронного удару, а також шляхом порівняння одержаних результатів з даними бібліотек мас-спектрів NIST02 із загальною кількістю спектрів більш 470000 у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS и NIST. Кількісний вміст визначали за методом внутрішніх стандартів.

Вміст жирних кислот (X, мкг/г) розраховували за формулою:

$$X = \frac{\Pi_1 \times 20}{\Pi_2 \times m}, \quad (2.22)$$

де Π_1 – площа піка речовини, що вивчалася;

20 – маса внутрішнього стандарту, що вводився в зразок, мкг;

P_2 – площа піка стандарту;

m – наважка сировини, г [5, 23].

16. *Дослідження фітостеролів.* Ідентифікацію та кількісне визначення стероїдних сполук проводили методом ГХ/МС. Методика: 0,2-0,5 г подрібненої сировини вміщували у віали об'ємом 20 мл, додавали тридекан як внутрішній стандарт та 10 мл метиленхлориду як розчинника. Віали витримували протягом 3 год в ультразвуковому екстракторі або протягом доби при кімнатній температурі. Одержану витяжку (8 мл) переносили до віали об'ємом 10 мл та концентрували, продуваючи потоком особливо чистого нітрогену (швидкість потоку – 100 мл/хв) до залишкового об'єму витяжки 10 мкл.

Експеримент проводили на хроматографі Agilent Technologies 6890 з маспектрометричним детектором 5973. Параметри хроматографування:

- капілярна колонка HP-5ms (діаметр 0,25 мм, довжина – 30 м);
- швидкість газу-носія (гелію) – 1,0 мл/хв;
- температура нагрівача вводу проби – 350 °C;
- температура термостату програмувалася – від 150 °C до 300 °C зі швидкістю 7 град/хв.

Компоненти ідентифікували з використанням бібліотеки мас-спектрів у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS та NIST. Кількісний вміст стероїдів визначали за методом внутрішніх стандартів.

Вміст стероїдів (X , мг/г) розраховували за формулою:

$$X = \frac{P_1 \times 50}{P_2 \times m}, \quad (2.23)$$

де P_1 – площа піка речовини, що вивчалася;

P_2 – площа піка стандарту;

m – наважка сировини, г;

50 – маса внутрішнього стандарту, що вводився в зразок, мкг [79, 128].

17. *Дослідження елементного складу.* Визначення проводили методом РФМ. Метод засновано на вимірюванні інтенсивності випромінювання ліній спектра рентгенівської флуоресценції атомів хімічного елементу при їх збудженні рентгенівським випромінюванням, джерелом якого є рентгенівська трубка. Межа виявлення елементів у пробі – 0,1–1 мкг/г.

Аналітичні параметри: пристрій збудження, рентгенівська трубка, 25 мкмВе вікно, природнє охолодження; генератор 4 - 50 кВ з кроком 0,1 кВ, струм 0 - 100 мкА з кроком 0,2 мкА, потужність до 5 ВА; детектор рентгенівського випромінювання, напівпровідниковий Si-pin з термоелектричним охолодженням, як спектрометричний процесор був аналоговий процесор, час-варіантний формувач, режектор накладень, селектор по формі імпульсу [52].

2.4 Методики визначення показників якості та технологічних параметрів сировини

Визначення *втрати в масі при висушуванні* визначали гравіметричним методом за методикою ДФУ 2.0, т.1, загальна стаття «Втрата в масі при висушуванні» [17].

Вміст загальної золи визначали гравіметричним методом за методикою ДФУ 2.0, т. 1, загальна стаття «Загальна зола» [17].

Визначення *вмісту золи, нерозчинної в хлористоводневій кислоті*, здійснювали гравіметричним методом за методикою ДФУ 2.0, т. 1, загальна стаття 2.8.1 «Зола, нерозчинна в хлористоводневій кислоті» [17].

Встановлення *вмісту екстрактивних речовин* проводили гравіметричним методом за методикою ДФУ 2.1, монографія «Полин гіркий» [15].

Розмір часток подрібненої сировини визначали за методикою ДФУ 2.0, т. 1, загальна стаття «Ситовий аналіз» [17]. Середній розмір часток кожної фракції визначали як половину суми найбільшого та найменшого розмірів часток:

$$d_i = \frac{d_{max} + d_{min}}{2}, \quad (2.24)$$

Середньозважений розмір часток подрібненої рослинної сировини визначали за допомогою ситового аналізу за формулою:

$$d = \frac{a_i \times d_i}{100}, \quad (2.25)$$

де a_i – місткість кожної фракції, %;

d_i – середній розмір часток кожної фракції, мм;

i – кількість фракцій [10, 86].

Питому масу визначали як відношення маси сухої сировини до об'єму рослинної тканини. Методика: близько 5,00 г (точна наважка) сировини поміщали в пікнометр, заливали на дві третини його об'єму воду очищену та витримували на водяній бані протягом 2 год. Пікнометр охолоджували, доводили водою до позначки та зважували. Попередньо визначали масу пікнометра з водою.

Питому масу (d_y , г/см³) розраховували за формулою:

$$d_y = \frac{P \times d_{ж}}{P + G - F}, \quad (2.26)$$

де P – маса абсолютно сухої подрібненої сировини, г;

G – маса пікнометра з водою, г;

F – маса пікнометра з водою і сировиною, г;

$d_{ж}$ – питома маса води, г/см³ ($d_{ж} = 0,9982$ г/см³) [10, 86].

Об'ємну густину визначали як співвідношення не подрібненої сировини до її повного об'єму, враховуючи пори, тріщини та капілярів, які заповнені повітрям. Методика: У мірний циліндр наливали воду очищену. Близько 10 г (точна наважка) не подрібненої сировини швидко занурювали в мірний циліндр з водою очищеною і визначали об'єм. За різницею об'ємів у мірному циліндрі визначали об'єм, який займає сировина.

Об'ємну густину (d_0 , г/см³) розраховували за формулою:

$$d_0 = \frac{P_0}{V_0}, \quad (2.27)$$

де P_0 – вага не подрібненої сировини, г;

V_0 – об'єм, який займає сировина, см³ [10, 86].

Насипну густину визначали як відношення маси подрібненої сировини до зайнятого сировиною повного об'єму, який включає пори частинок і пустоти між ними. Методика: у мірний циліндр завантажували подрібнену сировину, злегка струшуючи її до вирівнювання, і визначали повний об'єм, який вона займає. Потім сировину зважували.

Насипну густину (d_n , г/см³) розраховували за формулою:

$$d_n = \frac{P_n}{V_n}, \quad (2.28)$$

де P_n – маса подрібненої сировини при певній вологості, г;

V_n – об’єм, який займає сировина, см^3 [10, 86].

Пористість визначали як відношення різниці питомої маси та об’ємної густини до питомої маси.

Пористість сировини (Π_c , г/см^3) розраховували за формулою:

$$\Pi_c = \frac{d_y - d_0}{d_y}, \quad (2.29)$$

де d_y – питома маса сировини, г/см^3 ;

d_0 – об’ємна густина сировини, г/см^3 [10, 86].

Нарізність шару визначали як відношення різниці між об’ємною та насипною густиною до об’ємної густини.

Нарізність шару (Π_{cl} , г/см^3) розраховували за формулою:

$$\Pi_{cl} = \frac{d_0 - d_n}{d_0}, \quad (2.30)$$

де d_0 – об’ємна густина сировини, г/см^3 ;

d_n – насипна густина сировини, г/см^3 [10, 86].

Вільний об’єм шару визначали як співвідношення різниці питомої маси та насипної густини до питомої маси.

Вільний об’єм шару (V , г/см^3) розраховували за формулою:

$$V = \frac{d_y - d_n}{d_y}, \quad (2.31)$$

де d_y – питома маса сировини, г/см^3 ;

d_n – насипна густина сировини, г/см^3 [10, 86].

Коефіцієнт поглинання визначали як різницю між об’ємом екстрагенту, яким залили наважку сировини, та об’ємом, що одержали після зливу та віджимання шроту.

Розрахунок коефіцієнту поглинання (K_{Π}) проводили за формулою:

$$K_{\Pi} = \frac{V_{\Pi}}{V_3}, \quad (2.32)$$

де V_{Π} – об’єм заливу, мл;

V_3 – об’єм, що отримали після зливу, мл [10, 86].

Визначення *мікробіологічної чистоти* проводили за методикою ДФУ 2.0, т. 1, загальна стаття «Мікробіологічна чистота нестерильних лікарських засобів: випробування на окремі види мікроорганізмів» [17].

2.5 Методики проведення фармакологічних досліджень

Вивчення гострої токсичності сухих екстрактів проводили на білих не-лінійних мишах-самицях масою 23-26 г. Перед початком експерименту тварин утримували на карантині протягом 7 днів до початку експерименту. Протягом експерименту тварин рандомізували на групи по чотири тварини у клітці. Кожна клітка мала підстилку із деревної стружки (обмінювалася щодня). Тварини мали вільний доступ до стандартного комерційного харчового раціону та води. Тварин утримувались у стабільному режимі: 12 год світла/12 год темряви. Усі дослідження проводились відповідно до вимог GLP, Міністерства охорони здоров'я України та правил European Convention for the Protection of Vertebrate Animals are used with Experimental and other Scientific Purposes" (Strasbourg, 1986) [22, 50].

Сухі екстракти ельшольції вводили внутрішньошлунково. Як розчинник використовували воду очищену. Об'єм введеного речовини не перевищував 0,5 мл. У ході експерименту спостерігали за станом тварин і термінами загибелі. Результати враховували в альтернативній формі (кількість загиблих тварин) через 14 діб після одноразового введення.

Досліджувані екстракти вводили тваринам у дозах 5000, 1000, та 500 мг/кг у вигляді водного розчину. Спостереження проводили протягом першої години після введення, через 2, 4, 6, 8, 24 ч, а також раз у день по 14 день експерименту. Контроль маси тіла проводили через 3, 7 і 14 днів після введення. На 14 день експерименту тварини піддавалися мортифікації, з подальшим візуальним дослідженням стану основних внутрішніх органів: головний мозок, печінка, нирки, шлунок, кишечник, легені, серце, підшлункова залоза. Оцінювалася маса внутрішніх органів [22, 71].

Оцінку проводили згідно з класифікацією токсичності за К. К. Сидоровим [73].

Визначення спектру фармакологічної активності сухих екстрактів проводили *in silico* аналізом за експертною системою PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances).

Дослідження щодо визначення фармакологічних властивостей екстрактів проводились відповідно до вимог GLP, Міністерства охорони здоров'я України та правил European Convention for the Protection of Vertebrate Animals are used with Experimental and other Scientific Purposes" (Strasbourg, 1986) [22].

Вивчення антимікробної активності проводили методом «колодязів» із використанням середовища Мюллера–Хінтона з наступним вимірюванням діаметрів зон затримки росту мікроорганізмів у відповідності до методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» (Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 05.04.2007 р. № 167) [70].

Дослідження проводили у чашках Петрі однакового діаметра, в які поміщали по 15 мл розплавленого живильного агару. Шар агару в чашці Петрі заливали 1–2 мл суспензії випробуваних мікроорганізмів у фізіологічному розчині. Для проведення аналізу використовували еталонні тест-культури: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885–653. Надлишок суспензії повністю видаляли, підсушували поверхню агару протягом 30 хв. Потім свердлом діаметром 6 мм робили 6 «колодязів» на відстані 2,5 см від центру і на однаковій відстані один від одного, які заповнювали екстрактом та розчинником у відповідній концентрації (контроль). Чашки залишали при кімнатній температурі на 30 хв, а потім поміщали їх у термостат за температури 37 °С, не перевертаючи, суворо горизонтально, щоб одержати круглі зони. Під кришки чашки Петрі поміщали стерильний фільтр, щоб уникнути попадання конденсату на лунки. Зони пригнічення вимірювали через 16 год. Оцінку результатів проводили за діаметром зон затримки зростання навколо «колодязя», включаючи діаметр самого «колодязя»:

- відсутність зони затримки росту – випробувана культура не чутлива до даної концентрації досліджуваного екстракту;
- діаметр зони затримки росту 10–15 мм – низька чутливість культури до цієї концентрації досліджуваного екстракту;

- діаметр зони затримки росту 15–25 мм – помірна чутливість культури до цієї концентрації досліджуваного екстракту;
- діаметр зони затримки зростання понад 25 мм – висока чутливість досліджуваної культури до даної концентрації досліджуваного екстракту.

Проводили 3 паралельні дослідження [6, 84].

Визначення МІК (мкг/мл) проводили, використовуючи такі еталонні тест-культури грампозитивних і грамнегативних бактерій, які належать до різних таксономічних груп: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636. Антифунгальну дію речовин досліджено на референтному штамі *Candida albicans* ATCC 885-653. Як об'єкти дослідження були обрані такі клінічні штами: *Escherichia coli* 311, *Staphylococcus aureus* 222, *Pseudomonas aeruginosa* 449, *Candida albicans* 1486, що виділені від хворих на гнійно-запальні процеси. Визначення проводили стандартним методом двократних серійних розведень у поживному бульйоні (макрометод). Тестували в об'ємі 1 мл кожного розведення речовин з кінцевою концентрацією досліджуваного мікроорганізму приблизно 5×10^5 КУО/мл. Після інкубації протягом доби або 48-72 годин для культур *Candida* spp., пробірки з посівами переглядали у промінному світлі для визначення наявності росту мікроорганізму. МІК встановлювали за найменшою концентрацією досліджуваної речовини, яка пригнічувала видимий ріст культури.

Для визначення МБЦК виконували дозовані висіви на тверде поживне середовище (агар Мюллер-Хінтона) культуральної рідини з усіх пробірок, у яких не спостерігали росту мікроорганізму. За МБЦК вважали найнижчу концентрацію, яка викликала загибель не менше 99,9 % бактерій. При постановці дослідів додатково проводили контролю росту культури в середовищі без досліджуваних речовин, у розчиннику; контролю чистоти суспензії мікроорганізму (шляхом висіву на неселективні середовища) та стерильності середовища [6, 84].

Вивчення впливу екстрактів ельшольції на біоплівкові форми бактерій проводили з використанням клінічних штамів, виділених від хворих з гнійно-запальними процесами, а саме *Escherichia coli* 311, *Staphylococcus aureus* 222,

Pseudomonas aeruginosa 449 та *Candida albicans* 1486 з різною чутливістю до антибіотиків.

Антибактеріальну дію екстрактів по відношенню до планктонної форми бактерій та дріжджоподібних грибів визначали методом серійних розведень та оцінювали за показником МІК. Щільність інокуляту був 105 КУО/мл живильного середовища. Експерименти проводили з використанням бульйону Мюллера-Хінтона [61, 131].

Здатність екстрактів впливати на процес формування біоплівки досліджували на 1-добовій культурі бактерій та грибів. Дослідження проводили у полістиролових планшетах для імуноферментного аналізу. Для дослідження впливу рослинних екстрактів на плівкоутворення їх розчини вносили одночасно з суспензією бактерій та грибів. Щільність інокуляту становила 107 КУО/мл живильного середовища. Після додавання екстрактів планшети витримували за температури 37 °C протягом 24 год. Після закінчення терміну інкубації вносили 0,1 % розчин генціанвіолету на 15 хв, потім лунки промивали водою очищеною та здійснювали екстракцію барвника 96 % етанолом. Оптичну густину вимірювали на автоматичному фотометрі мікропланшет ELx×800 (BioТек®, США). Позитивним контролем слугували культури мікроорганізмів, вирощених за тих самих умов, без додавання рослинних екстрактів, а негативним – саме живильне середовище [72].

Вивчення анагетичної активності сухих екстрактів проводили на моделі «оцтових корчів» у мишей. Ефективність досліджуваних екстрактів оцінювали за зменшенням кількості «корчів», викликаних внутрішньочеревною ін'єкцією 0,6 % розчину кислоти оцтової. Розмір експериментальної групи становив 5 тварин. Екстракти вводили одноразово перорально у дозі 100 мг/кг у вигляді водно-етанолової емульсії із застосуванням Twin-80 як емульгатор. Кеторолак (5,5 мг/кг) вводили одноразово перорально у вигляді водно-етанолової емульсії у дозах ЛД₅₀. Контрольна група одержувала розчинник. Кількість «корчів» кожної тварини підраховували протягом 10 хв. Інгібування корчів розраховували за формулою:

$$\text{Інгібування корчів, \%} = \frac{(W_c - W_t) \times 100}{W_c}, \quad (2.33)$$

де W_c – кількість корчів контрольної групи;

W_t – кількість корчів експериментальної групи.

Одержані дані порівнювали з референс-препаратом – кеторолак [22, 120].

Вивчення антиексудативної активності проводили на моделі карагенан-індукованого запалення у мишей. Сухий екстракт вводили перорально за 1 год до субплантарного введення 0,05 мл 1 % карагеніну. Диклофенак натрію (4 мг/кг) вводили одноразово перорально у вигляді водно-етанолової емульсії у дозах LD_{50} . Контрольна група одержувала розчинник. Розмір експериментальної групи становив 5 тварин. Через 3 год після введення досліджуваних екстрактів мишей виводили з експерименту. Задні лапи з набряклими і не набряклими стопами ампутували на рівні тазостегнових суглобів та порівнювали їх масу. Пригнічення набряку розраховували за формулою:

$$\text{Інгібування набряку, \%} = (M_{se} - M_{he}) / (M_{sc} - M_{hc}) \times 100 \% - 100 \%, \quad (2.34)$$

де M_{se} – маса набряклої стопи в експерименті;

M_{he} – маса здорової стопи в експерименті;

M_{sc} – маса набряклої стопи в контролі;

M_{hc} – маса здорової стопи в контролі.

Одержані дані щодо антиексудативної активності порівнювали з референс-препаратом – диклофенаком натрію [22].

Вивчення анксіолітичної активності сухих екстрактів вивчали на моделі «відкрите поле». Для проведення дослідження тварини розподіляли на групи по 5 тварин у кожній. Тваринам контрольної групи вводили розчинник. Через 60 хвилин після введення досліджуваних екстрактів, тварин поміщали в камеру «відкритого поля» та фіксувалися кількість пересічених квадратів (горизонтальна активність), вертикальних стійок (вертикальна активність), заглядань у норки (дослідницька активність), а також емоційну реактивність – грумінг і кількість фекальних кульок. Спостереження проводили протягом 3 хв. За активність приймали значення, що достовірно відрізнялися від контролю. Тваринам водні розчини екстрактів вводилися протягом 5 днів та вивчали їх активність на 5 день експерименту [106, 129].

Вивчення антирадикальної (антиоксидантної) активності сухих екстра-

ктів вивчали спектрофотометричним методом за методикою, суть якої полягає у визначенні реакційної здатності субстрату стосовно стабільного радикалу ДФПГ. Для визначення антиоксидантної активності до 4,0 мл свіжоприготовленого розчину ДФПГ (40 мкг/мл, $C_m = 1,014 \times 10^{-4}$ моль/л), CAS Number 1098-66-4, Sigma-Aldrich (США), додавали 25 мкл розчину досліджуваного екстракту. Проводили вимірювання оптичної густини при 515 нм на спектрофотометрі Shimadzu UV-1800 у кварцевих кюветах із довжиною оптичного шляху 1 см, при контрольованій температурі інкубації 25 °С. Величини оптичної густини етанольних розчинів ДФПГ до (D_{516}^0) та після інкубації з етанольними розчинами досліджуваних екстрактів (D_{516}^t), а також значення співвідношення АРА (%) = $100 - ((\Delta D_{515}^t / D_{515}^0) \times 100)$ характеризували антирадикальні властивості, тобто здатність цих екстрактів зв'язувати вільні радикали. Як препарат порівняння використовували 40 % настойку листя горіха волоського [22].

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою комп'ютерної програми Statistica 6.0. Для оцінки достовірності відмінностей використовували критерій Даннета.

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ СКЛАДУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН СИРОВИНИ ЕЛЬШОЛЬЦІЇ ВІЙЧАСТОЇ ТА ЕЛЬШОЛЬЦІЇ СТАУНТОНА

Усі методики, що були використані при проведенні досліджень, наведені у відповідних підрозділах розділу 2.

3.1 Дослідження нітрогеновмісних сполук

Перспективними для створення лікарських препаратів є амінокислоти, що виконують в організмі важливу пластичну та регуляторну функцію. Вони є елементарними одиницями білків, ферментів та інших біологічно активних комплексів. Амінокислоти та їх похідні, як препарати метаболічної фармакотерапії, характеризуються нешкідливістю, низьким проявом побічних ефектів, відсутністю алергічного впливу [1]. Тому доцільним було проведення вивчення амінокислот у сировині ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона.

Наявність вільних амінокислот встановлювали за позитивним результатом реакції з 0,2 % розчином нінгідрину [44, 134].

Результати визначення вмісту вільних амінокислот у траві ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона наведені у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Вміст вільних амінокислот у траві ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона

Досліджувана сировина	Вміст амінокислот, %
Трава ельшольції війчастої	0,54±0,02
Трава ельшольції Стаунтона	0,59±0,03

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

Як видно з результатів спектрофотометричного визначення, наведених у табл. 3.1, у траві ельшольції війчастої та траві ельшольції Стаунтона вміст амінокислот значно не відрізняється. У траві ельшольції Стаунтона він був трохи вищий і становив $0,59 \pm 0,03$ %. Вміст амінокислот у траві ельшольції війчастої був $0,54 \pm 0,02$ %.

Дослідження амінокислотного складу проводили на амінокислотному аналізаторі за методикою, наведеною у розділі 2, п. 2.3 [38, 44, 134]. Результати вивчення наведені у таблиці 3.2.

У результаті проведеного аналізу у сировині ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона було ідентифіковано 19 амінокислот, 9 з яких є незамінними. Як видно з результатів, наведених у табл. 3.2, у найбільшій кількості у листі ельшольції війчастої визначено глютамінову кислоту ($14,85 \pm 0,30$ %), лейцин ($9,7 \pm 0,19$ %) і аспарагінову кислоту ($8,48 \pm 0,17$ %), у суцвіттях – глютамінову кислоту ($15,92 \pm 0,32$ %), лейцин ($10,37 \pm 0,21$ %), метіонін ($10,21 \pm 0,20$ %), аргінін ($9,17 \pm 0,18$ %) і аспарагінову кислоту ($8,16 \pm 0,16$ %), у траві – глютамінову кислоту ($12,94 \pm 0,26$ %), пролін ($11,00 \pm 0,22$ %), аланін ($10,93 \pm 0,22$ %) і аспарагінову кислоту ($9,70 \pm 0,19$ %). За вмістом незамінних амінокислот домінували суцвіття ельшольції війчастої – $39,00 \pm 0,78$ %. За зменшенням вмісту амінокислоти можна розташувати у наступній послідовності:

- листя – глютамінова кислота > лейцин > аспарагінова кислота > аланін > лізин > гліцин > серин > фенілаланін > аргінін > треонін > пролін > валін > тиросин > ізолейцин > гістидин > метіонін > ГАМК > цистин;

- суцвіття – глютамінова кислота > лейцин > метіонін > аргінін > аспарагінова кислота > валін > аланін > лізин > серин > пролін > гліцин > фенілаланін > треонін > тиросин > ізолейцин > гістидин > цистин > ГАМК > О-пролін;

- трава – глютамінова кислота > пролін > аланін > аспарагінова кислота > лейцин > лізин > аргінін > гліцин > валін > треонін > фенілаланін > серин > ізолейцин > цистин > тиросин > гістидин > метіонін [38].

**Амінокислотний склад сировини ельшольції війчастої та
ельшольції Стаунтона**

Амінокислота	Вміст амінокислот, у перерахунку на абсолютно суху сировину, %					
	ельшольція війчаста			ельшольція Стаунтона		
	листя	суцвіття	трава	листя	суцвіття	трава
1	2	3	4	5	6	7
Моноаміномонокарбонові кислоти						
Лейцин*	9,75±0,19	10,37±0,21	7,78±0,16	10,71±0,21	10,18±0,20	10,23±0,21
Метіонін*	1,95±0,04	10,21±0,20	1,34±0,03	8,60±0,17	9,56±0,19	7,81±0,16
Валін*	4,83±0,10	5,50±0,11	4,67±0,09	6,01±0,12	5,83±0,12	5,42±0,11
Аланін	7,70±0,15	5,40±0,11	10,93±0,22	5,45±0,11	5,64±0,11	5,32±0,11
Гліцин	6,20±0,12	4,32±0,09	5,01±0,10	4,34±0,09	3,58±0,07	4,00±0,08
Серин	6,06±0,12	5,11±0,10	4,27±0,09	4,11±0,08	4,48±0,09	3,84±0,08
Треонін*	5,49±0,11	3,62±0,07	4,49±0,09	3,75±0,08	3,38±0,07	3,42±0,07
Ізолейцин	3,37±0,07	2,65±0,05	4,03±0,08	2,41±0,05	2,60±0,05	2,41±0,05
Цистин	0,76±0,02	0,63±0,01	2,88±0,06	0,82±0,02	0,38±0,01	0,71±0,01
Моноамінодикарбонові кислоти						
Глутамінова кислота	14,85±0,30	15,92±0,32	12,94±0,26	12,58±0,25	13,94±0,28	11,50±0,23
Аспарагінова кислота	8,48±0,17	8,16±0,16	9,70±0,19	8,32±0,17	7,01±0,14	8,01±0,16
ГАМК	0,83±0,01	0,62±0,01	0,57±0,01	0,54±0,01	0,96±0,02	0,87±0,02
Діамінокарбонові кислоти						
Аргінін**	5,89±0,12	9,17±0,18	5,84±0,12	6,41±0,13	7,37±0,15	6,64±0,13
Лізін*	6,29±0,13	5,25±0,11	6,08±0,12	5,34±0,11	6,30±0,13	5,59±0,11
Ароматичні кислоти						
Фенілаланін*	5,89±0,12	4,11±0,08	4,40±0,09	3,59±0,07	3,47±0,07	3,42±0,07
Тирозин	3,98±0,08	3,14±0,06	2,62±0,05	3,03±0,06	3,19±0,06	2,88±0,06

1	2	3	4	5	6	7
Гетероциклічні кислоти						
Пролін	5,45±0,11	4,32±0,09	11,00±0,22	12,40±0,25	7,55±0,15	15,74±0,32
Гістидин**	2,25±0,05	1,46±0,03	2,02±0,04	1,44±0,03	1,78±0,04	1,37±0,03
О-Пролін	–	0,08±0,012	–	0,13±0,001	2,77±0,06	0,81±0,01
Сума незамінних амінокислот	34,19±0,68	39,00±0,78	28,75±0,58	38,00±0,76	35,26±0,71	35,89±0,72

Примітки:

1. * – незамінні амінокислоти,
2. ** – умовно незамінні амінокислоти,
3. «–» – сполука не знайдена.

Встановлено, що глютамінова кислота та лейцин містилися у великих кількостях у листі, суцвіттях і траві ельшольції Стаунтона – 12,58±0,25 % і 13,94±0,28 %, 11,50±0,23 % і 10,71±0,21 %, 10,18±0,20 %, 10,23±0,21 % відповідно. Крім того, у листі та траві у значних кількостях визначено пролін – 12,40±0,25 % і 15,74±0,32 % відповідно. За вмістом незамінних амінокислот домінували листя ельшольції Стаунтона – 38,00±0,76 %. Вміст незамінних амінокислот у траві та листі був майже однаковий і склав 35,26±0,71 % і 35,89±0,72 % відповідно [38].

Виходячи з результатів, наведених у табл. 3.2, амінокислоти у сировині ельшольції Стаунтона можна розташувати у такій послідовності за зменшенням їх вмісту:

- листя – глютамінова кислота > пролін > лейцин > метіонін > аспарагінова кислота > аргінін > валін > аланін > лізин > гліцин > серин > треонін > фенілаланін > тиросин > ізолейцин > гістидин > цистин > ГАМК > О-пролін;

- суцвіття – глютамінова кислота > лейцин > метіонін > пролін > аргінін > аспарагінова кислота > лізин > валін > аланін > серин > гліцин > фенілаланін > треонін > тиросин > О-пролін > ізолейцин > гістидин > ГАМК > цистин;

- трава – пролін > глютамінова кислота > лейцин > аспарагінова кислота > метіонін > аргінін > лізин > валін > аланін > гліцин > серин > фенілаланін > треонін > тиросин > ізолейцин > гістидин > ГАМК > О-пролін > цистин.

Порівнюючи амінокислотний склад сировини ельшольції в'їчної та ельшольції Стаунтона, можна зробити висновок про його ідентичність [38].

Результати кількісного визначення вмісту протеїну, встановленого за методом К'ельдаля [56], наведено у таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

Кількісний вміст протеїну у сировині ельшольції в'їчної та ельшольції Стаунтона

№ з/п	Вид ельшольції	Вміст білку, %
1	Трава ельшольція в'їчна	9,87±0,66
2	Трава ельшольція Стаунтона	13,11±0,87

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

Результати проведеного визначення показали, що вміст протеїну (табл. 3.3) був вищий у траві ельшольції Стаунтона і склав 13,11±0,87 %. У траві ельшольції в'їчної вміст білку був нижчий і становив 9,87±0,66 %.

3.2 Дослідження вуглеводів

Полісахариди рослин мають широкий спектр біологічної активності: вони підвищують неспецифічну резистентність організму, стимулюють фізичну працездатність, обмін речовин, активують процеси імуні- та гемопоезу, мають виражену протирадіаційну, протизапальну, відхаркувальну, муколітичну, антіа-

немічну, антиоксидантну та репаративну дії [48]. Тому нами було проведено дослідження полісахаридів сировини ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона.

Утворення аморфного осаду з трикратною кількістю 96 % етанолу [42, 43, 69] свідчило про наявність полісахаридів у досліджуваних видах сировини.

Результати кількісного визначення полісахаридів у сировині ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона наведені у таблиці 3.4 і на рис. 3.1.

Таблиця 3.4

**Вміст полісахаридів у сировині ельшольції війчастої
та ельшольції Стаунтона**

Досліджуваний вид	Вміст полісахаридів у сировині, %			
	листя	суцвіття	трава	стебла
Ельшольція війчаста	13,29±0,90	5,59±0,38	8,54±0,58	1,65±0,11
Ельшольція Стаунтона	9,10±0,64	9,82±0,69	10,88±0,76	3,65±0,26

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

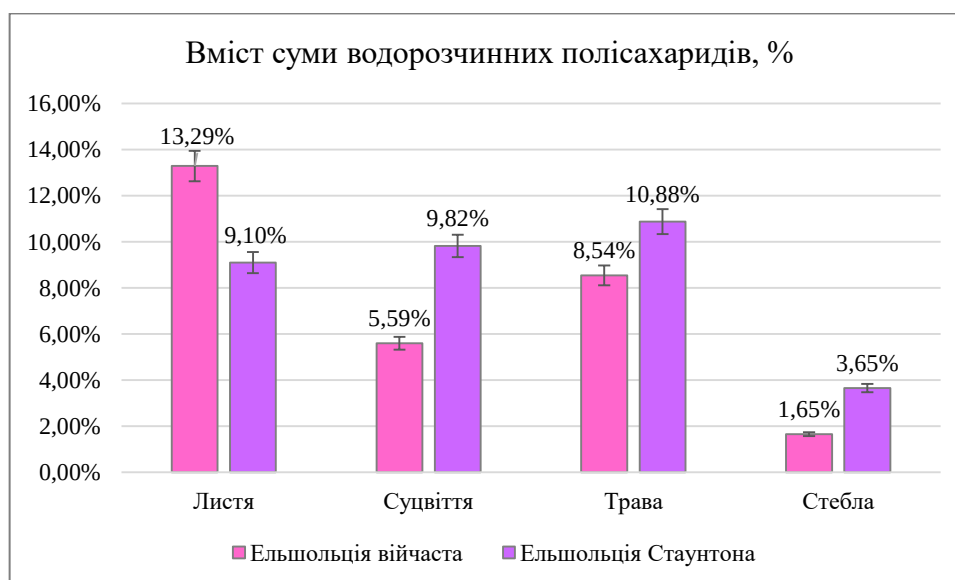


Рис. 3.1 Кількісний вміст полісахаридів у сировині досліджуваних видів ельшольції.

Результати гравіметричного визначення суми водорозчинних полісахаридів (табл. 3.4, рис. 3.1) показали, що вміст даної групи сполук у досліджуваних видах сировини різний і лежить в межах від 1,65 % до 13,29 %. Так, для ельшольції війчастої найбільший вміст полісахаридів спостерігався у листі – $13,29 \pm 0,90$ %, для ельшольції Стаунтона у траві – $10,88 \pm 0,76$ %. Для обох видів ельшольції, що вивчалися, у стеблах було визначено найнижчий вміст цього класу речовин – $1,65 \pm 0,11$ % в ельшольції війчастої та $3,65 \pm 0,26$ % в ельшольції Стаунтона [33].

Фракціонування полісахаридів проводили послідовною екстракцією сировини водою очищеною (ВРПС), сумішшю 0,5 % розчинів кислоти щавлевої та амонію оксалату (ПР), 7 % розчином натрію гідроксиду (ГЦ А і Б) у співвідношенні сировини-екстрагент 1:10 [42, 43]. Результати визначення вмісту полісахаридних фракцій наведені у таблиці 3.5 і на рис. 3.2.

Таблиця 3.5

Кількісний вміст полісахаридних фракцій у траві ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона

Вид ельшольції	Вміст полісахаридної фракції, %			
	ВРПС	ПР	ГЦ А	ГЦ Б
Ельшольція війчаста	$6,70 \pm 0,45$	$2,93 \pm 0,20$	$4,25 \pm 0,28$	$2,46 \pm 0,16$
Ельшольція Стаунтона	$7,78 \pm 0,52$	$3,26 \pm 0,22$	$5,38 \pm 0,36$	$3,49 \pm 0,23$

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

Як свідчать результати проведеного дослідження, як у траві ельшольції війчасто, так й у траві ельшольції Стаунтона домінуючою була фракція ВРПС – $6,70 \pm 0,45$ % і $7,78 \pm 0,52$ % відповідно. Вміст ГЦ А був вищий порівняно з ГЦ Б – $4,25 \pm 0,28$ % і $2,46 \pm 0,16$ % у траві ельшольції війчастої, $5,38 \pm 0,36$ % і $3,49 \pm 0,23$ % у траві ельшольції Стаунтона. Слід зазначити, що ельшольція Стаунтона мала вищий вміст полісахаридних фракцій у порівнянні з ельшольцією війчастою [33].

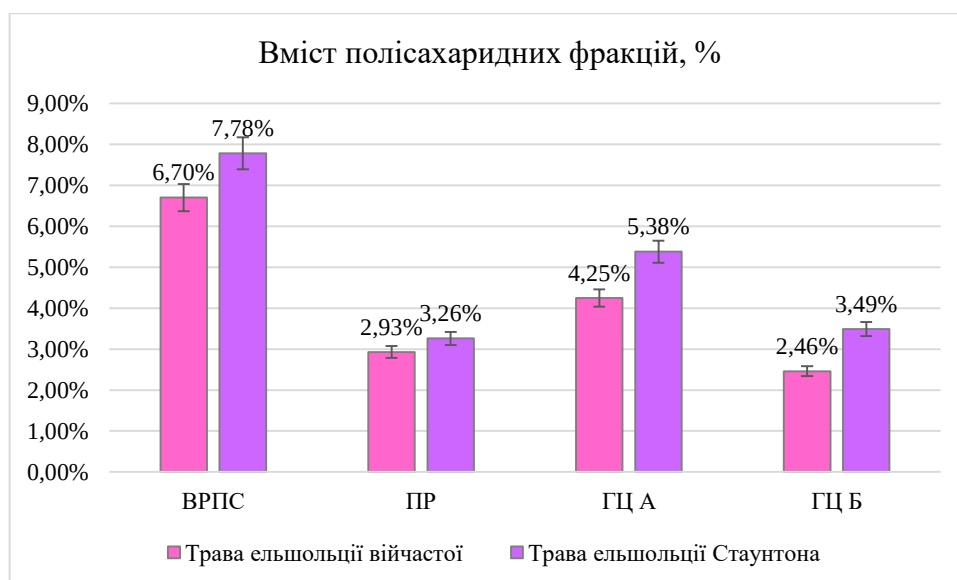


Рис. 3.2 Результати фракціонування полісахаридів трави ельшольції, досліджуваних видів.

Моносахаридний склад полісахаридів трави альшольції в'їчастої та ельшольції Стаунтона вивчали методами низхідної ПХ після попереднього гідролізу. Хроматографування проводили у рухомій фазі № 9. Виявлення моносахаридів здійснювали реактивом А з наступним висушуванням хроматограми при температурі 100-105 °С. Паралельно досліджували вільні моносахариди [43].

У результаті дослідження у вільному стані у траві ельшольції в'їчастої та ельшольції Стаунтона ідентифіковано глюкозу, а у гідролізаті – глюкозу, галактозу, ксилозу та фруктозу [33].

Також досліджено склад моносахаридів полісахаридних фракцій, виділених з трави ельшольції в'їчастої та ельшольції Стаунтона [42, 43]. Результати дослідження наведено у таблиці 3.6.

Як видно з результатів, наведених у табл. 3.6, у гідролізаті фракції ВРПС трави ельшольції в'їчастої ідентифіковані маноза, глюкоза, ксилоза і фруктоза, фракції ПР – рамноза, маноза, глюкоза і ксилоза, фракції ГЦ А – арабіноза, галактоза, рамноза, глюкоза, ксилоза і фруктоза, фракції ГЦ Б – арабіноза, галактоза, рамноза, глюкоза і ксилоза [33].

**Моносахаридний склад фракцій полісахаридів трави ельшольції війчастої
та трави ельшольції Стаунтона**

Сировина	Фракція	Цукри						
		арабіноза	галактоза	рамноза	маноза	глюкоза	ксилоза	фруктоза
Трава ельшольції війчастої	ВРПС	—	—	—	+	+	+	+
	ПР	—	—	+	+	+	+	—
	ГЦ А	+	+	+	—	+	+	+
	ГЦ Б	+	+	+	—	+	+	—
Трава ельшольції Стаунтона	ВРПС	+	—	+	+	—	—	—
	ПР	—	—	+	+	+	+	+
	ГЦ А	+	—	+	—	—	+	—
	ГЦ Б	+	—	+	—	—	+	+

Примітки:

1. «+» – цукор ідентифіковано;
2. «—» – цукор не знайдено.

Фракції полісахаридів трави ельшольції Стаунтона відрізнялися за складом цукрів. Так, у гідролізаті фракції ВРПС виявлені арабіноза, рамноза і маноза, фракції ПР – рамноза, маноза, глюкоза, ксилоза і фруктоза, фракції ГЦ А – арабіноза, рамноза і ксилоза, фракції ГЦ Б – арабіноза, рамноза, ксилоза і фруктоза [33].

Моносахаридний склад вивчали методом ГХ/МС. Результати дослідження вільних і загальних моносахаридів у сировині ельшольції війчастої наведені на рис. 3.3-3.8 і у таблиці 3.7.

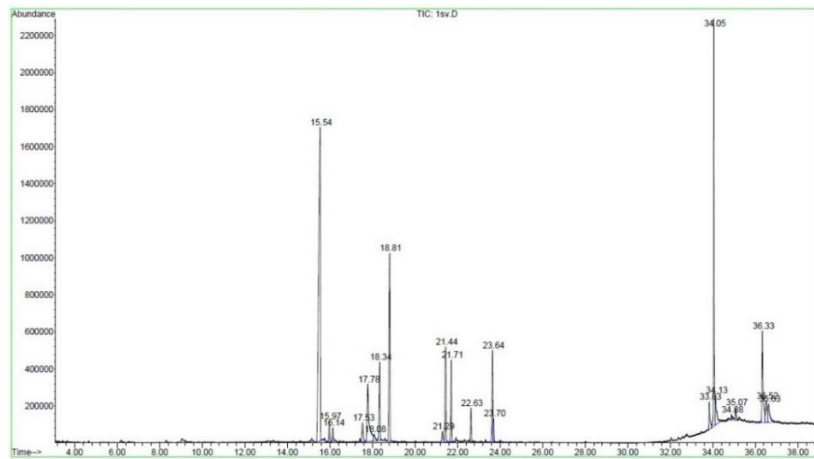


Рис. 3.3 ГХ/МС-хроматограма вільних моносахаридів листя ельшольції війчастої.

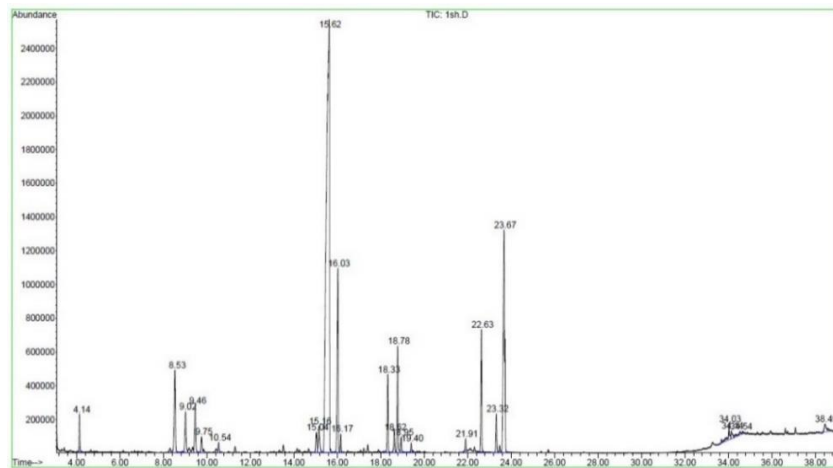


Рис. 3.4 ГХ/МС-хроматограма зв'язаних моносахаридів листя ельшольції війчастої.

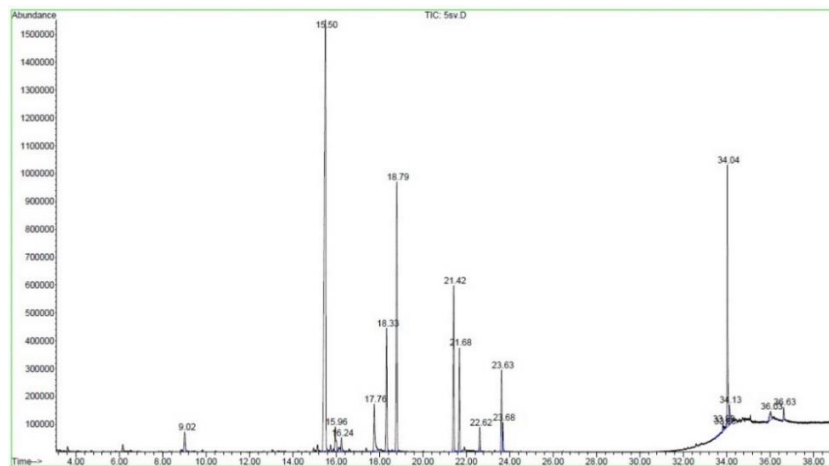


Рис. 3.5 ГХ/МС-хроматограма вільних моносахаридів суцвіть ельшольції війчастої.

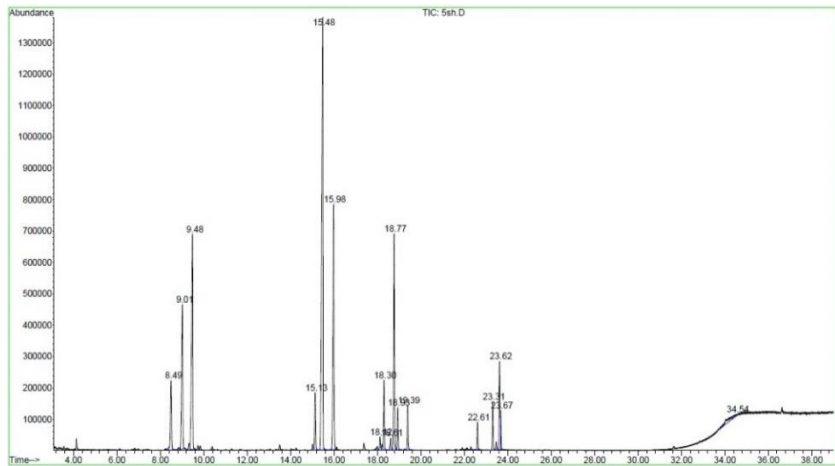


Рис. 3.6 ГХ/МС-хроматограма зв'язаних моносахаридів суцвіть ельшольції війчастої.

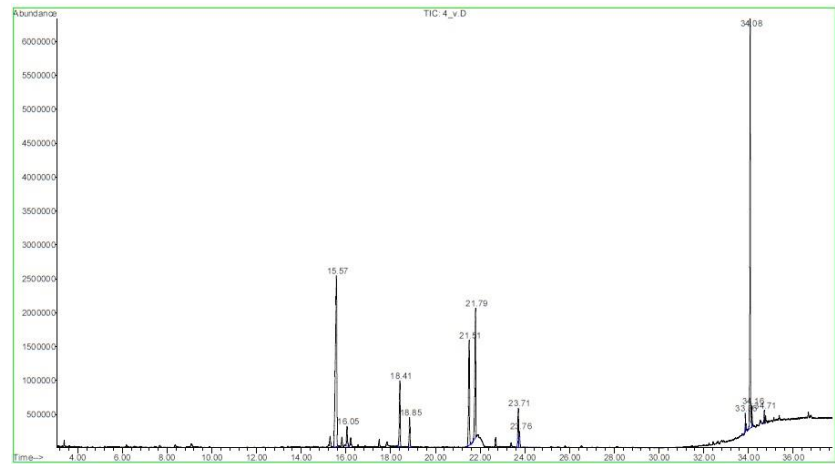


Рис. 3.7 ГХ/МС-хроматограма вільних моносахаридів трави ельшольції війчастої.

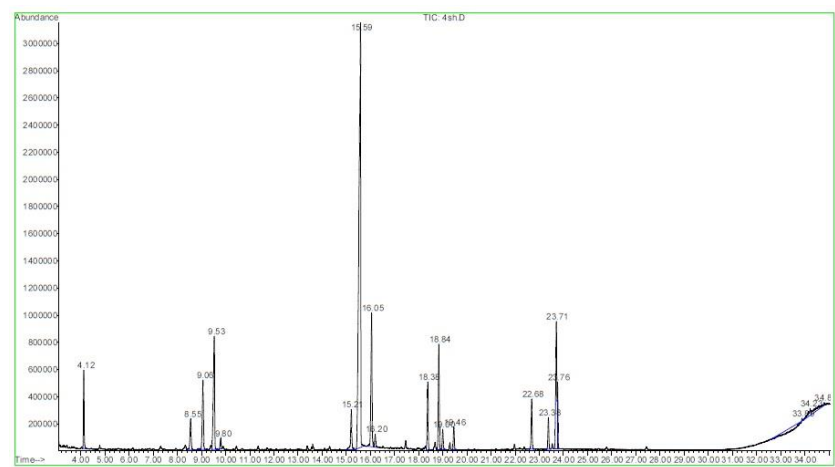


Рис. 3.8 ГХ/МС-хроматограма зв'язаних моносахаридів трави ельшольції війчастої.

Моносахаридний склад сировини ельшольції в'їчної

Назва сполуки	Вміст цукрів, мг/г					
	листя		суцвіття		трава	
	вільні	зв'язані	вільні	зв'язані	вільні	зв'язані
Рамноза	-	3,00±0,06	-	3,69±0,07	-	1,38±0,03
Арабіноза	-	2,00±0,04	0,42±0,01	7,63±0,15	-	1,55±0,03
Фукоза	-	-	-	-	-	3,39±0,07
Ксилоза	-	2,11±0,04	-	12,51±0,25	-	0,43±0,01
Моноза	-	1,45±0,03	-	2,47±0,05	-	1,99±0,04
Глюкоза	18,52±0,37	52,68±1,05	11,66±0,23	25,60±0,51	13,38±0,27	30,99±0,62
Галактоза	0,60±0,01	7,06±0,14	0,55±0,01	11,49±0,23	-	0,48±0,01
Фруктоза 1	-	1,17±0,02	-	1,97±0,04	-	1,15±0,02
Фруктоза 2	-	0,79±0,02	-	2,17±0,04	1,91±0,04	5,28±0,11
Сахароза	8,32±0,17	0,46±0,01	2,88±0,06	-	13,76±0,28	-

Примітка. «-» – цукор не знайдено.

Результати вивчення моносахаридного складу показали, що за якісним складом моноцукрів сировина ельшольції в'їчної дещо відрізнялися. Так, у вільному стані у листі та траві ельшольції в'їчної ідентифіковано по 3 моносахариди, у суцвіттях – 4. У листі ідентифіковані глюкоза, галактоза та сахароза, у суцвіттях – арабіноза, глюкоза, галактоза та сахароза, у траві – глюкоза, фруктоза 2 та сахароза. Що стосується зв'язаних цукрів, у листі та траві ідентифіковано по 9, у суцвіттях – 8 речовин. В усіх об'єктах було виявлено рамнозу, арабінозу, ксилозу, манозу, глюкозу, галактозу, фруктозу 1 і 2. Крім того, у траві встановлено наявність фукози, яка відсутня у листі та суцвіттях, а у листі ідентифіковано сахарозу, які відсутня у суцвіттях і траві. За кількісним вмістом в усіх досліджуваних зразках сировини переважала глюкоза як у вільному, так і у зв'язаному [33].

Результати дослідження вільних і зв'язаних моносахаридів сировини ельшольції Стаунтона наведені на рис. 3.9-3.14 і у таблиці 3.8.

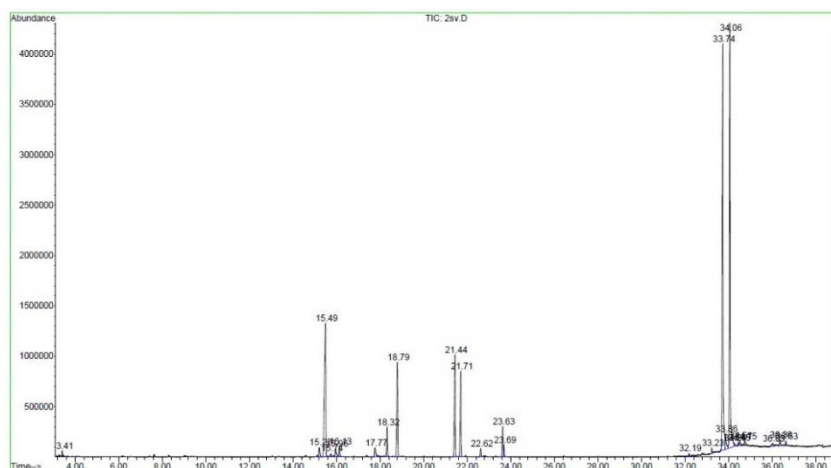


Рис. 3.9 ГХ/МС-хроматограма вільних моносахаридів листя ельшольції Стаунтона.

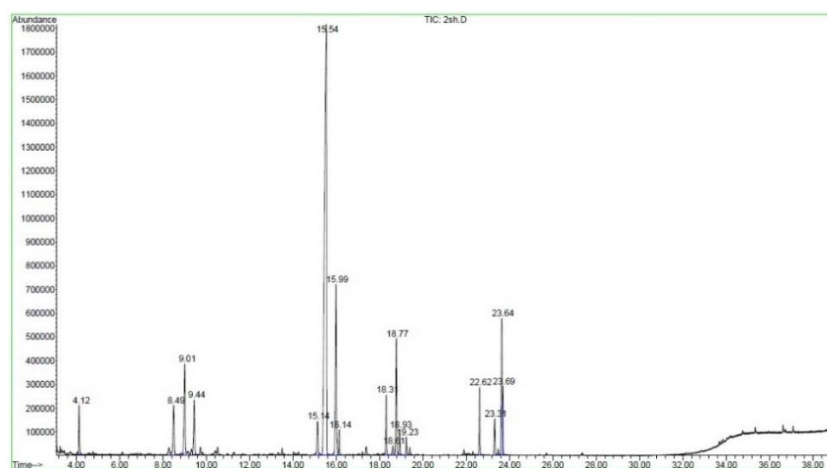


Рис. 3.10 ГХ/МС-хроматограма зв'язаних моносахаридів листя ельшольції Стаунтона.

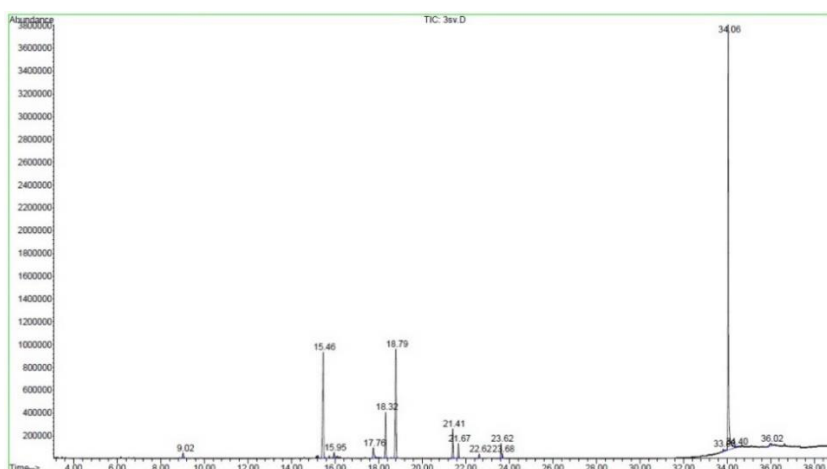


Рис. 3.11 ГХ/МС-хроматограма вільних моносахаридів суцвіть ельшольції Стаунтона.

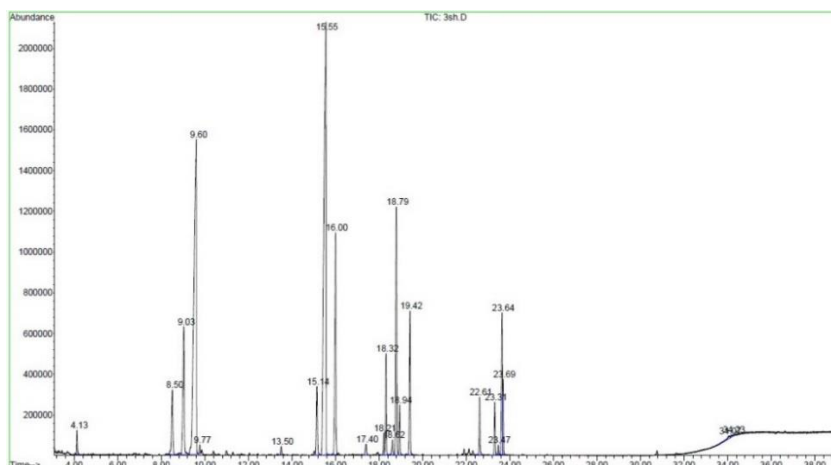


Рис. 3.12 ГХ/МС-хроматограма зв'язаних моносахаридів суцвіть ельшольції Стаунтона.

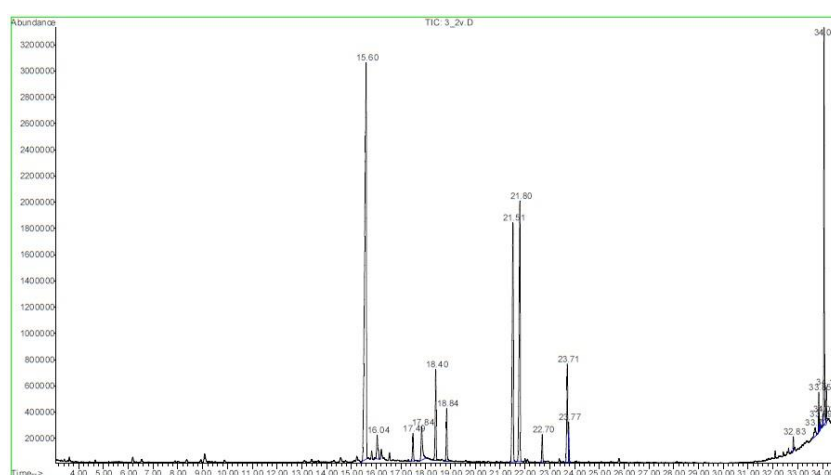


Рис. 3.13 ГХ/МС-хроматограма вільних моносахаридів трави ельшольції Стаунтона.

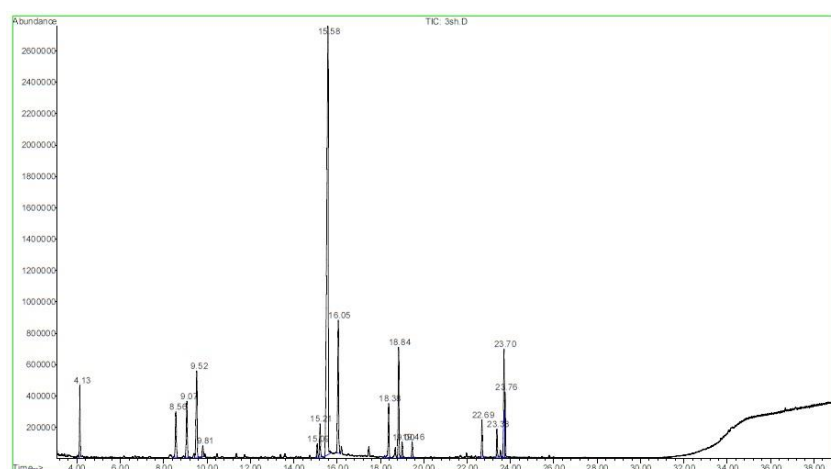


Рис. 3.14 ГХ/МС-хроматограма зв'язаних моносахаридів трави ельшольції Стаунтона.

Моносахаридний склад сировини ельшольції Стаунтона

Назва сполуки	Вміст цукрів, мг/г					
	листя		суцвіття		трава	
	вільні	зв'язані	вільні	зв'язані	вільні	зв'язані
Рамноза	-	3,05±0,06	-	1,88±0,04	-	1,87±0,04
Арабіноза	-	5,44±0,11	0,36±0,01	4,13±0,08	-	2,37±0,05
Фукоза	-	-	-	-	-	2,91±0,06
Ксилоза	-	3,12±0,06	-	16,75±0,34	-	0,50±0,01
Маноза	-	2,20±0,04	-	1,65±0,03	-	1,56±0,03
Глюкоза	5,45±0,11	44,91±0,90	6,57±0,13	20,57±0,41	19,80±0,40	32,12±0,64
Галактоза	0,27±0,01	9,70±0,19	0,35±0,01	5,40±0,11	0,88±0,02	6,09±0,12
Фруктоза 1	-	1,51±0,03	-	1,19±0,02	-	1,13±0,02
Фруктоза 2	-	1,00±0,02	-	3,52±0,07	2,78±0,06	4,84±0,10
Сахароза	10,41±0,21	-	18,51±0,37	-	6,41±0,13	-

Примітка. «-» – цукор не знайдено.

Як свідчили результати проведеного аналізу, листя та суцвіття ельшольції Стаунтона мали ідентичний склад як вільних, так і зв'язаних моносахаридів. У вільному стані в усіх досліджуваних видах сировини виявлені глюкоза, галактоза та сахароза, у траві, крім того, фруктоза 2. У зв'язаному стані у листі, суцвіттях і траві ідентифіковано рамнозу, арабінозу, ксилозу, манозу, глюкозу, галактозу, фруктозу 1 і 2, а у траві ще й фукозу. За кількісним вмістом в усіх зразках сировини домінувала глюкоза. У листі та суцвіттях у значній кількості визначено сахарозу – 10,41±0,21 мг/г і 18,51±0,37 мг/г відповідно [33].

Результати гравіметричного визначення вмісту клітковини [56] у сировині ельшольції в'їчастої та ельшольції Стаунтона наведені у таблиці 3.9.

**Кількісний вміст клітковини у сировині ельшольції війчастої
та ельшольції Стаунтона**

№ з/п	Сировина	Вміст клітковини, %
1	Трава ельшольція війчаста	17,13±1,09
2	Трава ельшольція Стаунтона	21,78±1,34

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

Результати кількісного визначення, наведені у табл. 3.9, показали, що за вмістом клітковини домінує трава ельшольції Стаунтона – 21,78±1,34 %. Її вміст у траві ельшольції війчастої був нижчий і становив 17,13±1,09 %.

3.3 Дослідження органічних кислот

Органічні кислоти мають значне поширення в рослинах. Вони беруть участь у важливих біохімічних процесах як у рослинах, так і в організмі людини. Так, органічні кислоти беруть участь в обміні речовин, активізують діяльність слинних залоз, виділення жовчі, панкреатичного соку, сприяють зменшенню процесів нітרוзування, зниженню хімічного канцерогенезу. Для них притаманні антиоксидантні, антиалергійні, бактерицидні та протизапальні властивості [49].

Виявлення органічних кислот проводили методом ПХ і ТШХ. Хроматографування здійснювали у рухомих фазах № 2 і № 6 паралельно зі СЗ. Виявлення органічних кислот проводили реактивом В. Органічні кислоти виявлялися у вигляді жовтих зон (аскорбінова кислота – білої зони) на синьому фоні [49, 69]. У результаті хроматографічного аналізу в усіх досліджуваних зразках сировини ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона були ідентифіковані яблучна, лимонна, аскорбінова та щавлева кислоти.

Результати кількісного визначення суми вільних органічних кислот [15], визначений титриметричним методом, наведені у таблиці 3.10.

Таблиця 3.10

**Вміст суми органічних кислот у сировині ельшольції в'їчної
та ельшольції Стаунтона**

№ з/п	Сировина	Вміст органічних кислот, %
1	Трава ельшольції в'їчної	4,43±0,34
2	Трава ельшольції Стаунтона	7,32±0,56

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

За результатами визначення встановлено, що у траві ельшольції Стаунтона вміст органічних кислот в 1,6 рази вищий, ніж у траві ельшольції в'їчної, та становив $7,32 \pm 0,56$ %. Вміст органічних кислот у траві ельшольції в'їчної склав $4,43 \pm 0,34$ % [30].

Визначення органічних кислот проводили методом ГХ/МС [88]. Результати визначення у сировині ельшольції в'їчної та ельшольції Стаунтона наведені на рис. 3.15-3.20 та у таблиці 3.11.

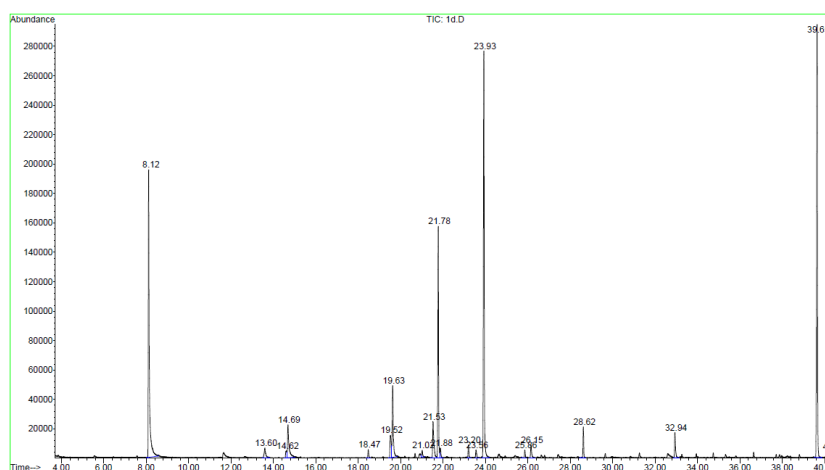


Рис. 3.15 ГХ/МС-хроматограма органічних кислот листя ельшольції в'їчної.

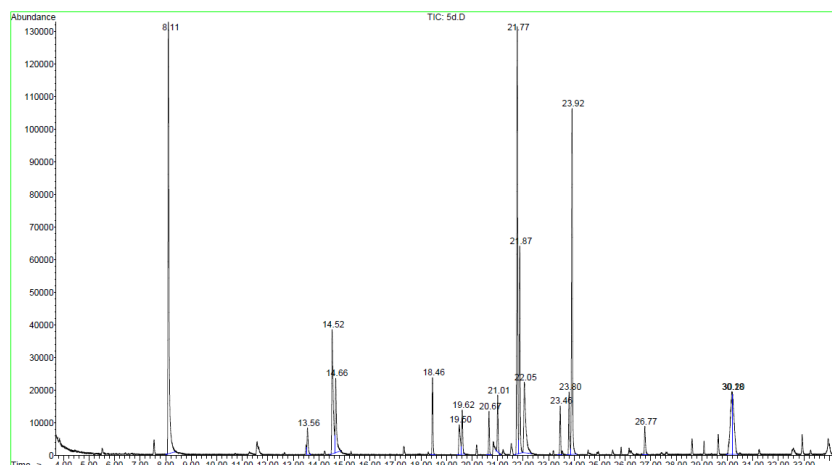


Рис. 3.16 ГХ/МС-хроматограма органічних кислот суцвіть ельшольції війчастої.

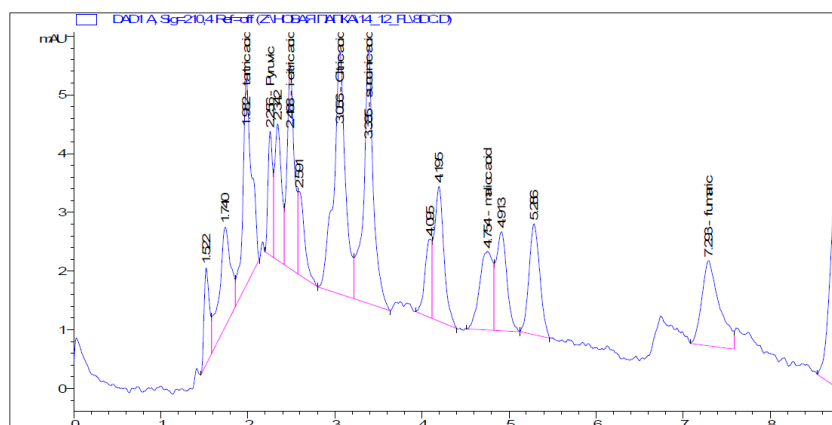


Рис. 3.17 ГХ/МС-хроматограма органічних кислот трави ельшольції війчастої.

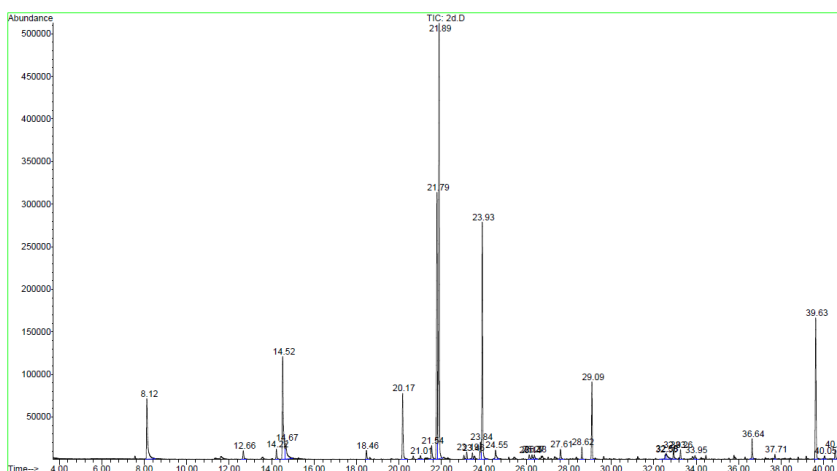


Рис. 3.18 ГХ/МС-хроматограма органічних кислот листя ельшольції Стаунтона.

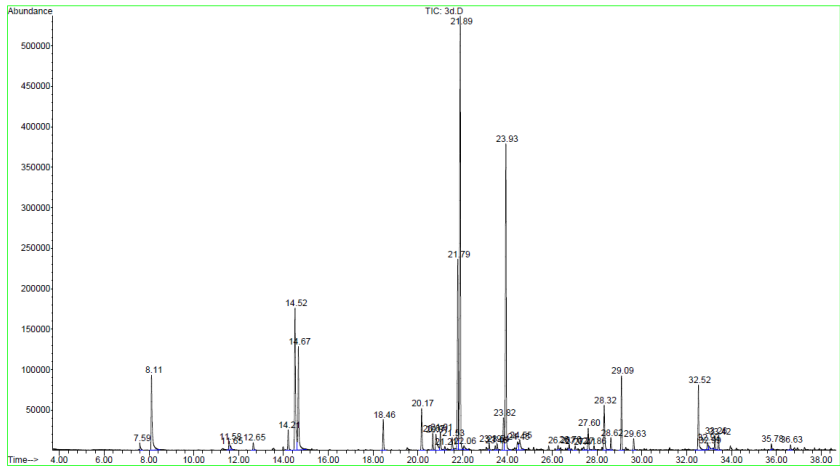


Рис. 3.19 ГХ/МС-хроматограма органічних кислот суцвіть ельшольції Стаунтона.

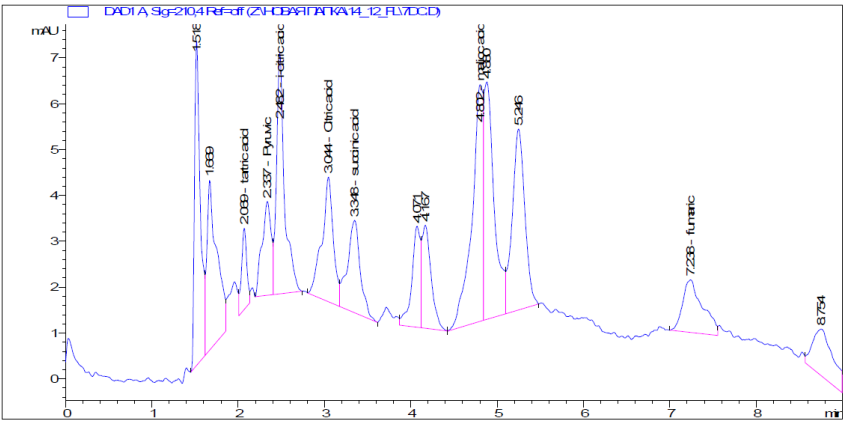


Рис. 3.20 ГХ/МС-хроматограма органічних кислот трави ельшольції Стаунтона.

Таблиця 3.11

Органічні кислоти сировини ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона

Органічна кислота	Вміст органічної кислоти, мкг/г					
	ельшольція війчаста			ельшольція Стаунтона		
	листя	суцвіття	трава	листя	суцвіття	трава
1	2	3	4	5	6	7
Пропандіонова кислота	84,15±1,68	52,07±1,04	—	31,74±0,64	31,33±0,63	—

1	2	3	4	5	6	7
(Е)-2-бутен-діонова кислота	—	—	—	—	1,37±0,03	—
Метилбутадіонова кислота	—	—	—	3,85±0,08	2,57±0,05	—
<i>цис</i> -2-метил-2-бутендіонова кислота	4,54±0,09	—	—	—	—	—
2-Гідрокси-2-метилбутандіонова кислота	—	—	—	3,85±0,08	7,27±0,15	—
Яблучна кислота	2,78±0,06	23,96±0,48	50,00±1,05	65,36±1,31	67,73±1,36	20,00±0,40
Янтарна кислота	14,47±0,29	4,53±0,09	79,00±1,58	7,81±0,16	4,83±0,10	74,00±1,48
Метоксибутандіонова кислота	54,13±1,08	46,16±0,92	—	104,38±2,0 9	62,66±1,25	—
<i>ізо</i> -Лимонна кислота	3,32±0,07	—	3,60±0,07	2,92±0,06	2,00±0,04	1,72±0,03
Проп-1-ен-1,2,3-трикарбонова кислота	2,46±0,05	5,03±0,10	—	2,60±0,05	2,03±0,04	—
Лимонна кислота	107,50±2,1 5	40,19±0,80	48,00±0,96	94,03±1,88	111,81±2,2 4	48,00±0,96
Винна кислота	—	—	27,00±0,54	—	—	13,00±0,26
Піровиноградна кислота	—	—	4,00±0,08	—	—	9,00±0,18

Примітка. «—» – сполука не знайдена.

Одержані результати свідчать, що склад органічних кислот сировини як ельшольції в'їчної, так і ельшольції Стаунтона значно відрізнялися. В усіх видах сировини обох видів ельшольції були ідентифіковані такі сполуки: яблучна, янтарна та лимонна кислоти. (Е)-2-бутендіонова кислота виявлена лише у суцвіттях ельшольції Стаунтона, а *цис*-2-метил-2-бутендіонова кислота – тільки у листі ельшольції в'їчної. За кількісним вмістом переважали у листі та суцвіттях ельшольції в'їчної лимонна ($107,50 \pm 2,15$ мкг/г і $40,19 \pm 0,80$ мкг/г), пропандіонова ($84,15 \pm 1,68$ мкг/г і $52,07 \pm 1,04$ мкг/г) і метоксибутандіонова ($54,13 \pm 1,08$ мкг/г і $46,16 \pm 0,92$ мкг/г); у траві – янтарна ($79,00 \pm 1,58$ мкг/г), яблучна ($50,0 \pm 1,05$ мкг/г) і лимонна ($48,00 \pm 0,96$ мкг/г) кислоти. Для сировини ельшольції Стаунтона домінантними кислотами були: у листі та суцвіттях – метоксибутандіонова ($104,38 \pm 2,09$ мкг/г і $62,66 \pm 1,25$ мкг/г), лимонна ($94,03 \pm 1,88$ мкг/г і $111,81 \pm 2,24$ мкг/г) і яблучна ($65,36 \pm 1,31$ мкг/г і $67,73 \pm 1,36$ мкг/г); у траві – янтарна ($74,00 \pm 1,48$ мкг/г) та лимонна ($48,00 \pm 0,96$ мкг/г) кислоти.

Результати кількісного спектрофотометричного [18] та фотометричного [24] визначення аскорбінової кислоти у траві ельшольції в'їчної та ельшольції Стаунтона наведено у таблиці 3.12.

Таблиця 3.12

Вміст аскорбінової кислоти у траві ельшольції в'їчної та ельшольції Стаунтона

Сировина	Вміст аскорбінової кислоти, мг/100 г	
	спектрофотометричний	фотометричний
Трава ельшольції в'їчної	$38,80 \pm 1,61$	$15,25 \pm 0,11$
Трава ельшольції Стаунтона	$28,40 \pm 1,22$	$10,36 \pm 0,71$

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

Результати кількісного визначення аскорбінової кислоти, наведені у табл. 3.12, показали, що її вміст у траві ельшольції в'їчної, встановлений спектрофотометричним методом, склав $38,80 \pm 1,61$ мг/100 г, фотометричним –

15,25±0,11 мг/100 г; у траві ельшольції Стаунтона – 28,40±1,22 мг/100 г і 10,36±0,71 мг/100 г відповідно. Порівнюючи одержані дані, можна зробити висновок, що у траві ельшольції війчастої вміст аскорбінової кислоти в 1,4-1,5 рази вищий, ніж у траві ельшольції Стаунтона [28].

3.4 Дослідження вітамінів

Вітаміни є регуляторами багатьох фізіологічних та метаболічних процесів, які відбуваються в організмі. Вони забезпечують процеси росту, кровотворення, нормальне функціонування статевої, нервової, серцево-судинної та травної систем, залоз внутрішньої секреції, зору, систем метаболізму ксенобіотиків, забезпечують нормальні властивості шкіри, адекватну імунну відповідь, формують антиоксидантний потенціал організму, підтримують стійкість організму до інфекцій, отрут, радіоактивного випромінювання та інших несприятливих зовнішніх факторів навколишнього середовища, зменшують ризик розвитку злоякісних новоутворень [12].

Результати визначення вмісту вітамінів у сировині ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона наведені у таблиці 3.13.

Таблиця 3.13

Вміст вітамінів у траві ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона

Вітамін	Вміст вітаміну, мг/100 г	
	трава ельшольції війчастої	трава ельшольції Стаунтона
Вітамін В ₁ (тіамін)	0,15±0,008	0,37±0,04
Вітамін В ₂ (рибофлавін)	0,03±0,02	0,13±0,02
Вітамін В ₃ (ніацин)	2,31±0,26	6,67±0,34
Вітамін В ₉ (фолієва кислота)	0,002±0,0001	0,003±0,0001

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

Виходячи з одержаних результатів, за вмістом як у траві ельшольції війчастої, так і у траві ельшольції Стаунтона домінував вітамін В₃ – $2,31 \pm 0,26$ мг/100г і $6,67 \pm 0,34$ мг/100 г. Найменший вміст визначено вітаміну В₉: у траві ельшольції війчастої – $0,002 \pm 0,0001$ мг/100 г, у траві ельшольції Стаунтона – $0,003 \pm 0,0001$ мг/100 г. Як свідчать результати аналізу, у траві ельшольції Стаунтона спостерігався вищий вміст вітамінів порівняно з травою ельшольції війчастої [28].

3.5 Дослідження гідроксикоричних кислот

Гідроксикоричні кислоти – один з найпоширеніших класів фенольних сполук, які мають різновекторний спектр фармакологічних властивостей. Вони виявляють імуномодулювальну, протизапальну, антиалергійну, антиагрегантну, антиоксидантну, протівірусну, гіпоглікемічну, гіпохолестеринемічну, гепатопротекторну, кардіопротекторну, протипухлинну, антитоксичну активності [55, 68].

Виявлення гідроксикоричних кислот проводили методом ПХ і ТШХ у рухомих фазах № 4 і № 5. Для виявлення зон гідроксикоричних кислот використовували реактиви С і D [69]. У результаті дослідження у листі, суцвіттях і траві ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона ідентифіковано хлорогенову, кофейну та розмаринову кислоти.

Результати визначення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у траві ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона наведені у таблиці 3.14.

Як видно з результатів, представлених у табл. 3.14, для трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона спостерігався незначний вміст гідроксикоричних кислот, а саме $0,53 \pm 0,02$ % і $0,68 \pm 0,03$ % відповідно.

Таблиця 3.14

**Вміст гідроксикоричних кислот у траві ельшольції війчастої та ельшольції
Стаунтона**

№ з/п	Сировина	Вміст гідроксикоричних кислот, %
1.	Трава ельшольції війчастої / вміст у пере- рахунку на хлорогенову кислоту	0,53±0,02
2.	Трава ельшольції Стаунтона / вміст у пе- рерахунку на розмаринову кислоту	0,68±0,03

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

Дослідження гідроксикоричних та інших кислот проводили методом ВЕРХ [101]. Результати вивчення гідроксикоричних кислот у сировині ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона наведені на рис. 3.21-3.26 і у таблиці 3.16.

Результати ВЕРХ-аналізу, наведені у табл. 3.15, показали, що у листі ельшольції війчастої ідентифіковано 4, у суцвіттях – 8 і траві – 9 кислот. Для сировини ельшольції Стаунтона одержані такі дані: у листі та суцвіттях ідентифіковано по 7, у траві – 11 кислот. Хлорогенова кислота визначена у великій кількості як у траві ельшольції Стаунтона ($1368,10 \pm 273,62$ мкг/г), так і траві ельшольції війчастої ($1033,70 \pm 20,67$ мкг/г). *транс*-Хінна кислота у найбільшій кількості містилася у листі ельшольції Стаунтона ($953,58 \pm 19,07$ мкг/г). Фумарова кислота була ідентифікована лише у траві обох видів ельшольції та мала найнижчий вміст серед гідроксикоричних кислот – $3,60 \pm 0,07$ мкг/г і $6,70 \pm 0,13$ мкг/г відповідно. Розмаринова кислота ідентифікована тільки у сировині ельшольції Стаунтона: у листі – $1112,33 \pm 206,14$ мкг/г, у суцвіттях – $1040,26 \pm 211,18$ мкг/г, у траві – $1420,53 \pm 281,27$ мкг/г. Найбільший вміст суми кислот встановлено у траві ельшольції Стаунтона – $4359,93 \pm 87,20$ мкг/г.

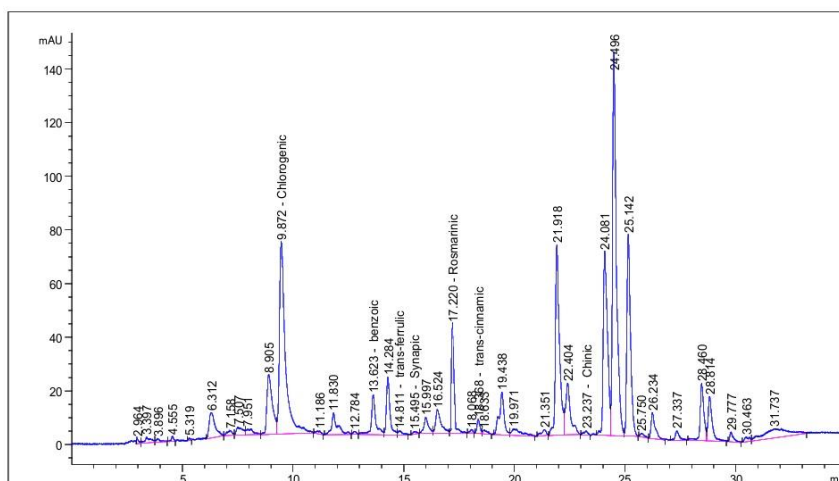


Рис. 3.21 ВЕРХ-хроматограма гідроксикоричних та інших кислот у листі ельшольції війчастої.

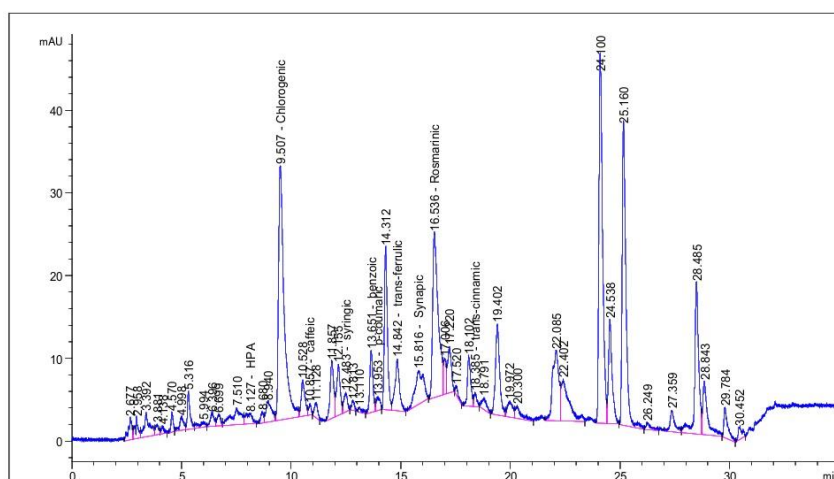


Рис. 3.22 ВЕРХ-хроматограма гідроксикоричних та інших кислот у суцвіттях ельшольції війчастої.

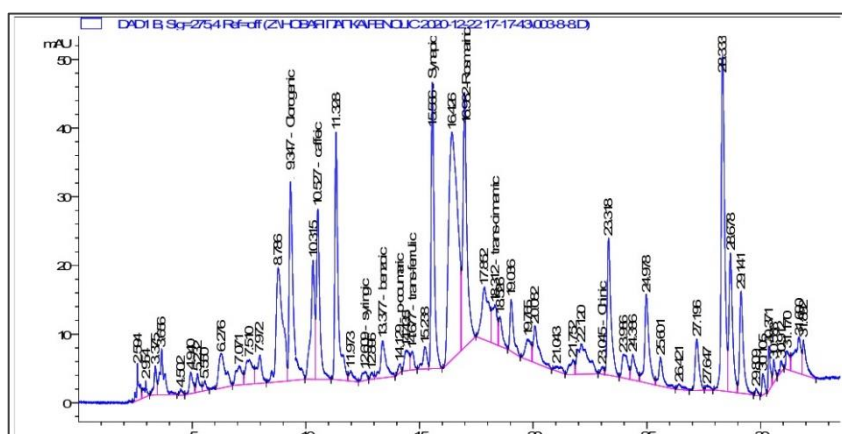


Рис. 3.23 ВЕРХ-хроматограма гідроксикоричних та інших кислот у траві ельшольції війчастої.

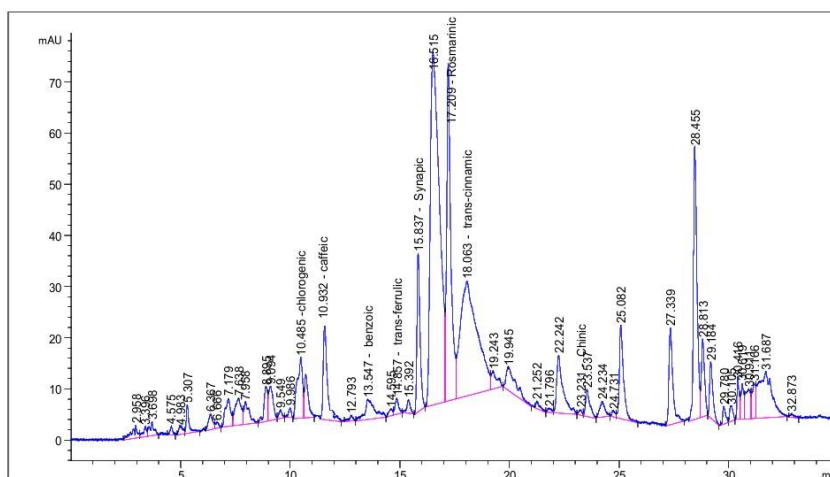


Рис. 3.24 ВЕРХ-хроматограма гідроксикоричних та інших кислот у листі ельшольції Стаунтона.

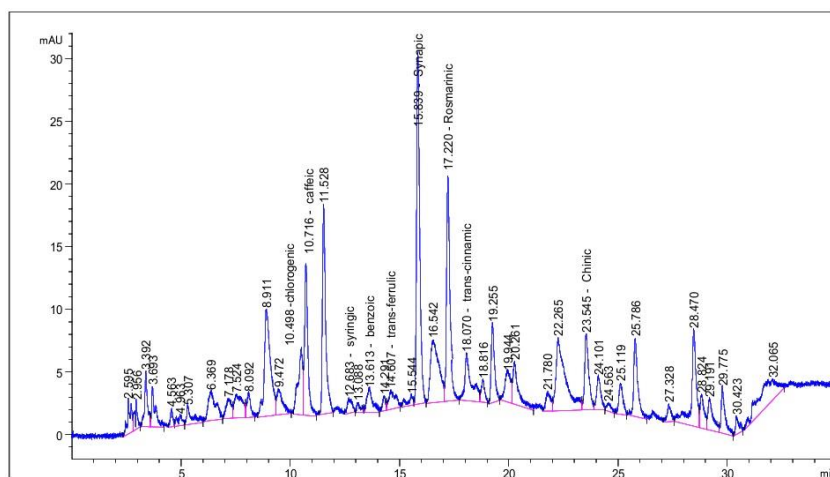


Рис. 3.25 ВЕРХ-хроматограма гідроксикоричних та інших кислот у суцвіттях ельшольції Стаунтона.

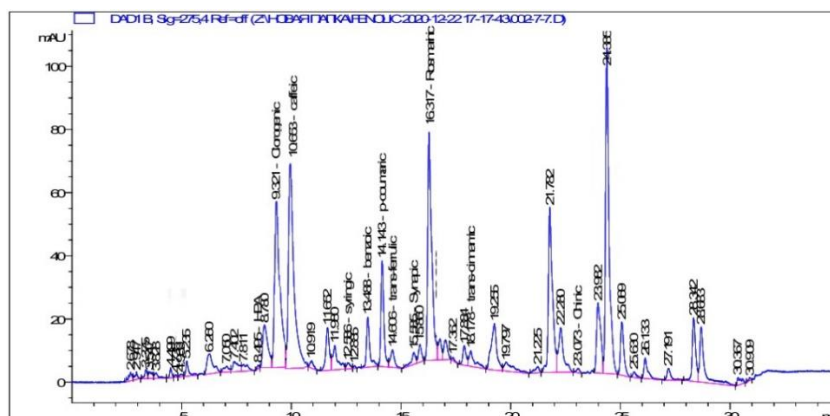


Рис. 3.26 ВЕРХ-хроматограма гідроксикоричних та інших кислот у траві ельшольції Стаунтона.

**Гідроксикоричні та інші кислоти сировини ельшольції війчастої
та ельшольції Стаунтона, визначені методом ВЕРХ**

Кислота	Вміст у сировині, мкг/г					
	ельшольція війчаста			ельшольція Стаунтона		
	листя	суцвіття	трава	листя	суцвіття	трава
Фенілкарбонові кислоти						
Бензойна кислота	581,63±11,6 3	216,07±4,32	152,70±3,05	272,61±5,45	98,41±1,97	387,40±7,75
Гідрокси-фенілоцтова кислота	—	98,53±1,97	—	—	—	25,50±0,51
Гідроксикарбонові кислоти						
<i>транс</i> -Хінна кислота	51,54±1,03	18,56±0,37	53,60±1,07	953,58±19,0 7	78,52±1,57	70,60±1,41
Гідроксикоричні кислоти						
Хлорогенова кислота	—	—	1033,70±20, 67	293,66±5,86	—	1368,10±273 ,62
Розмаринова кислота	—	—	—	1112,33±206 ,14	1040,26±211, 18	1420,53±281 ,27
Кофейна кислота	—	71,81±1,44	693,20±13,8 6	374,06±7,48	618,19±12,36	68,60±1,37
Сирінгова кислота	—	73,37±1,45	30,00±0,60	—	45,68±0,91	49,20±0,98
<i>p</i> -Кумарова кислота	—	53,21±1,06	14,70±0,29	—	—	703,60±14,0 7
<i>транс</i> -Ферулова кислота	67,72±1,35	258,81±5,18	48,60±0,97	82,75±1,66	94,35±1,89	164,60±3,29
Сінапова кислота	38,00±0,76	254,16±5,08	494,50±9,89	522,93±10,4 6	610,96±12,22	95,10±1,90
Фумарова кислота	—	—	3,60±0,07	—	—	6,70±0,13
Сума кислот	738,89±14,7 8	1044,52±20, 89	2524,60±50, 42	3611,92±72, 24	2586,37±51,7 3	4359,93±87, 20

Примітка. «—» – сполука не знайдена.

Визначення вмісту розмаринової кислоти проводили методом ВЕРХ з використанням як екстрагенту етанолу різної концентрації. Результати ВЕРХ вивчення розмаринової кислоти у сировині ельшольції Стаунтона наведені у таблиці 3.16.

Таблиця 3.16

Вміст розмаринової кислоти у сировині ельшольції Стаунтона

Екстрагент	Вміст розмаринової кислоти у сировині, %			
	листя	суцвіття	стебла	трава
20 % етанол	1,75±0,04	1,77±0,04	0,35±0,01	1,24±0,03
40 % етанол	1,01±0,02	1,99±0,04	0,54±0,01	1,37±0,03
50 % етанол	1,82±0,04	1,04±0,02	0,50±0,01	1,47±0,03
70 % етанол	2,11±0,04	2,37±0,05	0,65±0,01	1,42±0,03
96 % етанол	1,72±0,03	2,24±0,05	0,58±0,01	1,34±0,03

Як показали результати дослідження (табл. 3.16), у листі, суцвіттях і стеблах ельшольції Стаунтона визначено значний вміст розмаринової кислоти при використанні 70 % етанолу – 2,11±0,04 %, 2,37±0,05 % і 0,65±0,01 % відповідно. Що стосується трави, то найкращим екстрагентом для її вилучення виявився 50 % етанол – 1,47±0,03 % [40, 29, 65].

3.6 Дослідження флавоноїдів

Відомо, що для флавоноїдів притаманні антиоксидантні, капілярозміцнювальні, протизапальні, антибактеріальні, фунгістатичні, противиразкові, гепатопротекторні, гіпотензивні, антиалергійні, гіпоглікемічні, противірусні та антиагрегантні властивості. Вони довели свою ефективність при онкологічних, серцево-судинних і респіраторних захворюваннях, а наявність противірусної дії робить ці сполуки важливим і перспективним класом БАР у лікуванні Covid 19 [45, 132].

Наявність флавоноїдів встановлювали реакціями ідентифікації. Позитивний результат ціанідинової реакції – червоне забарвлення – свідчило про присутність даної групи сполук у сировині ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона [69].

Вивчення флавоноїдів методом ТШХ у рухомих фазах № 1, №3, № 5, № 7 і № 8. Для виявлення флавоноїдів використовували реактиви С, D, E, F [69]. У результаті хроматографічного дослідження у траві ельшольції війчастої ідентифіковано рутин, а у траві ельшольції Стаунтона – гіперозид.

Вміст флавоноїдів визначали спектрофотометричним методом [15, 16]. Результати кількісного визначення флавоноїдів у сировині ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона наведені у таблиці 3.17.

Таблиця 3.17

**Вміст флавоноїдів у сировині ельшольції війчастої
та ельшольції Стаунтона**

№ з/п	Сировина	Вміст, %
1.	Трава ельшольції війчастої / вміст у перерахунку на рутин	1,75±0,07
2.	Трава ельшольції Стаунтона / вміст у перерахунку на лютеолін	1,93±0,07

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

Одержані результати (табл. 3.17) свідчили, що у траві ельшольції Стаунтона накопичувалося більше флавоноїдів, ніж у траві ельшольції війчастої – 1,93±0,07 % і 1,75±0,07 % відповідно.

Результати ВЕРХ дослідження флавоноїдів у сировині ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона наведено на рис. 3.27-3.32 і у таблиці 3.18.

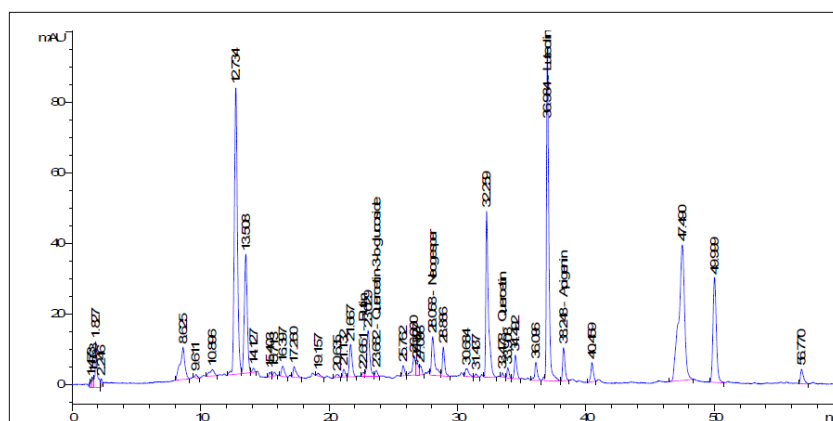


Рис. 3.27 ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів у листі ельшольції вйчастої.

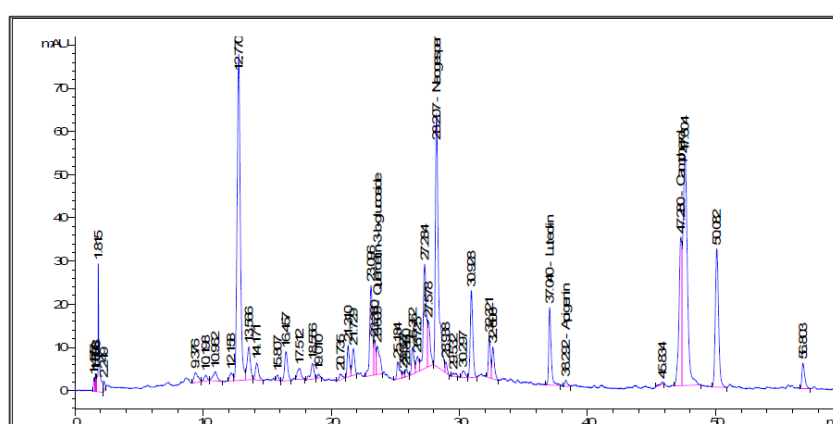


Рис. 3.28 ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів у суцвіттях ельшольції вйчас-
тої.

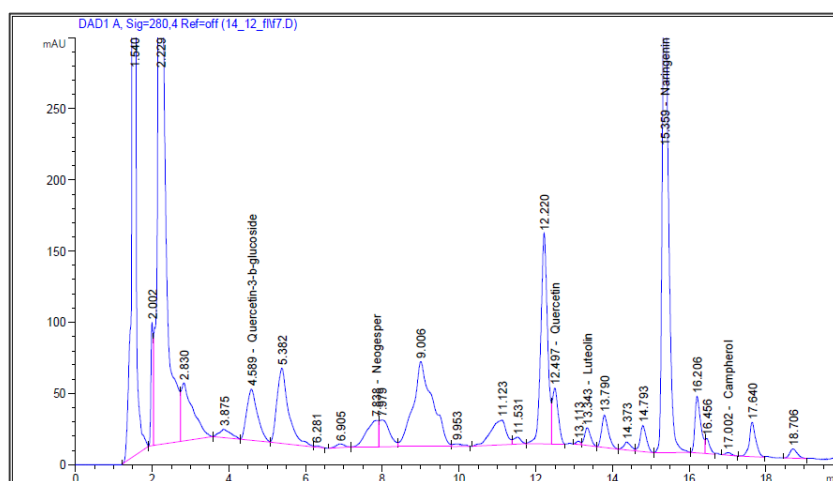


Рис. 3.29 ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів у траві ельшольції вйчастої.

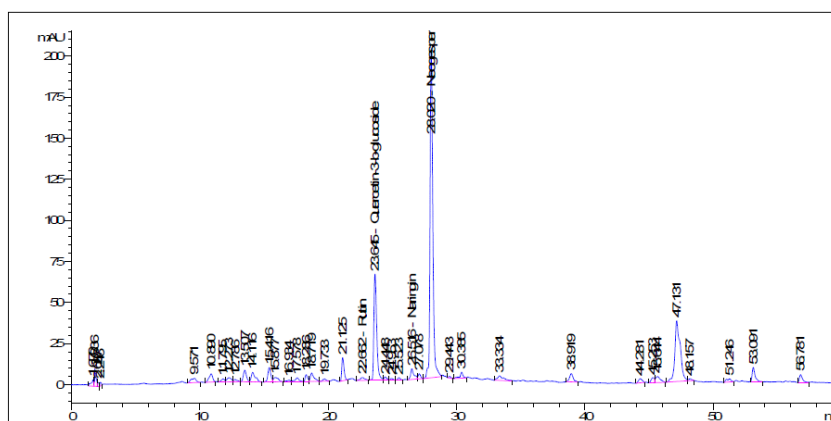
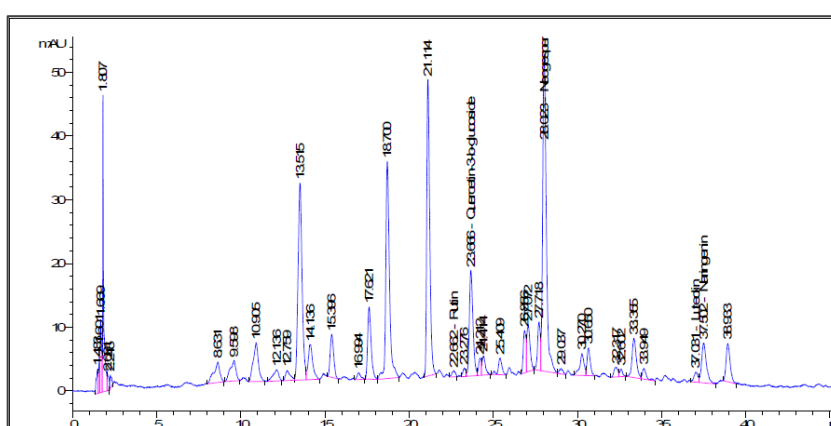


Рис. 3.30 ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів у листі ельшольції Стаунтона.



Таблиця 3.18

Флавоноїди сировини ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона

Сполука	Вміст у сировині, мкг/г					
	ельшольція війчаста			ельшольція Стаунтона		
	листя	суцвіття	трава	листя	суцвіття	трава
Рутин	3967,26± 78,75	779,95±1 5,60	934,75±1 8,70	—	—	—
Кверцетин-3-β-глюкозид	103,40±2, 07	125,18±2, 50	611,58±1 2,23	451,96±9, 04	135,90±2, 72	230,14±4, 60
Нарінгін	—	—	—	673,46±1 5,27	—	—
Нео-гесперидин	820,12±1 6,40	3480,99± 69,62	612,92±1 2,26	1156,61± 23,13	2180,02± 43,60	1031,61± 20,63
Кверцетин	116,66±2, 33	—	187,24±3, 75	—	—	1328,95± 26,58
Лютеолін	—	—	—	189,95±3, 80	138,35±2, 77	11084,73 ±221,70
Нарінгенин	—	—	369,15±7, 38	—	399,33±7, 99	355,29±7, 11
Апігенін	сліди	сліди	—	—	—	—
Кемпферол	—	491,52±9, 83	53,70±1,0 7	—	—	6,30±0,13
Сума флавоноїдів	5007,44± 100,15	4877,64± 97,55	2769,34± 55,39	2471,98± 49,44	2853,60± 57,07	14037,02 ±280,74

Примітка. «—» – сполука не знайдена.

У листі та суцвіттях ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона ідентифіковано по 4 флавонодні сполуки. Серед ідентифікованих речовин найвищий вміст у листі ельшольції війчастої мав рутин ($3967,26 \pm 78,75$ мкг/г), у листі ельшольції Стаунтона – неогесперидин ($1156,61 \pm 23,13$ мкг/г). У суцвіттях домінуючим флавоноїдом був неогесперидин ($3480,99 \pm 69,62$ мкг/г і $2180,02 \pm 43,60$ мкг/г відповідно). У траві ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона встановлено наявність 6 флавоноїдів, серед яких за вмістом переважав у траві ельшольції війчастої рутин ($934,75 \pm 18,70$ мкг/г), у траві ельшольції Стаунтона – лютеолін ($11084,73 \pm 221,70$ мкг/г), кверцетин ($1328,95 \pm 26,58$ мкг/г) і неогесперидин ($1031,61 \pm 20,63$ мкг/г).

Наявність катехінів встановлювали реакцією з 1 % розчином ваніліну у кислоті хлористоводневій концентрованій за появою червоно-малинового забарвлення [69]. Результати вивчення катехінів методом ВЕРХ у траві ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона наведені на рис. 3.33-3.34 і у таблиці 3.19.

У результаті ВЕРХ вивчення (табл. 3.19) у траві ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона ідентифіковано 4 катехіни. Катехін був домінуючою сполукою у траві обох видів ельшольції – $1009,11 \pm 20,18$ мкг/г і $791,34 \pm 15,83$ мкг/г відповідно. Встановлено, що у траві ельшольції війчастої вміст катехінів вищий ($2583,39 \pm 51,67$ мкг/г), ніж у траві ельшольції Стаунтона ($2203,59 \pm 44,07$ мкг/г).

Попередньо наявність антоціанів у сировині ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона встановлювали реакціями з 10 % етанольним розчином натрію гідроксиду (синьо-зелене забарвлення) і 2 % етанольним розчином плюмбуму ацетату (синій осад) [69].

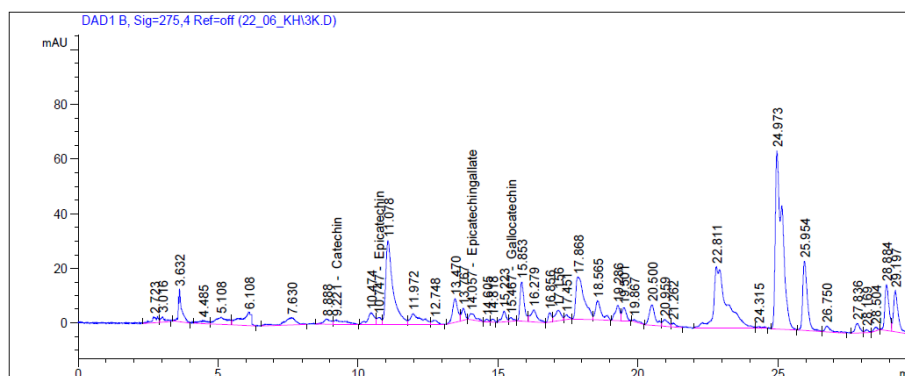


Рис. 3.33 ВЕРХ-хроматограма катехінів у траві ельшольції війчастої.

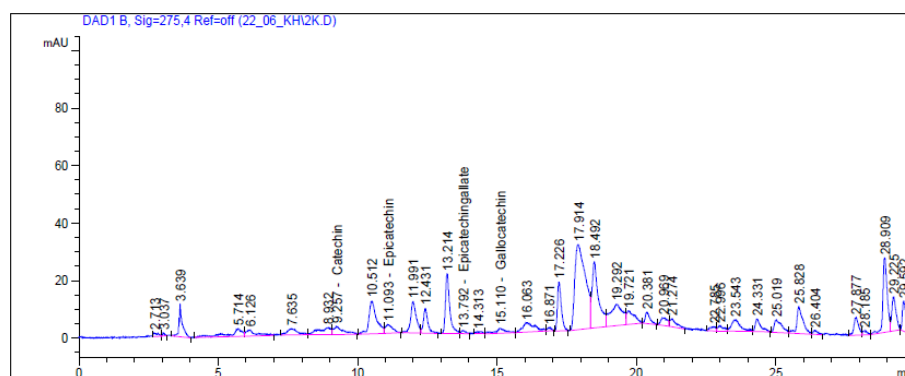


Рис. 3.34 ВЕРХ-хроматограма катехінів у траві ельшольції Стаунтона.

Таблиця 3.19

Катехіни трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона

Сполука	Вміст, мкг/г	
	трава ельшольції війчастої	трава ельшольції Стаунтона
Катехін	1009,11±20,18	791,34±15,83
Епікатехін	783,49±15,67	524,81±10,50
Епікатехінгалат	221,96±4,44	596,57±11,93
Галокатехін	568,83±11,38	290,87±5,82
Сума катехінів	2583,39±51,67	2203,59±44,07

Вміст антоціанів у суцвіттях ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона, визначений спектрофотометричним методом [18], склав $0,044 \pm 0,0001$ % і $0,176 \pm 0,001$ % відповідно. З одержаних результатів видно, що вміст антоціанів у суцвіттях ельшольції Стаунтона у 4 рази вищий, ніж у суцвіттях ельшольції війчастої.

Вивчення антоціанів проводили методом ВЕРХ. Для більшої наочності, крім ВЕРХ-хроматограм, нами були записані 3D-спектри хроматографічних профілів антоціанів. Результати дослідження антоціанів у сировині ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона наведені на рис. 3.35-3.38 а у таблиці 3.20.

У результаті ВЕРХ аналізу у суцвіттях ельшольції війчастої ідентифіковано 8, у суцвіттях ельшольції Стаунтона – 11 антоціанів. Аналіз одержаних даних (табл. 3.20) показав, що суцвіття ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона відрізняються за складом антоціанів. Так, у сировині ельшольції війчастої ідентифіковані дельфінідин-3-галактозид, дельфінідин-3-арабінозид, ціанідин-3-глюкозид, ціанідин-3-арабінозид, петунідин-3-рутинозид, мальвідин-3-галактозид, мальвідин-3-глюкозид і мальвідин-3-арабінозид. Серед ідентифікованих сполук у значній кількості визначено ціанідин-3-глюкозид ($33,99 \pm 0,68$ %) і мальвідин-3-галактозид ($33,23 \pm 0,66$ %).

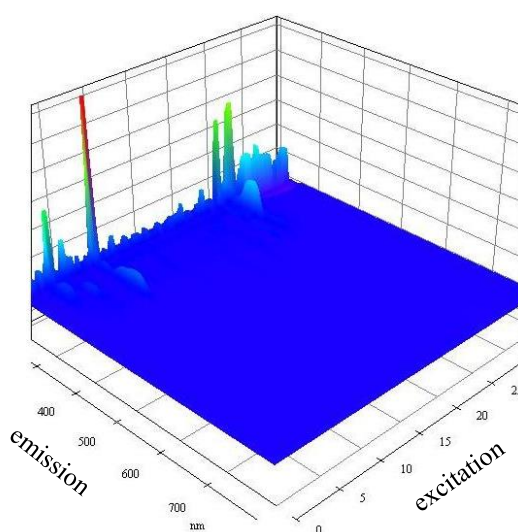


Рис. 3.35 3D-спектр хроматографічних профілів антоціанів суцвіть ельшольції війчастої.

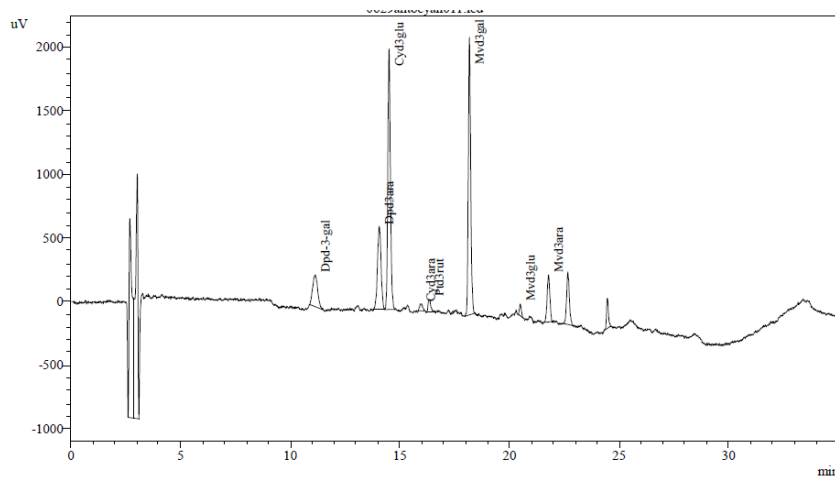


Рис. 3.36 ВЕРХ-хроматограма антоціанів у суцвіттях ельшольції війчас-
тої.

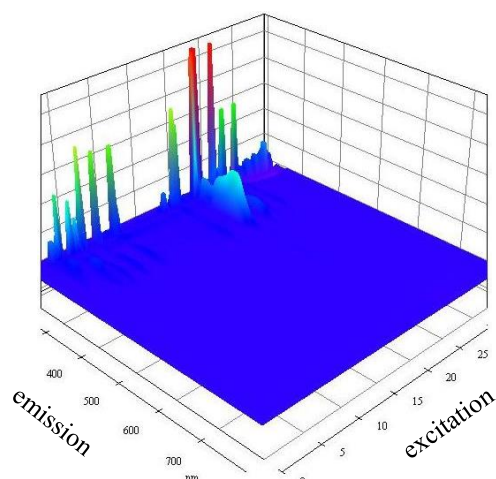


Рис. 3.37 3D-спектр хроматографічних профілів антоціанів суцвіть ель-
шольції Стаунтона.

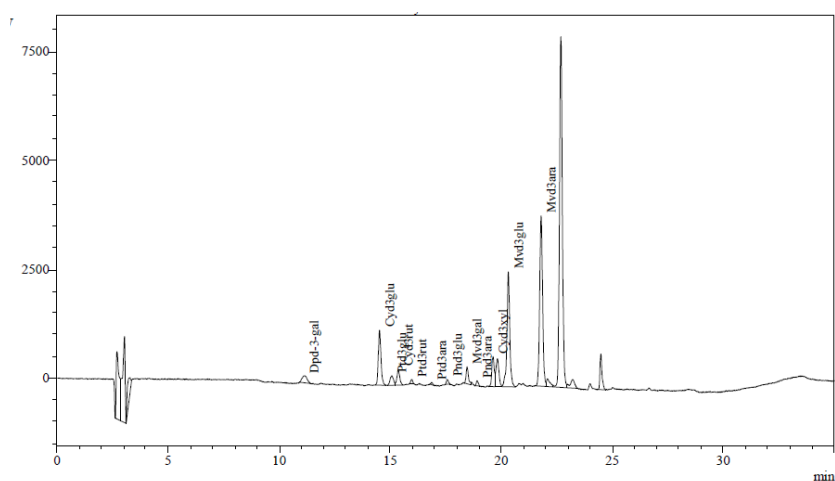


Рис. 3.38 ВЕРХ-хроматограма антоціанів у суцвіттях ельшольції Стаун-
тона.

**Хроматографічні параметри визначення антоціанів у суцвіттях ельшольції
війчастої та ельшольції Стаунтона**

Сполука	Час утримання, хв	λ_{max} , нм	Ельшольція Стаунтона		Ельшольція війчаста	
			площа*	%	площа*	%
Дельфінідин-3-галактозид	11,137/11,114	526, 243, 278, 335	2549	2,96±0,06	3977	7,99±0,16
Дельфінідин-3-арабінозид	14,053	526, 280, 244, 335	-	-	7481	15,03±0,30
Ціанідин-3-глюкозид	14,5/14,513		10604	12,30±0,25	16917	33,99±0,68
Ціанідин-3-рутинозид	15,358		3137	3,64±0,07	-	-
Ціанідин-3-арабінозид	15,93	519, 279, 244, 335	-	-	527	1,06±0,02
Ціанідин-3-ксилозид	19,642		5414	6,28±0,13	-	-
Петунідин-3-рутинозид	16,327/15,972	534, 273, 245, 345	476	0,55±0,01	573	1,15±0,03
Петунідин-3-арабінозид	16,865		274	0,32±0,01	-	-
Пеонідин-3-глюкозид	17,566		679	0,79±0,02	-	-
Мальвідин-3-галактозид	18,167/18,457	528, 278, 245, 336	2805	3,25±0,07	16538	33,23±0,66
Пеонідин-3-арабінозид	18,905	524, 244, 274	748	0,87±0,02	-	-
Мальвідин-3-глюкозид	20,487/20,316	528, 277, 245, 345	23570	27,33±0,55	541	1,09±0,02
Мальвідин-3-арабінозид	21,773/21,791		35978	41,72±0,83	3212	6,45±0,13
Загальний вміст, %			86234	100	49766	100

Примітки:

1. «*» – середнє значення, n=3;
2. «-» – сполука не знайдена.

Що стосується суцвіть ельшольції Стаунтона, були ідентифіковані такі антоціанові сполуки – дельфінідин-3-галактозид, ціанідин-3-глюкозид, ціанідин-3-рутинозид, петунідин-3-рутинозид, петунідин-3-арабінозид, пеонідин-3-глюкозид, мальвідин-3-галактозид, пеонідин-3-арабінозид, ціанідин-3-ксилозид, мальвідин-3-глюкозид і мальвідин-3-арабінозид. Високий вміст визначено для таких сполук: мальвідин-3-арабінозид ($41,72 \pm 0,83$ %) і мальвідин-3-глюкозид ($27,33 \pm 0,55$ %).

3.7 Дослідження танінів

Відомо, що для танінів притаманні бактерицидні та фунгіцидні властивості. Вони інгібують розвиток нематод, беруть участь в окислювально-відновних реакціях, запобігають розвитку неконтрольованого самоокиснення ліпідів та накопиченню токсичних ліпідних пероксидів і епоксидів [7].

Позитивні результати реакцій з 1 % розчином желатини (каламуть), 1 % розчином хініну гідрохлориду (білий аморфний осад), 30 % розчином феруму (III) амонію сульфату (чорно-зелене забарвлення) [69] свідчили про присутність дубильних речовин конденсованої групи у сировині ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона.

Визначення вмісту танінів проводили спектрофотометричним методом за методикою ДФУ 2.0 [17]. Екстракцію танінів із сировини вели водою та етанолом різної концентрації. Результати кількісного визначення вмісту танінів у сировині ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона наведені у таблиці 3.21.

Як показали результати дослідження (табл. 3.21), у сировині ельшольції війчастої спостерігався низький вміст танінів. Їх найвищий вміст визначено у листі ельшольції війчастої при використанні 40 % етанолу – $0,94 \pm 0,02$ %.

Вміст танінів у сировині ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона

Екст- ра- гент	Вміст танінів у сировині ельшоль- ції війчастої, %				Вміст танінів у сировині ельшоль- ції Стаунтона, %			
	листя	суцвіт- тя	стебла	трава	листя	суцвіт- тя	стебла	трава
Вода	0,72±0, 01	0,46±0, 01	0,24±0, 01	0,22±0, 03	0,92±0, 04	0,58±0, 03	0,45±0, 02	0,36±0, 02
20 % ета- нол	0,62±0, 02	0,31±0, 01	0,33±0, 02	0,40±0, 01	1,05±0, 05	0,60±0, 03	0,46±0, 02	0,51±0, 02
40 % ета- нол	0,94±0, 02	0,70±0, 03	0,45±0, 01	0,47±0, 01	1,29±0, 06	0,89±0, 04	0,60±0, 03	1,11±0, 05
50 % ета- нол	0,81±0, 01	0,76±0, 01	0,19±0, 01	0,37±0, 02	1,43±0, 07	0,94±0, 05	0,67±0, 03	1,15±0, 06
70 % ета- нол	0,74±0, 01	0,56±0, 01	0,34±0, 01	0,54±0, 01	1,49±0, 07	1,33±0, 06	0,60±0, 03	1,14±0, 06
90 % ета- нол	0,69±0, 02	0,69±0, 02	0,48±0, 01	0,47±0, 01	1,15±0, 06	0,90±0, 04	0,64±0, 03	0,99±0, 05
96 % ета- нол	0,41±0, 01	0,46±0, 02	0,24±0, 01	0,30±0, 02	0,98±0, 05	0,70±0, 03	0,55±0, 03	0,58±0, 03

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

У суцвіттях ельшольції війчастої максимальний вміст танінів спостерігався при використанні 50 % етанолу – $0,76 \pm 0,01$ %, у стеблах при використанні 90 % етанолу – $0,48 \pm 0,01$ %, у траві при екстрагуванні 70 % етанолом – $0,54 \pm 0,01$ % [39].

Аналіз результатів дослідження показав, що у сировині ельшольції Стаунтона накопичувалося більше танінів у порівнянні з ельшольцією війчастою. Найвищий вміст танінів визначений у листі ельшольції Стаунтона, для якого максимальний вміст спостерігався при використанні 70 % етанолу – $1,49 \pm 0,07$ %. Цей же екстрагент був кращим і для суцвіть рослини – $1,33 \pm 0,06$ %. 50 % етанол показав кращі результати для стебел і трави ельшольції Стаунтона, при використанні якого вміст танінів склав $0,67 \pm 0,03$ % і $1,15 \pm 0,06$ % відповідно [39].

3.8 Дослідження ліпофільних речовин

Речовини ліпофільної природи є важливими структурними елементами клітин, забезпечують її енергією, є попередниками простагландинів, тромбосанів, лейкотрієнів, беруть участь у метаболічних, регуляторних і обмінних процесах, виконують важливу роль водо- і термозахисного бар'єра, відповідають за механічну щільність клітин [2].

Одержання ліпофільних сполук здійснювали вичерпною екстракцією хлороформом в апараті Сокслета [51, 59]. Результати визначення вмісту ліпофільних сполук у сировині ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона наведені у таблиці 3.22.

Результати визначення ліпофільних речовин показали, що їх вміст у траві ельшольції Стаунтона вищий, ніж у траві ельшольції війчастої та склав відповідно $10,02 \pm 0,60$ % і $8,61 \pm 0,52$ %.

**Вміст ліпофільних речовин у траві ельшольції війчастої
та ельшольції Стаунтона**

№ з/п	Сировина	Вміст ліпофільних речовин, %
1.	Трава ельшольції війчастої	8,61±0,52
2.	Трава ельшольції Стаунтона	10,02±0,60

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

ЛФ трави обох видів ельшольції являли собою густі маслянисті маси зі специфічним запахом. ЛФ трави ельшольції війчастої мала темно-зелене забарвлення, трави ельшольції Стаунтона – коричнево-зелене. Обидві фракції добре розчинялися в хлороформі, гексані, діетиловому етері, не розчинялися у воді та 96 % етанолі.

3.9 Дослідження хлорофілів і каротиноїдів

Відомо, що рослинні пігменти – хлорофіли та каротиноїди – виявляють широкий спектр фармакологічної активності. Так, для хлорофілу притаманні антимікробні та тонізувальні властивості, він стимулює роботу серця та дихального центра. Каротиноїди мають протизапальні та репаративні ефекти, нормалізують обмін речовин, підвищують опірність організму до інфекцій, беруть участь в окиснювально-відновних реакціях, нормалізують рівень кисню в тканинах [13].

Тому було вивчено якісний склад одержаних ЛФ. Наявність хлорофілів та каротиноїдів встановлювали двовимірною хроматографією в тонкому шарі сорбенту на пластинах «Sorbfil» у рухомих фазах № 10 і № 11. У результаті проведеного аналізу встановлено наявність каротиноїдів, ідентифікацію яких проводили за жовтим та жовтогарячим забарвленням зон у видимому світлі та

коричневою флуоресценцією в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм. Після обробки хроматограми реактивом Н з наступним висушуванням пластини в сушильній шафі протягом 5 хв за температури 80-90 °С зони, які відповідали каротиноїдам, набували синьо-фіолетового забарвлення. Локалізацію хлорофілів на хроматограмі визначали за характерним темно-зеленим забарвленням зон у денному світлі та яскраво-червоною флуоресценцією в УФ-світлі [51, 59].

Визначення вмісту хлорофілів і каротиноїдів проводили як у ЛФ, так і у сировині – траві ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона.

Визначення вмісту суми хлорофілів у ЛФ проводили фотоколориметричним, каротиноїдів – спектрофотометричним методом у перерахунку на β -каротин [51, 59]. Результати кількісного визначення наведені у таблиці 3.23.

Результати визначення вмісту пігментів (табл. 3.23) у ЛФ показали, що хлорофіли містилися у більшій кількості в ЛФ трави ельшольції Стаунтона – $5,39 \pm 0,09$ %. За вмістом каротиноїдів навпаки домінувала ЛФ трави ельшольції війчастої, де їх вміст склав $60,46 \pm 2,22$ мг%.

Таблиця 3.23

Хлорофіли та каротиноїди ЛФ трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона

Ліпофільна фракція	Вміст пігменту	
	хлорофіли, %	каротиноїди, мг%
ЛФ трави ельшольції війчастої	$4,11 \pm 0,11$	$60,46 \pm 2,22$
ЛФ трави ельшольції Стаунтона	$5,39 \pm 0,09$	$20,19 \pm 0,81$

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

Вміст рослинних пігментів у траві ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона визначали спектрофотометричним методом [21, 67]. Результати кількісного визначення наведені у таблиці 3.24.

**Вміст хлорофілів і каротиноїдів у траві ельшольції війчастої та
ельшольції Стаунтона**

Сировина	Вміст у сировині, мг/г		
	хлорофіл <i>a</i>	хлорофіл <i>b</i>	каротиноїди
Трава ельшольції війчастої	2,12±0,08	0,95±0,04	0,67±0,02
Трава ельшольції Стаунтона	3,95±0,14	1,33±0,05	1,33±0,05

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

У результаті проведених досліджень встановлено, що вміст пігментів у траві ельшольції війчастої та траві ельшольції Стаунтона становив: хлорофілу *a* – 2,12±0,08 мг/г та 3,95±0,14 мг/г; хлорофілу *b* – 0,95±0,04 мг/г та 1,33±0,05 мг/г; каротиноїдів – 0,67±0,02 мг/г та 1,33±0,05 мг/г відповідно. Отже, як видно з наведених даних (табл. 3.24), домінування досліджуваних сполук спостерігалося у траві ельшольції Стаунтона [31].

3.10 Вивчення жирнокислотного складу

Жирні кислоти володіють високою фармакологічною активністю. Вони є будівельним матеріалом для ліпідів і клітинних стінок організму людини, відіграють важливу резервну, енергетичну та теплоізоляційну функції, є попередниками простагландинів, тромбоксанів та лейкотрієнів. Комплекс ненасичених і поліненасичених жирних кислот знижує коагуляційні властивості крові, регулює артеріальний, зменшує утворення медіаторів запалення, покращує живлення тканин, запобігає розвитку атеросклерозу, має кардіопротекторну та антиаритмічну активності [117]. Тому дослідження жирнокислотного складу сировини ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона є доцільним.

Вивчення ЖКС сировини ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона проводили методом ГХ [14, 136]. Результати визначення ЖКС у сировині ельшольції війчастої наведені на рис. 3.39-3.46 і у таблиці 3.25.

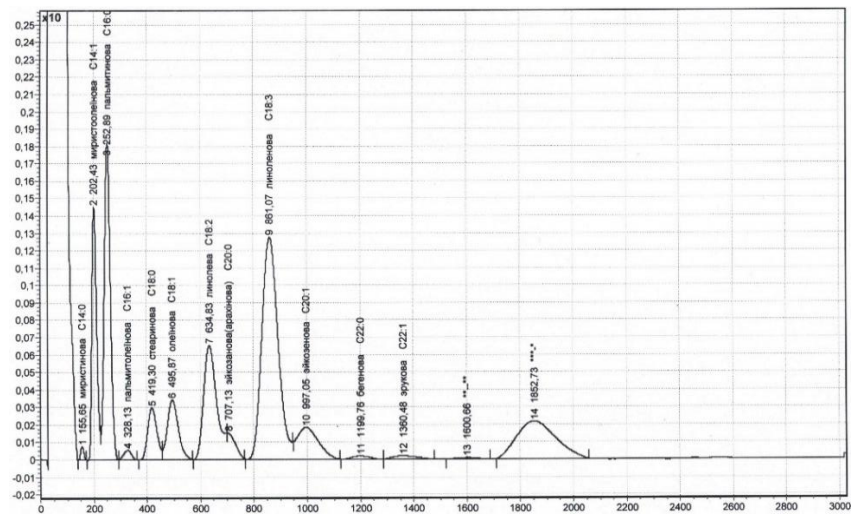


Рис. 3.39 ГХ-хроматограма ЖКС листа ельшольції війчастої.

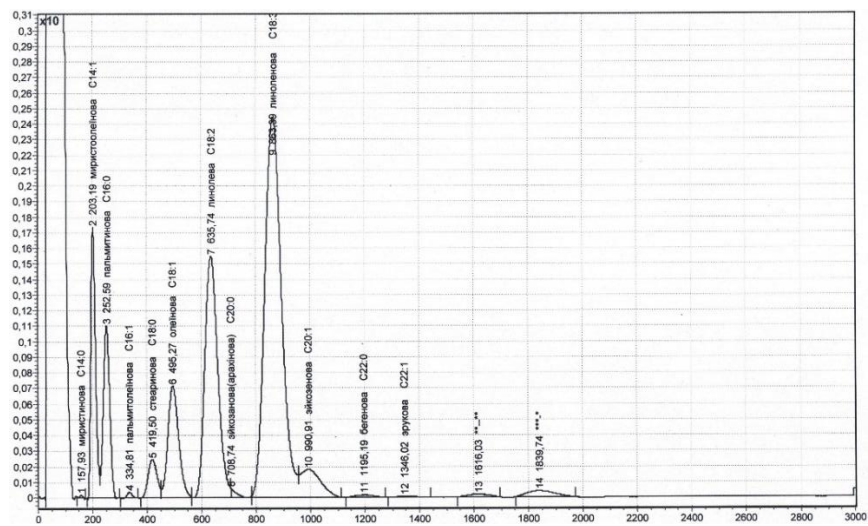


Рис. 3.40 ГХ-хроматограма ЖКС суцвіть ельшольції війчастої.

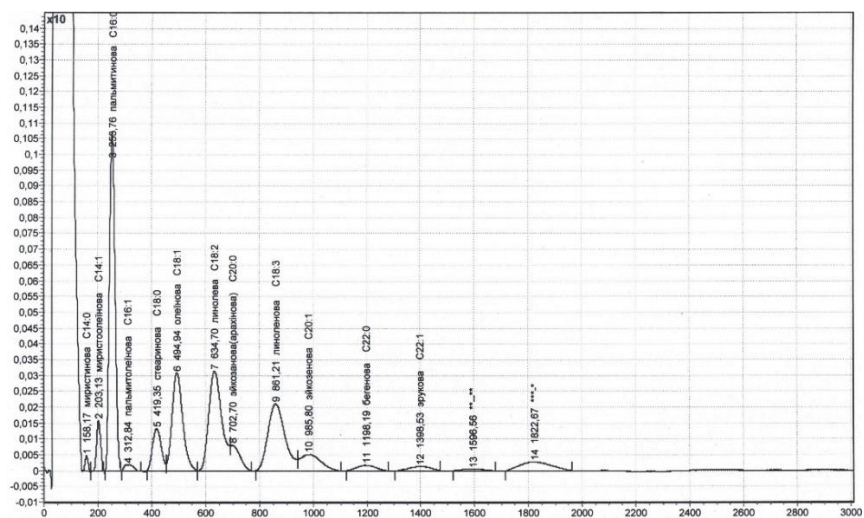


Рис. 3.41 ГХ-хроматограма ЖКС стебел ельшольції війчастої.

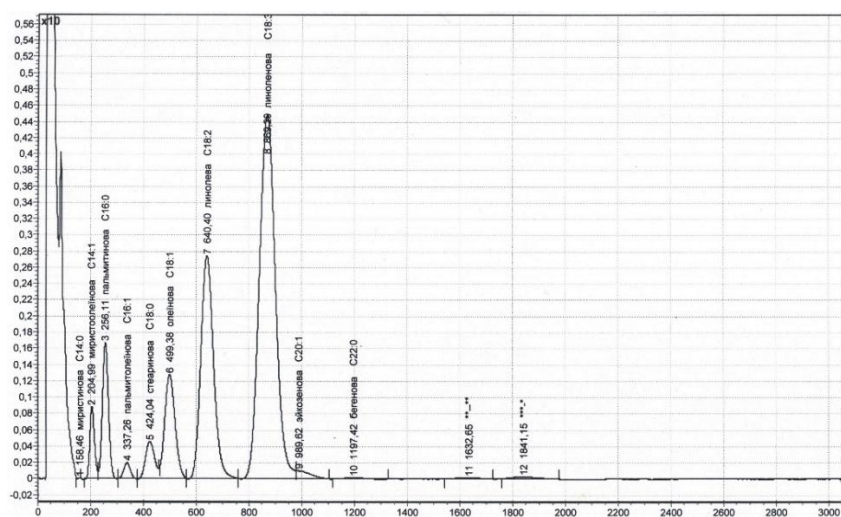


Рис. 3.42 ГХ-хроматограма ЖКС трави ельшольції війчастої.

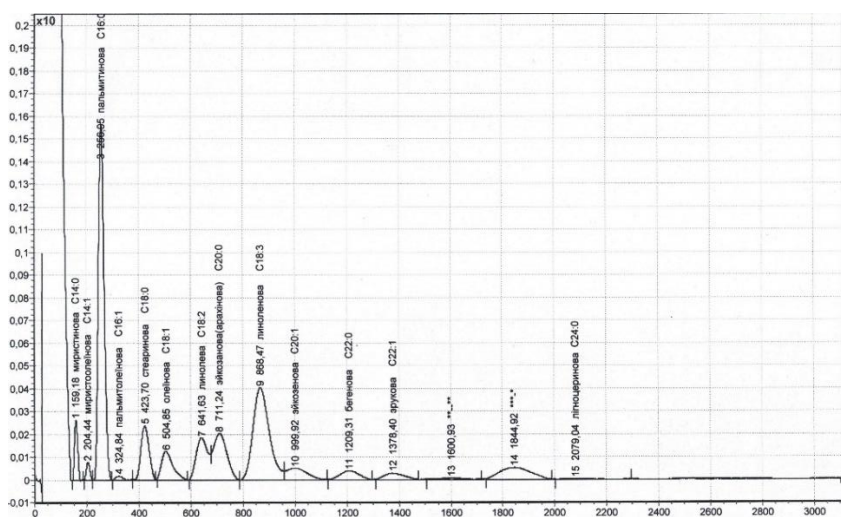


Рис. 3.43 ГХ-хроматограма ЖКС листя ельшольції Стаунтона.

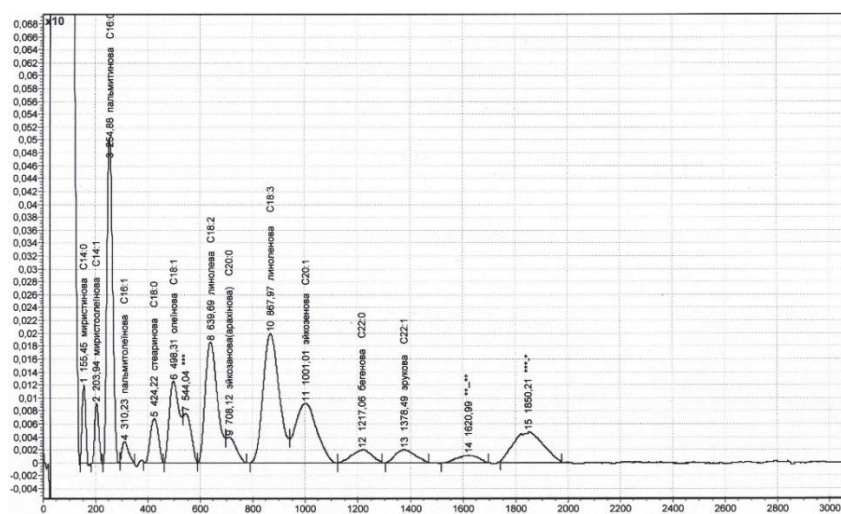


Рис. 3.44 ГХ-хроматограма ЖКС суцвіть ельшольції Стаунтона.

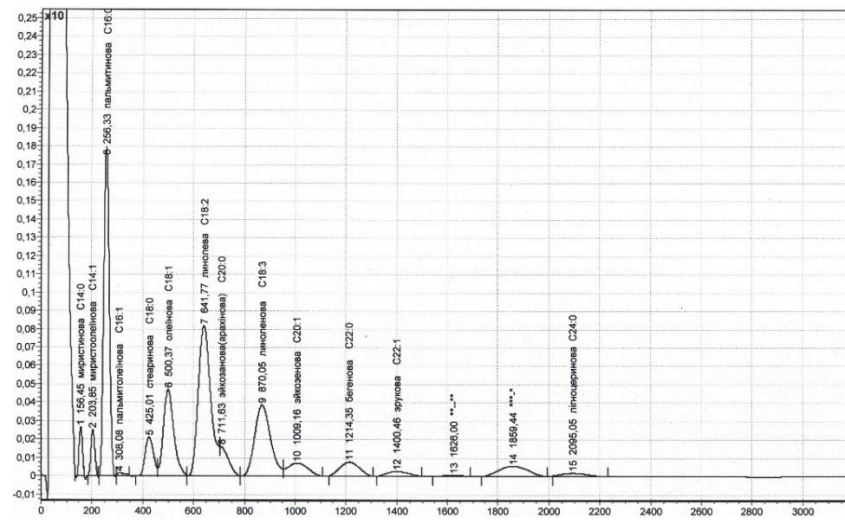


Рис. 3.45 ГХ-хроматограма ЖКС стебел ельшольції Стаунтона.

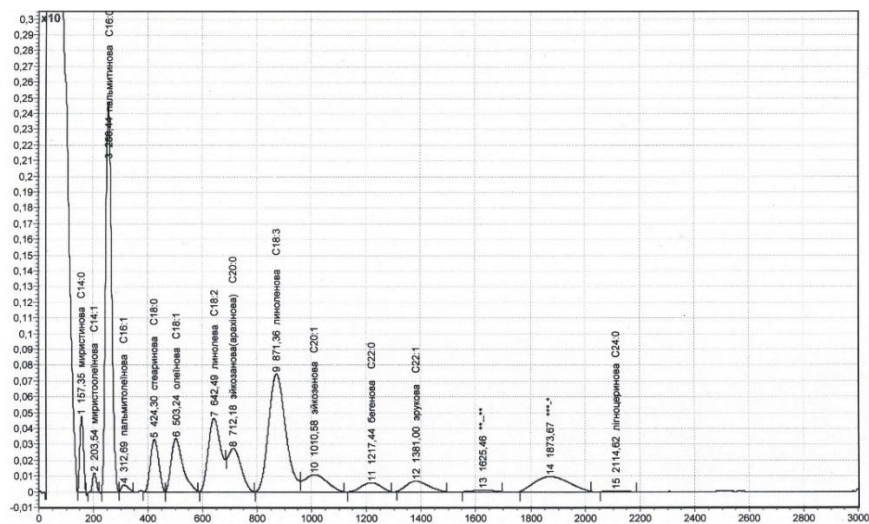


Рис. 3.46 ГХ-хроматограма ЖКС трави ельшольції Стаунтона.

Таблиця 3.25

**Жирнокислотний склад сировини ельшольції війчастої та
ельшольції Стаунтона**

Метиліві естери жирних кислот	Зага- льна фор- мула	Вміст у сировині ельшольції вій- частої, %				Вміст у сировині ельшольції Ста- унтона, %			
		листя	суц- віття	стебла	трава	листя	суц- віття	стебла	трава
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Міристинова (те- традеканова)	C 14:0	0,34±0 ,01	0,07±0 ,001	0,62±0 ,01	0,05±0 ,001	2,95±0 ,06	2,57±0 ,05	2,17±0 ,04	3,28±0 ,07

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Міристоолеїнова	С 14:1	9,87±0 ,20	8,90±0 ,18	2,84±0 ,06	2,85±0 ,06	0,90±0 ,01	2,22±0 ,04	2,27±0 ,05	0,82±0 ,01
Пальмітинова (гексадеканова)	С 16:0	16,10± 0,32	7,74±0 ,16	27,38± 0,55	7,13±0 ,14	29,94± 0,60	16,47± 0,33	23,75± 0,48	26,65± 0,53
Пальмітолеїнова (гексадеценова)	С 16:1	0,58±0 ,01	0,20±0 ,003	0,30±0 ,005	0,90±0 ,01	0,40±0 ,006	1,20±0 ,02	0,40±0 ,006	0,55±0 ,008
Стеаринова (октадеканова)	С 18:0	3,90±0 ,08	2,47±0 ,05	5,24±0 ,11	3,02±0 ,18	6,58±0 ,13	3,42±0 ,07	4,32±0 ,09	5,10±0 ,10
Олеїнова (октадеценова)	С 18:1	5,45±0 ,11	8,28±0 ,17	1,12±0 ,02	9,45±0 ,19	4,54±0 ,09	9,55±0 ,19	11,20± 0,22	6,70±0 ,13
Неідентифікована кислота		—	—	—	—	—	3,60±0 ,07	—	—
Лінолева (октадекадієнова)	С 18:2	11,95± 0,24	21,72± 0,43	17,75± 0,36	24,23± 0,49	8,74±0 ,18	13,15± 0,26	23,60± 0,47	11,25± 0,23
Ліноленова (октадекатрієнова)	С 18:3	29,58± 0,59	43,81± 0,88	28,91± 0,58	50,30± 1,00	21,30± 0,43	18,85± 0,38	14,23± 0,29	22,32± 0,45
Арахінова (ейкозанаова)	С 20:0	2,26±0 ,05	0,30±0 ,005	3,45±0 ,07	—	10,44± 0,21	2,41±0 ,05	3,30±0 ,07	6,95±0 ,14
Гондоїнова (ейкозенова)	С 20:1	6,53±0 ,13	4,26±0 ,09	5,10±0 ,10	1,05±0 ,02	3,75±0 ,08	11,90± 0,24	4,07±0 ,08	4,97±0 ,10
Бегенова (докозанаова)	С 22:0	0,48±0 ,01	0,34±0 ,005	1,44±0 ,03	0,25±0 ,004	2,48±0 ,05	2,40±0 ,05	3,72±0 ,07	2,02±0 ,04
Ерукова (докозенова)	С 22:1	0,78±0 ,01	0,13±0 ,001	1,35±0 ,03	—	1,92±0 ,04	2,37±0 ,05	1,45±0 ,03	2,67±0 ,05
Неідентифікована кислота		0,28±0 ,004	0,48±0 ,007	0,45±0 ,006	0,27±0 ,004	0,36±0 ,005	1,54±0 ,03	0,28±0 ,004	0,38±0 ,006
Неідентифікована кислота		11,90± 0,24	1,30±0 ,03	4,05±0 ,08	0,50±0 ,007	5,70±0 ,11	8,35±0 ,17	4,06±0 ,08	6,22±0 ,12
Лігноцеринова (тетракозанаова)	С 24:0	—	—	—	—	—	—	1,18±0 ,02	0,12±0 ,001
Сума насичених жирних кислот		23,08± 0,46	10,92± 0,22	38,13± 0,76	10,45± 0,21	52,39± 1,05	27,27± 0,55	38,44± 0,77	44,12± 0,88
Сума ненасичених жирних кислот		67,74± 1,36	87,30± 1,75	57,37± 1,15	88,78± 1,78	41,55± 0,83	59,24± 1,19	57,22± 1,14	49,28± 0,99
Сума неідентифікованих кислот		12,18± 0,24	1,78±0 ,04	4,50±0 ,09	0,77±0 ,01	6,06±0 ,12	13,49± 0,27	4,34±0 ,09	6,60±0 ,13

Примітка. «—» – сполука не знайдена.

Аналізуючи одержані результати (табл. 3.25), встановлено, що у листі, суцвіттях і стеблах ельшольції в'їмчастої виявлено по 14 жирних кислот, серед яких ідентифіковано 12, у траві – 12 та 10 відповідно. В усіх досліджуваних зразках сировини встановлено наявність як насичених, так і ненасичених жирних кислот. Серед насичених жирних кислот найбільший вміст мала пальмітинова, а серед ненасичених – ліноленова кислота. Вміст суми ненасичених жирних кислот в усіх видах сировини ельшольції в'їмчастої був вищий, ніж суми насичених жирних кислот у 1,5–8,5 рази [159].

Результати вивчення жирнокислотного складу сировини ельшольції Стаунтона (табл. 3.25) показали, що у листі виявлено 14, у суцвіттях, стеблах і траві – по 15 жирних кислот, серед яких у листі та суцвіттях ідентифіковано по 12, у стеблах і траві – по 13 кислот відповідно. У суцвіттях, стеблах і траві ельшольції Стаунтона за вмістом домінували ненасичені жирні кислоти, а у листі – насичені. Серед насичених жирних кислот у більшій кількості містилася пальмітинова кислота. Серед ненасичених жирних кислот у листі, суцвіттях і траві домінувала ліноленова ($21,30 \pm 0,43$ %, $18,85 \pm 0,38$ % і $22,32 \pm 0,45$ % відповідно), а у стеблах – ліолева кислота ($23,60 \pm 0,47$ %). У суцвіттях, стеблах і траві за вмістом домінували ненасичені жирні кислоти, а у листі – насичені [159].

Аналізуючи одержані дані, встановлено, що у сировині як ельшольції в'їмчастої, так і ельшольції Стаунтона переважно у більшій кількості містяться ненасичені жирні кислоти, що дозволяє прогнозувати антисклеротичну, гіпотензивну, кардіопротекторну, антиаритмічну та протизапальну активності досліджуваних видів сировини.

3.11 Дослідження фітостеролів

Рослинні фітостерини виявляють протизапальні та імуномодулювальні властивості. Вони знижують рівень загального холестерину та ліпопротеїдів низької щільності в плазмі крові, пригнічуючи їх всмоктування з тонкого кишечника, виявляють захисну активність проти раку, зменшуючи ризики виникнення раку молочної й передміхурової залоз та товстого кишечника [96, 97, 123, 153].

Результати досліджень фітостеролів у сировині ельшольції в'їмчастої та ельшольції Стаунтона наведені на рис. 3.47-3.48 і в таблиці 3.26.

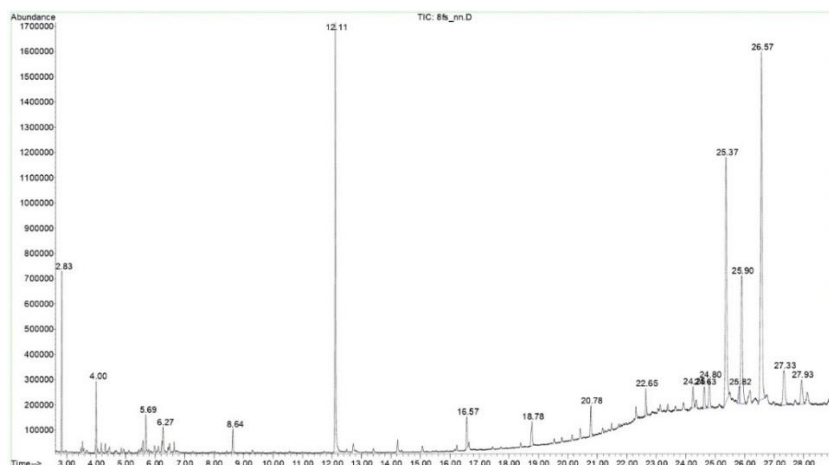


Рис. 3.47 ГХ/МС-хроматограма фітостеролів трави ельшольції війчастої.

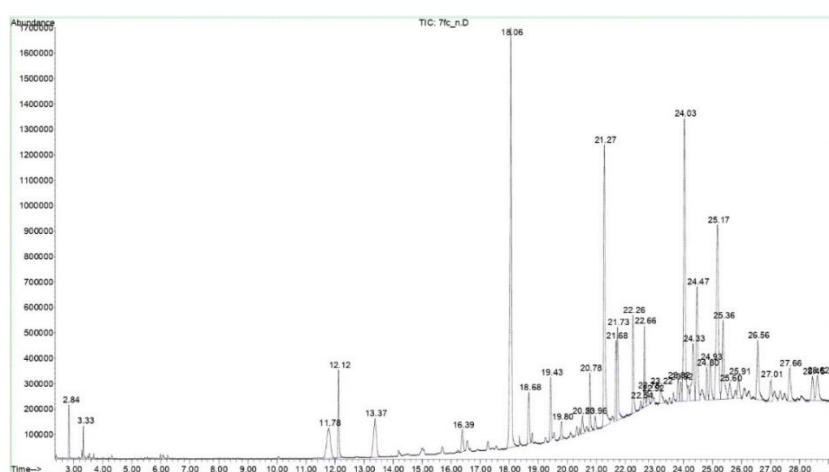


Рис. 3.48 ГХ/МС-хроматограма фітостеролів трави ельшольції Стаунтона.

Таблиця 3.26

Вміст фітостеролів у траві ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона

№ з/п	Назва сполуки	Час утриму- вання, хв	Вміст, мг/г	
			трава ельшоль- ції війчастої	трава ельшоль- ції Стаунтона
1	2	3	4	5
1	γ-Ситостерол	24,03; 25,36	0,580±0,004	3,302±0,019
2	Кампестерол	24,25	0,047±0,0003	—

1	2	3	4	5
3	3,5-Дегідро-стигмастан-6,22-дієн	24,62	0,048±0,0003	—
4	Стигмаст-4-єн-3-он	27,35	0,110±0,0007	—
5	Урс-20-єн-3-ол (3.α., 18.α., 19.α.)	27,92	0,080±0,0005	—
6	9,19-циклоланост-24-єн-3-ол ацетат (3.β.)	28,57	—	0,344±0,02
Загальний вміст			0,865±0,013	3,646±0,073

Примітка. «—» – сполука не знайдена.

У результаті дослідження встановлено, що у траві ельшольції вічної було ідентифіковано 5 сполук, а в траві ельшольції Стаунтона лише 2. Більше фітостеролів накопичувалося в траві ельшольції Стаунтона – 3,646±0,073 мг/г у порівнянні з травою ельшольції вічної – 0,865±0,013 мг/г. Серед ідентифікованих сполук переважав γ-ситостерол, вміст якого складав у траві ельшольції Стаунтона – 3,302±0,019 мг/г та у траві ельшольції вічної – 0,580±0,004 мг/г [36].

3.12 Дослідження летких сполук

Ефірну олію використовують у парфумерно-косметичній, фармацевтичній, харчовій та інших галузях промисловості. Компоненти ефірних олій виявляють широкий спектр фармакологічної активності, зокрема антибактеріальну, заспокійливу, репаративну, відхаркувальну тощо [138]. Оскільки представники роду Ельшольції відомі як ефіроолійні рослини, доцільним було провести порівняльне дослідження летких сполук ельшольції вічної та ельшольції Стаунтона, вирощених на території України.

Визначення летких сполук у сировині ельшольції вічної та ельшольції Стаунтона проводили методом ГХ/МС [5, 23]. Результати вивчення летких сполук сировини ельшольції вічної наведені на рис. 3.49-3.51 і у таблиці 3.27-3.29.

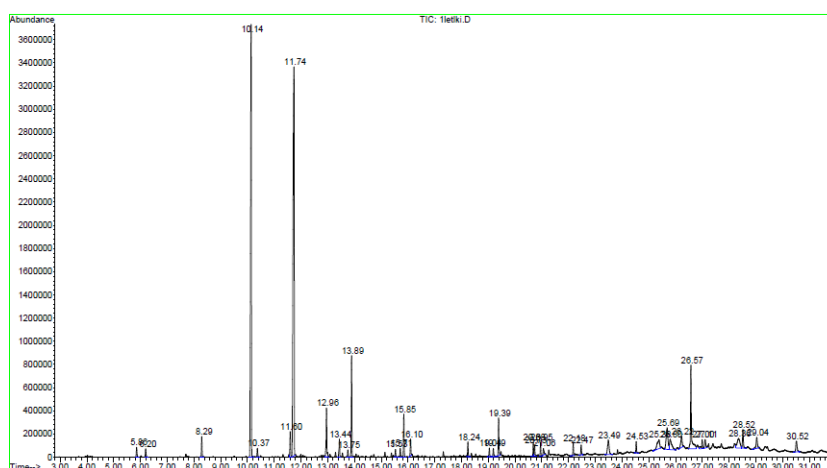


Рис. 3.49 ГХ/МС-хроматограма летких сполук листя ельшольції війчастої.

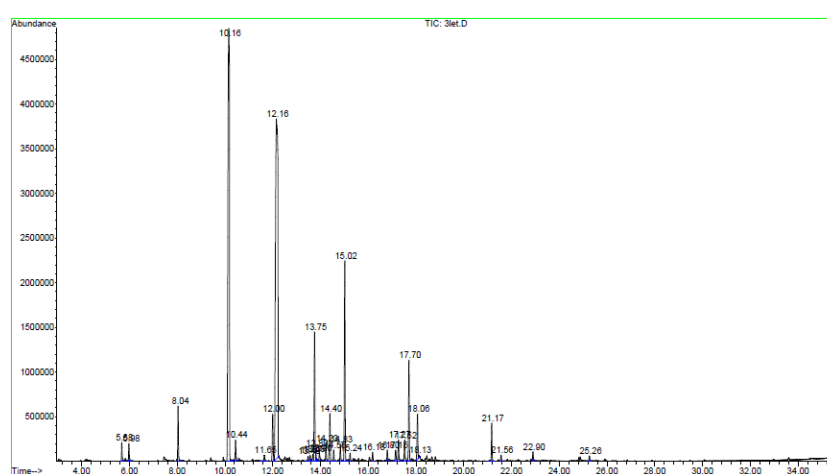


Рис. 3.50 ГХ/МС-хроматограма летких сполук суцвіть ельшольції війчастої.

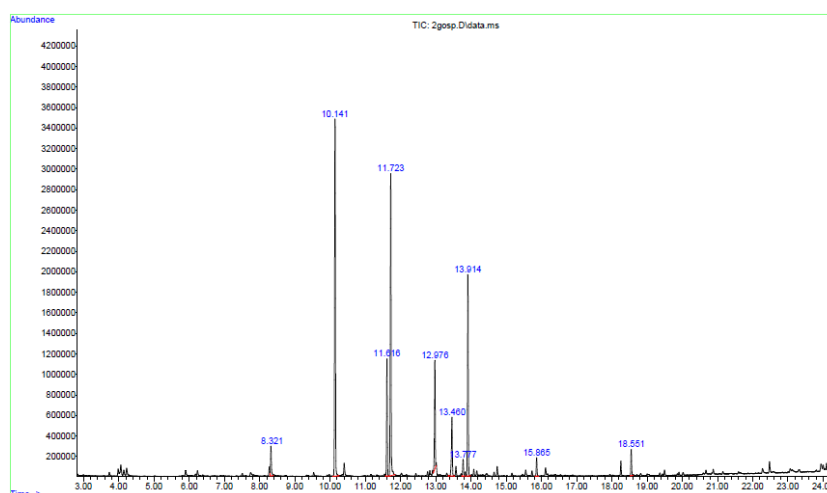


Рис. 3.51 ГХ/МС-хроматограма летких сполук трави ельшольції війчастої.

**Хроматографічні параметри визначення летких сполук
листя ельшольції війчастої**

№	Сполука	Час утримування, хв	Площа піку*	Вміст, мкг/г
1	2	3	4	5
1	1-октен-3-ол	5,86	1495344	7,38±0,15
2	3-октанол	6,2	1232663	6,09±0,12
3	3,7-диметил-1,6-октадієн-3-ол	8,29	2888356	14,26±0,29
4	Ельшольціакетон	10,16	83081866	410,14±8,20
5	о-аміно-фенол	10,37	1255598	6,20±0,12
6	Дегідроельшольціакетон	11,74	105016495	518,43±10,37
7	[1S-(1-α-,3α-α-,3b-β-,6a-β-,6b-α-)]-декагідро-3a-метил-6-метилен-1-(1-метилетил)-цикло-бута[1,2:3,4]дициклопентен	12,95	8018424	39,58±0,79
8	Каріофілен	13,44	2846133	14,05±0,28
9	[s-E,E]-1-метил-5-метилен-8-(1-метилетил)-1,6-циклодекадієн	13,75	968216	4,78±0,10
10	α-Каріофілен	13,89	13424695	66,27±1,33
11	Каріофілен оксид	15,53	1007434	4,97±0,10
12	1-(1-гідроксобутил)-1,2-дигідропіридин	15,71	1572967	7,77±0,16
13	1,5,5,8-тетраметил-[1R-(1R*,3E,7E,11R*)]-12-гідроксобіцикло[9.1.0]додека-3,7-дієн	15,85	6013904	29,69±0,59
14	транс-Z-α-бісаболен епоксид	16,1	2426119	11,98±0,24
15	6,10,14-триметил-2-пентадеканон	18,24	1938854	9,57±0,19
16	Метилловий естер гексадеканової кислоти	19,04	1260873	6,22±0,12
17	Z-11-гексадеканова кислота	19,19	1385183	6,84±0,14
18	n-гексадеканова кислота	19,39	5504450	27,17±0,54

1	2	3	4	5
19	(Z,Z)-метиловий естер 9,12-октадеканової кислоти	20,68	1801458	8,89±0,18
20	транс-13-метилоктадеканова кислота	20,73	1519398	7,50±0,15
21	Метиловий естер октадеканової кислоти	20,96	1765319	8,71±0,17
22	цис-9-гексадеканова кислота	21,06	1368431	6,76±0,14
23	(all-Z)-метиловий естер 5,8,11,14-ейкозатет-раєнова кислота	22,18	1620329	8,00±0,16
24	Метиловий естер цис-11,14-ейкозадієнової кислоти	22,47	1451880	7,17±0,14
25	(3β)-холест-5-єн-3-ол	25,69	8479614	41,860,84
26	(all-E)-2,6,10,15,19,23-гексаметил-2,6,10,14, 18,22-тетракозагексен	26,58	17220831	85,01±1,70
27	Ейкозан	30,52	3238515	15,99±0,32

Примітка. «*» – середнє значення, n=3.

Таблиця 3.28

**Хроматографічні параметри визначення летких сполук
суцвіть ельшольції вйчастої**

№	Сполука	Час утриму- вання, хв	Площа пі- ку*	Вміст, мкг/г
1	2	3	4	5
1	1-октен-3-ол	5,68	3927662	12,85±0,26
2	3-октанол	5,98	3535737	11,57±0,23
3	3,7-диметил-1,6-октадієн-3-ол	8,04	11452369	37,46±0,75
4	Ельшольціакетон	10,16	213373113	697,95±13,96
5	Дегідроельшольціакетон	12,11	259756130	849,67±16,99
6	α-Кубебен	13,48	1230199	4,02±0,08

1	2	3	4	5
7	Копаєн	13,56	1266810	4,14±0,08
8	(E)-1-(2,6,6-триметил-1,3-циклогексидієн-1-іл)-2-бутен-1-он	13,68	1331590	4,36±0,09
9	[1S-(1-α-,3a-α-,3b-β-,6a-β-,6b-α-)]-декагідро-3a-метил-6-метилен-1-(1-метилетил)-цикло-бута[1,2:3,4]дициклопентен	13,75	33132736	108,38±2,17
10	1-етил-3,5-диметилбензен	14,23	4030559	13,18±0,26
11	Каріофілен	14,41	12286656	40,19±0,80
12	1H-[3aS-(3a-α-,3b-β-,4-β-,7-α-,7aS*)]-октагід-ро-7-метил-3-метилен-4-(1-метилетил)-цикло-пента[1,3]циклопропа[1,2]бензен	14,55	2399832	7,85±0,16
13	[s-E,E]-1-метил-5-метилен-8-(1-метилетил)-1,6-циклодекадієн	14,83	3873041	12,67±0,25
14	α-Каріофілен	15,01	47275022	154,64±3,09
15	(1S-цис)-1,2,3,5,6,8a-гексагідро-4,7-диметил-1-(1-метилетил)-нафтален	16,19	1925137	6,30±0,13
16	Неролідол-2	16,80	2236149	7,31±0,15
17	(-)-спатуленол	17,17	3229303	10,56±0,21
18	Каріофіленоксид	17,28	5654013	18,49±0,37
19	o-мент-8-ен	17,71	23315791	76,27±1,53
20	3,4-диметил-3-циклогексен-1-карбоксальдегід	18,06	11639620	38,07±0,76
21	6,10,14-триметил-2-пентадеканон	21,17	7922399	25,91±0,52

Примітка. «*» – середнє значення, n=3.

**Хроматографічні параметри визначення летких сполук
трави ельшольції війчастої**

№	Сполука	Час утри- муван- ня, хв	Площа піку*	Вміст, мкг/г
1	3,7-диметил-1,6-октадієн-3-ол	8,32	4935299	4,86±0,10
2	Ельшольціакетон	10,14	58436298	57,52±1,1 5
3	Дегідроельшольціакетон	11,72	50519883	49,73±0,9 9
4	[1S-(1-α-,3a-α-,3b-β-,6a-β-,6b-α-)]-декагідро- 3a-метил-6-метилен-1-(1-метилетил)- циклобута [1,2:3,4]дициклопентен	12,97	16101661	15,85±0,3 2
5	Каріофілен	13,48	10274253	10,11±0,2 0
6	[s-E,E]-1-метил-5-метилен-8-(1-метилетил)- 1,6-циклодекадієн	13,77	2631757	2,59±0,05
7	α-Каріофілен	13,91	31681371	31,19±0,6 2

Примітка. «*» – середнє значення, n=3.

Аналіз одержаних даних показав, що склад летких сполук сировини ельшольції війчастої значно відрізняється: у листі ідентифіковано 27, у суцвіттях – 21, у траві – 7 сполук. В усіх видах сировини домінуючими сполуками були ельшольціакетон і дегідроельшольціакетон, вміст яких у листі склав 410,14±8,20 мкг/г і 518,43±10,37 мкг/г, у суцвіттях – 697,95±13,96 мкг/г і 849,67±16,99 мкг/г, у траві – 57,52±1,15 мкг/г і 49,73±0,99 мкг/г відповідно. Також у великій кількості у листі визначено вміст (all-E)-2,6,10,15,19,23-

гексаметил-2,6,10,14,18,22-тетракозагексену ($85,01 \pm 1,70$ мкг/г) і α -каріофілену ($66,27 \pm 1,33$ мкг/г), у суцвіттях – α -каріофілену ($154,64 \pm 3,09$ мкг/г) і [1S-(1- α -, 3a- α -, 3b- β -, 6a- β -, 6b- α -)]-декагідро-3a-метил-6-метилен-1-(1-метилетил)-циклобута[1,2:3,4]дициклопентену ($108,38 \pm 2,17$ мкг/г), у траві – α -каріофілену ($31,19 \pm 0,62$ мкг/г).

Результати вивчення летких сполук сировини ельшольції Стаунтона наведені на рис. 3.52-3.54 і у таблиці 3.30-3.32.

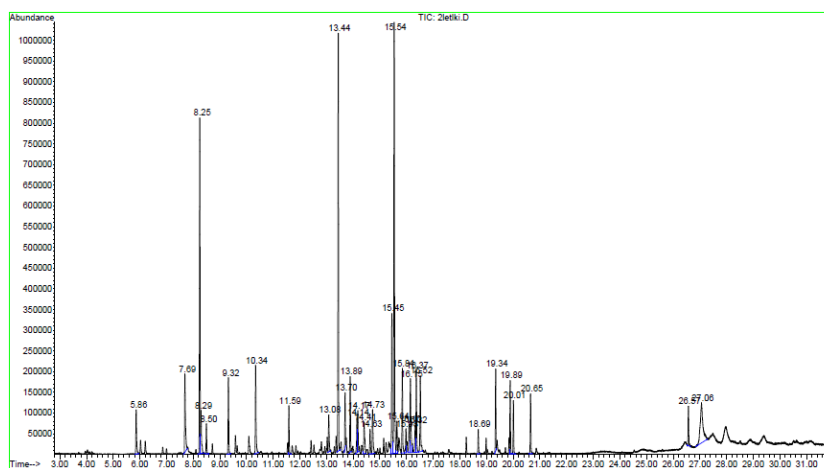


Рис. 3.52 ГХ/МС-хроматограма летких сполук листа ельшольції Стаунтона.

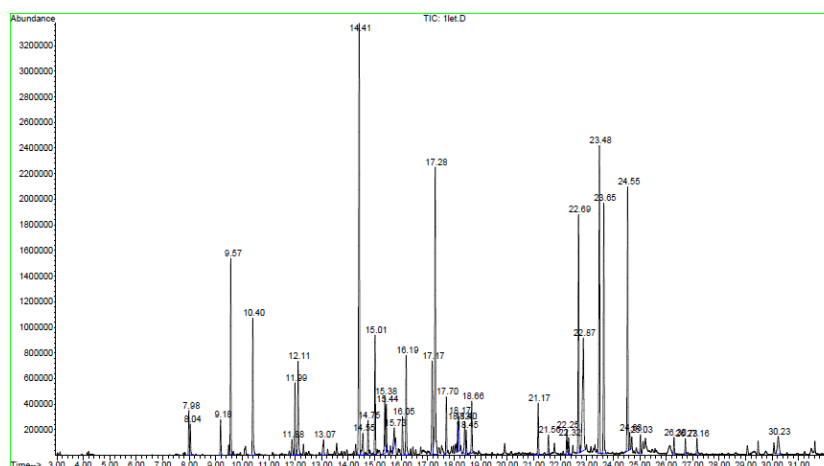


Рис. 3.53 ГХ/МС-хроматограма летких сполук суцвіть ельшольції Стаунтона.

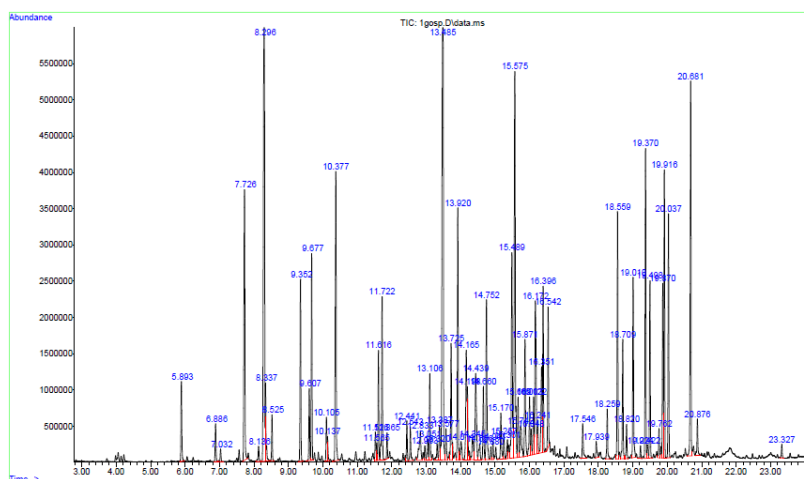


Рис. 3.54 ГХ/МС-хроматограма летких сполук трави ельшольції Стаунтона.

Таблиця 3.30

**Хроматографічні параметри визначення летких сполук
листя ельшольції Стаунтона**

№	Сполука	Час утриму- вання, хв	Площа піку*	Вміст, мкг/г
1	2	3	4	5
1	1-октен-3-ол	5,86	2133100	16,63±0,33
2	Ацетофенон	7,69	4170193	32,51±0,64
3	<i>m-tert</i> -бутилфенол	8,25	12864079	100,29±2,0 1
4	3,7-диметил-1,6-октадієн-3-ол	8,29	2045616	15,95±0,32
5	1-октен-3-ил-ацетат	8,5	1150525	8,97±0,18
6	2-етил-5-метил-фуран	9,32	3041355	23,71±0,47
7	Фурфураль	10,34	4007322	31,24±0,63
8	(Z)-3-метил-2-(2-пентенил)-2-циклопентен-1-он	13,08	1667919	13,00±0,26
9	Каріофілен	13,44	16143982	125,86±2,5 2

1	2	3	4	5
10	Декагідро-1,1,7-триметил-4-метилен-1Н-цикло-проп[е]азулен	13,7	2023032	15,77±0,32
11	α-Каріофілен	13,89	2729498	21,28±0,43
12	(1α-,4α-,8α-)-1,2,3,4,4а,5,6,8а-октагідро-7-метил-4-метилен-1-(1-метилетил)-нафта-лен	14,14	1417055	11,05±0,22
13	1-(1,5-диметил-4-гексенил)-4-метил-бензен	14,17	1661633	12,95±0,26
14	[1aR-(1α-,4α-,4аβ-,7bα-)]-1а,2,3,4,4а,5,6,7b-октагідро-1,1,4,7-тетраметил-1Н-цикло-проп [е]азулен	14,41	1865464	14,54±0,29
15	1,2,4а,5,6,8а-гексагідро-4,7-диметил-1-(1-метил-етил)-нафта-лен	14,63	1056665	8,24±0,17
16	1,2,3,5,6,8а-гексагідро-4,7-диметил-1-(1-метил-етил)-нафта-лен	14,73	2349517	18,32±0,37
17	[1aг-(1α-,4α-,7β-,7аβ-,7bα-)]-декагідро-1,1,7-триметил-4-метилен-1Н-циклопроп [е]азулен-7-ол	15,45	6401926	49,91±0,10
18	Каріофіленоксид	15,54	20707241	161,44±3,2 3
19	1,4-диметил-3-(2-метил-1-пропен-1-ил)-4-вініл-1-циклогептен	15,64	1474497	11,50±0,23
20	[1R-(1R*,3E,7E,11R*)]-1,5,5,8-тетраметил-12-гідрокса[9.1.0]додека-3,7-дієн	15,84	3459277	26,97±0,54
21	1-(1Н-імідазол-4-ил)-4-пентен-1-он	20,01	1903284	14,84±0,30
22	(all-E)-2,6,10,15,19,23-гексаметил-2,6,10,14,18, 22-тетракозагексен	26,57	1613765	12,58±0,25

Примітка. «*» – середнє значення, n=3.

**Хроматографічні параметри визначення летких сполук
суцвіть ельшольції Стаунтона**

№	Сполука	Час утри- муван- ня, хв	Площа піку*	Вміст, мкг/г
1	2	3	4	5
1	4-(1-метилетил)-бензенметанол	7,98	5971752	18,44±0,37
2	3,7-диметил-1,6-октадієн-3-ол	8,04	4563294	14,09±0,28
3	2-(2-пропеніл)-біцикло[2.2.1]гептан	9,18	5187042	16,02±0,32
4	<i>транс,цис</i> -1,7-диметилспіро[4.5]декан	9,56	27862483	86,05±1,72
5	2-етил-1Н-імідазол	10,4	21781243	67,27±1,35
6	Тимол	11,85	2937697	9,07±0,18
7	Дегідроельшольціакетон	12,11	15824164	48,87±0,98
8	Каріофілен	14,41	79459018	245,40±4,9 1
9	[3aS-(3aα-,3bβ-,4β-,7α-,7aS*)]-октагідро-7-метил-3-метилен-4-(1-метилетил)-1Н-циклопента[1,3] циклопропа[1,2]бензен	14,55	4762578	14,71±0,29
10	[1aR-(1a-α-,4a-α-,7-α-,7a-β-,7b-α-)]-декагідро-1,1,7-триметил-4-метилен-1Н-циклопроп[е]азу-лен	14,75	5146282	15,89±0,32
11	α-Каріофілен	15,01	18208629	56,24±1,13
12	Іланген	15,38	9179094	28,35±0,57
13	1-(1,5-диметил-4-гексеніл)-4-метил-бензен	15,44	6554936	20,24±0,41
14	3,3,7,7-тетраметил-5-(2-метил-1-пропеніл)-три-цикло[4.1.0.0(2,4)]гептан	15,73	3765828	11,63±0,23

1	2	3	4	5
15	1,2,4а,5,6,8а-гексагідро-4,7-диметил-1-(1-метил-етил)-нафтален	16,05	6479146	20,01±0,40
16	(1S- <i>цис</i>)-1,2,3,5,6,8а-гексагідро-4,7-диметил-1-(1-метилетил)-нафтален	16,19	17214138	53,16±1,06
17	(–)-спатуленол	17,17	15982908	49,36±0,99
18	Каріофіленоксид	17,28	52709514	162,79±3,2 6
19	о-мент-8-ен	17,71	8831730	27,28±0,55
20	(+)-епі-біциклосесквіфеландрен	18,17	6218029	19,20±0,38
21	α-Кадінол	18,4	5785419	17,87±0,36
22	Ізоаромадендрен епоксид	18,66	8512229	26,29±0,53
23	6,10,14-триметил-2-пентадеканон	21,17	7817606	24,14±0,48
24	(4аS- <i>транс</i>)-4а,9,10,10а-тетрагідро-6-гідрокси-1,1,4а-триметил-7-(1-метилетил)-2(1H)-фенантрон	22,25	3758177	11,61±0,23
25	Метиловий естер гексадеканової кислоти	22,32	2690615	8,31±0,17
26	Етиловий естер 3-(2,2,6-триметилбіцикло [4.1.0]гепт-1-ил)-3-гідроксипропанова кислота	23,65	40288265	124,43±2,4 9
27	Метиловий естер (all-Z)-5,8,11,14-ейкозатетраєнова кислота	26,73	2264900	6,99±0,14
28	Метиловий естер <i>цис</i> -11,14-ейкозадієнова кислота	27,16	2559015	7,90±0,16
29	Холеста-3,5-дієн	30,23	6102480	18,85±0,38

Примітка. «*» – середнє значення, n=3.

**Хроматографічні параметри визначення летких сполук
трави ельшольції Стаунтона**

№	Сполука	Час утриму- вання, хв	Площа пі- ку*	Вміст, мкг/г
1	2	3	4	5
1	2-гептанон	4,05	317080	0,20±0,003
2	1-октен-3-ол	5,89	19415471	12,52±0,25
3	1-метил-4-(1-метилетил)-бензен	6,88	9025896	5,82±0,12
4	Евкаліптол	7,03	3317080	2,14±0,04
5	1-метил-4-(1-метилетил)-1,4-циклогекса- дієн	7,56	329247	0,21±0,003
6	Ацетофенон	7,72	75104368	48,43±0,97
7	<i>цис</i> -Ліналолоксид	8,13	4269158	2,75±0,06
8	4-(1-метилетил)-бензенметанол	8,29	157342688	101,45±2,0 3
9	Октен-1-ол ацетат	8,52	9373135	6,04±0,12
10	α -, α -,4-триметил-бензенметанол	9,87	765849	0,49±0,01
11	β -метил-бензенпропанол	10,1	9448536	6,09±0,12
12	Октагідро-5-гідрокси-8 α -метил-1(2H)-наф- таленон	10,95	3505634	2,26±0,05
13	Дегідроельшольціакетон	11,72	41034618	26,46±0,53
14	(Z)-3,7-диметил-2,6-октадієн-1-ол ацетат	12,54	8546440	5,51±0,11
15	Копаєн	12,83	14577248	9,40±0,19
16	(Z)-3-метил-2-(2-пентенил)-2-циклопентен- 1-он	13,1	21332734	13,75±0,28
17	Каріофілен	13,48	177246586	114,28±2,2 8

1	2	3	4	5
18	[3aS-(3a- α -,3b- β -,4- β -,7- α -)]-октагідро-7-метил-3-метилен-4-(1-метилетил)-1H-циклопента[1,3] циклопропа[1,2]бензен	13,57	8468959	5,46 $\pm$ 0,11
19	[1aR-(1a α -,4a α -,7 α -,7a β -,7b β -)]-декагідро-1,1,7-триметил-4-метилен-1H-циклопроп[е]азулен	13,72	344469	0,22 $\pm$ 0,003
20	α -Каріофілен	13,91	54799775	35,33 $\pm$ 0,71
21	(1 α -,4a α -,8a α -)-1,2,3,4,4a,5,6,8a-октагідро-7-метил-4-метилен-1-(1-метилетил)-нафтален	14,16	30910204	19,93 $\pm$ 0,40
22	Евдесма-4(14),11-дієн	14,34	8570443	5,53 $\pm$ 0,11
23	[1S-(1 α -,4 α -,7 α -)]-1,2,3,4,5,6,7,8-октагідро-1,4,9,9-тетраметил-4,7-метаноазулен	14,43	33280563	21,46 $\pm$ 0,43
24	1,2,4a,5,6,8a-гексагідро-4,7-диметил-1-(1-метилетил)-нафтален	14,66	17451472	11,25 $\pm$ 0,23
25	(1S- <i>цис</i>)-1,2,3,5,6,8a-гексагідро-4,7-диметил-1-(1-метилетил)-нафтален	14,75	41714890	26,90 $\pm$ 0,54
26	1,2,3,4,4a,7-гексагідро-1,6-диметил-4-(1-метилетил)-нафтален	14,88	2963557	1,91 $\pm$ 0,04
27	(1 α -,4a α -,8a α -)-1,2,4a,5,6,8a-гексагідро-4,7-диметил-1-(1-метилетил)-нафтален	14,91	4651980	3,00 $\pm$ 0,05
28	Епіглобулол	15,25	6111571	3,94 $\pm$ 0,08
29	[1a α -(1a α -,4a α -,7 β -,7a β -,7b α -)]-декагідро-1,1,7-триметил-4-метилен-1H-циклопроп[е]азулен-7-ол	15,48	60210055	38,82 $\pm$ 0,78
30	Каріофілен оксид	15,57	119602279	77,12 $\pm$ 1,54
31	<i>цис</i> - α -сантаолол	15,74	14084281	9,08 $\pm$ 0,18
32	[2R-(2 α -,4a α -,8a β -)]-декагідро- α -, α -,4a-триметил-8-метилен-2-нафталенметанол	16	14490462	9,34 $\pm$ 0,19

Продовж. табл. 3.32

1	2	3	4	5
33	3,4-диметил-3-циклогексен-1-карбоксальдегід	16,12	15975761	10,30±0,21
34	Копаєн	16,21	7801049	5,03±0,10
35	α-Кадінол	16,35	23557490	15,19±0,30
36	2-етилгексиловий естер бензойної кислоти	16,88	347956	0,22±0,003
37	Бензилбензоат	17,54	9799650	6,32±0,13
38	6,10,14-триметил-2-пентадеканон	18,25	11862903	7,65±0,15
39	Гомозалат	18,82	7896406	5,09±0,10
40	Фітол	20,87	9350345	6,03±0,12

Примітка. «*» – середнє значення, n=3.

У результаті проведеного дослідження у сировині ельшольції Стаунтона ідентифіковано: у листі – 22, у суцвіттях – 29, у траві – 40 сполук. В усіх досліджуваних видах сировини за кількісним вмістом домінували каріофілен (125,86±±2,52 мкг/г, 245,40±4,91 мкг/г і 114,28±2,28 мкг/г відповідно) і каріофіленоксид (161,44±3,23 мкг/г, 162,79±3,26 мкг/г і 77,12±1,54 мкг/г відповідно). Також у листі ельшольції Стаунтона у великій кількості визначено *m-tert*-бутилфенол (100,29±2,01 мкг/г), у суцвіттях – етиловий естер 3-(2,2,6-триметилбіцикло[4.1.0]гепт-1-ил)-3-гідроксипропанова кислота (124,43±2,49 мкг/г), у траві – 4-(1-метилетил)-бензенметанол (101,45±2,03 мкг/г).

Оскільки у сировині ельшольції в'їчастої домінуючими сполуками були ельшольціакетон і дегідроельшольціакетон, а у сировині ельшольції Стаунтона – каріофілен і каріофілен оксид, їх можна вважати речовинами-маркерами для досліджуваних видів сировини ельшольції.

3.13 Дослідження елементного складу

Мінеральні речовини не є обов'язковим компонентом харчування, але їх значення в організмі дуже важливе й різноманітне. Вони є структурною та функціональною основою існування живих систем, забезпечують нормальний перебіг численних метаболічних процесів, підтримання показників гомеостазу організму – осмотичного тиску, кислотно-лужної рівноваги, стимулюють нормальне функціонування серцево-судинної, нервової та м'язової систем, кровотворення та енергетичні процеси [74, 80].

Визначення мінеральних речовин проводили методом РФМ [52]. Результати дослідження елементного складу сировини ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона наведені у таблиці 3.33.

Як видно з табл. 3.33, методом РФМ в об'єктах дослідження виявлено і визначено вміст 16 елементів. Найбільший вміст в обох видах мали три елементи – калій, кальцій та сульфур. Хлор містився в усіх частинах ельшольції війчастої, а в ельшольції Стаунтона даний елемент ідентифіковано лише у траві. Також у сировині ельшольції Стаунтона не виявлено такі елементи, як Co, Ni, Zr та Pb. Також встановлено, що вміст елементів у різних частинах досліджуваної сировини значно відрізнявся. Для ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона калій у найбільшій кількості накопичувався у суцвіттях, найменше – у листях; найвищий вміст кальцію визначений у листі обох видів рослин, а вміст сульфур у відрізнявся незначно для усіх досліджуваних об'єктів. Цинк у значній кількості накопичувався у траві ельшольції Стаунтона, а його вміст у листях і суцвіттях був вдвічі нижчий. У ельшольції війчастої даний елемент містився у максимальній кількості у листі. Ферум переважав у траві та листі обох досліджуваних видів ельшольції. Манган у найбільшій кількості містився у траві ельшольції війчастої та у суцвіттях ельшольції Стаунтона [35, 41]. Вміст важких металів знаходився в межах вимог гранично допустимих концентрацій для сировини та харчових продуктів [54].

**Елементний склад сировини ельшольції війчастої та
ельшольції Стаунтона**

Еле- мент	Вміст елемента в досліджуваному зразку, мкг/г					
	Концентрація (M±m) (на суху сировину)					
	ельшольція війчаста			ельшольція Стаунтона		
	листя	суцвіття	трава	листя	суцвіття	трава
K	5189,92±201 ,34	8878,67±237 ,32	7153,74±226 ,47	5734,34±203 ,79	7799,85±242 ,07	7027,07±232 ,42
Ca	5815,12±162 ,91	3644,50±116 ,23	5076,78±145 ,84	7107,20±173 ,43	2553,57±105 ,88	6967,77±176 ,92
S	2734,58±601 ,53	3202,34±586 ,84	2635,73±566 ,25	2583,01±490 ,09	2095,24±450 ,13	2041,78±449 ,13
Cl	441,10±90,2 5	606,43±95,3 6	562,48±97,5 9	—	—	356,69±80,4 3
Fe	118,66±5,54	72,45±3,90	148,06±5,93	59,07±3,76	36,87±3,03	64,71±4,06
Zn	39,25±2,32	31,23±1,87	32,13±23,01	18,87±1,55	22,21±1,71	41,60±2,37
Sr	28,66±1,21	18,84±0,89	26,43±1,12	45,42±1,47	15,29±0,87	36,25±1,35
Cu	5,83±0,94	5,02±,79	7,96±1,05	2,46±0,59	5,61±0,91	6,04±0,95
Br	2,38±0,41	1,81±0,32	1,99±0,35	4,36±0,53	3,14±0,46	5,31±0,60
Cr	2,01±0,61	—	3,17±0,73	3,17±0,73	2,70±0,69	3,96±0,84
Mn	5,97±1,09	7,44±1,09	8,10±1,21	3,67±0,82	3,82±0,85	3,54±0,83
Rb	2,75±0,37	2,30±0,31	3,58±0,40	1,24±0,24	2,65±0,36	1,19±0,24
Co	3,68±0,85	2,81±0,67	2,40±0,65	—	—	—
Ni	2,72±0,71	1,36±0,45	2,70±0,67	—	—	—
Zr	1,85±0,29	—	3,06±0,36	—	—	—
Pb	—	—	2,22±0,43	—	—	—
Су- мар- ний вміст	14394,48±28 7,89	16475,20±32 9,50	15670,53±31 3,41	15562,81±31 1,26	12540,95±25 0,82	16555,91±33 1,12

Примітка. «—» – сполука не знайдена.

За кількісним вмістом елементи переважали у суцвіттях ельшольції в'ійчастої та у траві ельшольції Стаунтона. Найвищий сумарний вміст елементів спостерігався у траві ельшольції Стаунтона $16555,91 \pm 331,12$ мкг/г, у листі він становив $15562,81 \pm 311,26$ мкг/г, а у суцвіттях визначено найменший сумарний вміст – $12540,95 \pm 250,82$ мкг/г. Для сировини ельшольції в'ійчастої визначено такі показники сумарного вмісту елементів: у суцвіттях він був найвищий – $16475,20 \pm 329,50$ мкг/г, у траві – $15670,53 \pm 313,41$ мкг/г, найменший вміст спостерігався у листі – $14394,48 \pm 287,89$ мкг/г [35, 41].

Висновки до розділу 3

1. За допомогою хімічних реакцій, ПХ та ТШХ проведено вивчення якісного складу БАР сировини ельшольції в'ійчастої та ельшольції Стаунтона. Встановлено наявність амінокислот, полісахаридів, органічних і гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, антоціанів, танінів, хлорофілів і каротиноїдів.

2. Визначено склад вільних і зв'язаних моносахаридів методом ПХ. У вільному стані у траві ельшольції в'ійчастої та ельшольції Стаунтона встановлено наявність глюкози, у гідролізаті полісахаридів – глюкозу, галактозу, ксилозу та фруктозу. У гідролізаті фракції ВРПС трави ельшольції в'ійчастої виявлено манозу, глюкозу, ксилозу та фруктозу, у фракції ПР – рамнозу, манозу, глюкозу та ксилозу, у фракції ГЦ А – арабінозу, галактозу, рамнозу, манозу, глюкозу, ксилозу та фруктозу, у фракції ГЦ Б – арабінозу, галактозу, рамнозу, глюкозу та ксилозу. У гідролізаті фракції ВРПС трави ельшольції Стаунтона ідентифіковано арабінозу, рамнозу і манозу, у фракції ПР – рамнозу, манозу, глюкозу, ксилозу та фруктозу, фракції у ГЦ А – арабінозу, рамнозу та ксилозу, у фракції ГЦ Б – арабінозу, рамнозу, ксилозу та фруктозу.

3. Методом ПХ і ТШХ проведено вивчення вільних органічних і гідроксикоричних кислот та флавоноїдів у траві ельшольції в'ійчастої та ельшольції Стаунтона. У результаті хроматографічного аналізу в обох зразках сировини ідентифіковано: серед органічних – яблучну, лимонну, аскорбінову та щавлеву кислоти; серед гідроксикоричних – хлорогенову, кофейну та розмаринову кислоти; серед

флавоноїдів – у траві ельшольції війчастої рутин, у траві ельшольції Стаунтона – гіперозид.

4. У сировині ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона визначено вміст ідентифікованих сполук:

- амінокислот, %: у траві ельшольції війчастої – $0,54 \pm 0,02$, у траві ельшольції Стаунтона – $0,59 \pm 0,03$;
- протеїну, %: у траві ельшольції війчастої – $9,87 \pm 0,66$, у траві ельшольції Стаунтона – $13,11 \pm 0,87$;
- полісахаридів, %: у листі ельшольції війчастої – $13,29 \pm 0,90$, у суцвіттях – $5,59 \pm 0,38$, у траві – $8,54 \pm 0,58$, у стеблах – $1,65 \pm 0,11$; у листі ельшольції Стаунтона – $9,10 \pm 0,64$, у суцвіттях – $9,82 \pm 0,69$, у траві – $10,88 \pm 0,76$, у стеблах – $3,65 \pm 0,26$;
- клітковини, %: у траві ельшольції війчастої – $17,13 \pm 1,09$, у траві ельшольції Стаунтона – $21,78 \pm 1,34$;
- органічних кислот, %: у траві ельшольції війчастої – $4,43 \pm 0,34$, у траві ельшольції Стаунтона – $7,32 \pm 0,56$;
- аскорбінової кислоти, мг/100 г: спектрофотометричним методом – у траві ельшольції війчастої – $38,80 \pm 1,61$, у траві ельшольції Стаунтона – $28,40 \pm 1,22$; фотометричним методом – у траві ельшольції війчастої – $15,25 \pm 0,11$, у траві ельшольції Стаунтона – $10,36 \pm 0,71$;
- вітамінів, мг/100 г: B_1 – у траві ельшольції війчастої – $0,15 \pm 0,008$, у траві ельшольції Стаунтона – $0,37 \pm 0,04$, B_2 – $0,03 \pm 0,02$ і $0,13 \pm 0,02$, B_3 – $2,31 \pm 0,26$ і $6,67 \pm 0,34$, B_9 – $0,002 \pm 0,0001$ і $0,003 \pm 0,0001$ відповідно;
- гідроксикоричних кислот, %: у траві ельшольції війчастої – $0,53 \pm 0,02$, у траві ельшольції Стаунтона – $0,68 \pm 0,03$;
- флавоноїдів, %: у траві ельшольції війчастої – $1,75 \pm 0,07$, у траві ельшольції Стаунтона – $1,93 \pm 0,07$;
- проціанідинів, %: у суцвіттях ельшольції війчастої – $0,044 \pm 0,0001$, у суцвіттях ельшольції Стаунтона – $0,176 \pm 0,001$;
- хлорофілів, мг/г: у траві ельшольції війчастої хлорофілу a – $2,12 \pm 0,08$, хлорофілу b – $0,95 \pm 0,04$; у траві ельшольції Стаунтона – $3,95 \pm 0,14$ і $1,33 \pm 0,05$ відповідно;

- каротиноїдів, мг/г: у траві ельшольції війчастої – $0,67 \pm 0,02$, у траві ельшольції Стаунтона – $1,33 \pm 0,05$.

5. Визначено вміст танінів у сировині ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона при використанні різних екстрагентів – води очищеної та етанолу різної концентрації (20 %, 40 %, 50 %, 70 %, 90 %, 96 %). Встановлено, що для листя ельшольції війчастої найвищий вміст танінів спостерігався при використанні 40 % етанолу – $0,94 \pm 0,02$ %, у суцвіттях 50 % етанолу – $0,76 \pm 0,01$ %, у стеблах 90 % етанолу – $0,48 \pm 0,01$ %, у траві 70 % етанолу – $0,54 \pm 0,01$ %. Для листя та суцвіть ельшольції Стаунтона кращим екстрагентом, що вилучав таніни, виявився 70 % етанол – $1,49 \pm 0,07$ % і $1,33 \pm 0,06$ %, для стебел і трави 50 % етанол – $0,67 \pm 0,03$ % і $1,15 \pm 0,06$ %.

6. Методом вичерпної екстракції хлороформом одержано ліпофільні фракції трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона, вихід яких складав $10,02 \pm 0,60$ % і $8,61 \pm 0,52$ % відповідно. Методом ТПХ вивчено якісний склад ліпофільних фракцій, у результаті якого встановлено наявність хлорофілів і каротиноїдів. Вміст хлорофілів у ліпофільній фракції трави ельшольції війчастої, визначений фотоколориметричним методом, складав $4,11 \pm 0,11$ %, у ліпофільній фракції трави ельшольції Стаунтона – $5,39 \pm 0,09$ %. Спектрофотометричним методом визначено вміст каротиноїдів у одержаних ліпофільних фракціях, який складав $60,46 \pm 2,22$ мг% і $20,19 \pm 0,81$ мг%.

7. Методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії визначено амінокислотний склад листя, суцвіть і трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона. У результаті дослідження ідентифіковано та визначено вміст 19 амінокислот. Серед вільних амінокислот у найбільшій кількості в усіх досліджуваних видах сировини визначено глютамінову кислоту: у листі ельшольції війчастої – $14,85 \pm 0,30$ %, у суцвіттях – $15,92 \pm 0,32$ %, у траві – $12,94 \pm 0,26$ %; у листі ельшольції Стаунтона – $12,58 \pm 0,25$ %, у суцвіттях – $13,94 \pm 0,28$ %, у траві – $11,50 \pm 0,23$ %. За загальним вмістом домінували суцвіття обох видів ельшольції – $20,307 \pm 0,406$ г/100 г і $28,144 \pm 0,563$ г/100 г відповідно.

8. З трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона виділено фракції полісахаридів – ВРПС, ПР, ГЦ А та ГЦ Б і визначено їх вміст: ВРПС – $6,70 \pm 0,45$

% і $7,78 \pm 0,52$ %, ПР – $2,93 \pm 0,20$ % і $3,26 \pm 0,22$ %, фракції ГЦ А – $4,25 \pm 0,28$ % і $5,38 \pm 0,36$ %, ГЦ Б – $2,46 \pm 0,16$ % і $3,49 \pm 0,23$ % відповідно.

9. Методом ГХ/МС визначено склад і вміст вільних та зв'язаних моносахаридів листя, суцвіть і трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона. У вільному стану у листі та траві ельшольції війчастої та листі ельшольції Стаунтона ідентифіковано по 3 моноцукри, у суцвіттях ельшольції війчастої та суцвіттях і траві ельшольції Стаунтона – по 4 цукри. У зв'язаному стані у листі та траві ельшольції війчастої та у траві ельшольції Стаунтона виявлено по 9 цукрів, у суцвіттях ельшольції війчастої та у листі та суцвіттях ельшольції Стаунтона – по 8 моноцукрів. В усіх досліджуваних видах сировини за кількісним вмістом домінувала глюкоза.

10. Методом ГХ/МС визначено склад органічних кислот листя, суцвіть і трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона. У листі ельшольції війчастої ідентифіковано та визначено вміст 8, у суцвіттях – 6, у траві – 7 органічних кислот, а у листі ельшольції Стаунтона – 9, у суцвіттях – 10, у траві – 7 сполук. Загальними для усіх досліджуваних видів сировини були яблучна, янтарна та лимонна кислоти. У листі та суцвіттях ельшольції війчастої за вмістом домінувала лимонна кислота – $107,50 \pm 2,15$ мкг/г і $40,19 \pm 0,80$ мкг/г відповідно, у траві – янтарна ($79,00 \pm 1,58$ мкг/г). У листі та суцвіттях ельшольції війчастої високий вміст мала метоксибутандіонова кислота – $104,38 \pm 2,09$ мкг/г і $62,66 \pm 1,25$ мкг/г відповідно, у траві – янтарна ($74,00 \pm 1,48$ мкг/г).

11. Методом ВЕРХ проведено вивчення гідроксикоричних кислот у листі, суцвіттях і траві ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона. У листі ельшольції війчастої ідентифіковано 4, у суцвіттях і траві – по 8 гідроксикоричних кислот; у листі та суцвіттях ельшольції Стаунтона ідентифіковано по 6, у траві – 9 гідроксикоричні кислоти. У найбільшій кількості у траві обох видів ельшольції визначена хлорогенова кислота – $13681,10 \pm 273,62$ мкг/г і $1033,70 \pm 20,67$ мкг/г відповідно. При визначенні розмаринової кислоти встановлено, що її високий вміст у листі, суцвіттях і стеблах ельшольції Стаунтона спостерігався при екстрагуванні 70 % етанолом – $2,11 \pm 0,04$ %, $2,37 \pm 0,05$ % і $0,65 \pm 0,01$ % відповідно, а у траві 50 % етанолом – $1,47 \pm 0,03$ %.

12. Проведено вивчення флавоноїдів у листі, суцвіттях і траві ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона методом ВЕРХ. У листі ельшольції війчастої ідентифіковано 6 флавонодних сполук, у листі ельшольції Стаунтона – 4, у суцвіттях обох видів ельшольції – по 5, у траві – по 6. Домінуючими сполуками були, мкг/г: у листі та траві ельшольції війчастої – лютеолін ($3967,26 \pm 78,75$ і $934,75 \pm 18,70$ відповідно), у листі та суцвіттях ельшольції Стаунтона та суцвіттях ельшольції війчастої – неогесперидин ($11568,61 \pm 231,37$; $2180,02 \pm 43,60$ і $3480,99 \pm 69,62$ відповідно); у траві ельшольції Стаунтона – нарінгенін ($11084,73 \pm 221,70$).

13. У траві ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона ідентифіковано по 4 катехіни методом ВЕРХ. У найбільшій кількості в обох досліджуваних зразках сировини визначений катехін – $1009,11 \pm 20,18$ мкг/г і $791,34 \pm 15,83$ мкг/г.

14. У суцвіттях ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона методом ВЕРХ ідентифіковано та визначено вміст 8 і 11 антоціанів відповідно. У суцвіттях ельшольції війчастої значний вміст мали ціанідин-3-глюкозид ($33,99 \pm 0,68$ %) і мальвідин-3-галактозид ($33,23 \pm 0,66$ %); у суцвіттях ельшольції Стаунтона – мальвідин-3-арабінозид ($41,72 \pm 0,83$ %) і мальвідин-3-глюкозид ($27,33 \pm 0,55$ %).

15. Методом ГХ визначено жирнокислотний склад сировини ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона. У листі, суцвіттях і стеблах ельшольції війчастої виявлено по 14 жирних кислот, у траві – 12, серед яких ідентифіковано 12 та 10 відповідно. У листі ельшольції Стаунтона виявлено 14, у суцвіттях, стеблах і траві – по 15 жирних кислот, серед яких ідентифіковано у листі та суцвіттях по 12, у стеблах і траві – по 13 жирних кислот. В усіх досліджуваних видах сировини обох видів ельшольції серед насичених жирних кислот найбільший вміст мала пальмітинова кислота, серед ненасичених – ліноленова кислота, а у стеблах ельшольції Стаунтона – ліолева.

16. У траві ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона методом ГХ/МС проведено дослідження фітостеролів, серед яких ідентифіковано 5 і 2 спорлуки відповідно. За кількісним вмістом в обох видах сировини переважав γ -ситостерол – $0,580 \pm 0,004$ мг/г і $3,302 \pm 0,019$ мг/г відповідно.

17. Методом ГХ/МС вивчено склад летких сполук листя, суцвіть і трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона. Ідентифіковано у листі ельшольції війчастої 27, у суцвіттях – 21, у траві – 7 сполук; у листі ельшольції Стаунтона – 22, у суцвіттях – 29, у траві – 40 сполук. За кількісним вмістом в усіх видах сировини ельшольції війчастої переважали ельшольціакетон ($410,14 \pm 8,20$ мкг/г, $697,95 \pm 13,96$ мкг/г і $57,52 \pm 1,15$ мкг/г відповідно) і дегідроельшольціакетон ($518,43 \pm 10,37$ мкг/г, $849,67 \pm 16,99$ мкг/г і $49,73 \pm 0,99$ мкг/г відповідно); у сировині ельшольції Стаунтона – каріофілен ($125,86 \pm 2,52$ мкг/г, $245,40 \pm 4,91$ мкг/г і $114,28 \pm 2,29$ мкг/г відповідно) і каріофіленоксид ($161,44 \pm 3,23$ мкг/г, $162,79 \pm 3,26$ мкг/г і $77,12 \pm 1,54$ мкг/г відповідно). Дані сполуки можна вважати речовинами-маркерами для досліджуваних видів сировини.

18. Методом РФМ визначено елементний склад листя, суцвіть і трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона. Було ідентифіковано та визначено вміст 16 макро- та мікроелементів. Для усіх досліджуваних видів сировини домінуючими елементами були К ($5189,92 \pm 201,34$ мкг/г, $8878,67 \pm 237,32$ мкг/г, $7153,74 \pm 226,47$ мкг/г і $5734,34 \pm 203,79$ мкг/г, $7799,85 \pm 242,07$ мкг/г, $7027,07 \pm 232,42$ мкг/г відповідно), Са ($5815,12 \pm 162,91$ мкг/г, $3644,50 \pm 116,23$ мкг/г, $5076,78 \pm 145,84$ мкг/г і $7107,20 \pm 173,43$ мкг/г, $2553,57 \pm 105,88$ мкг/г, $6967,77 \pm 176,92$ мкг/г відповідно) та S ($2734,58 \pm 601,53$ мкг/г, $3202,34 \pm 586,84$ мкг/г, $2635,73 \pm 566,25$ мкг/г і $2583,01 \pm 490,09$ мкг/г, $2095,24 \pm 450,13$ мкг/г, $2041,78 \pm 449,13$ мкг/г відповідно). Вміст важких металів знаходився в межах вимог гранично допустимих концентрацій для сировини та харчових продуктів

19. Проведені дослідження показали, ще переважна більшість БАР накопчується у траві обох видів ельшольції. Крім того, одержані результати свідчили, що трава ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона значно не відрізнялися за хімічним складом діючих речовин.

20. Результати фітохімічного аналізу використані при розробці відповідних розділів МКЯ «Ельшольції війчастої трава» і «Ельшольції Стаунтона трава».

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Зоценко Л. О., Цуркан О. О. Амінокислотний склад надземних органів *Elsholtzia Stauntonii* Benth. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика*. 2017. Вип.28. С. 51–56. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)
2. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Дослідження макро- і мікроелементного складу сировини *Elsholtzia stauntonii* та *Elsholtzia ciliata*. *Фітомеранія. Часопис*. 2019. Вип.1. С. 63–66. DOI: 10.33617/2522-9680-2019-1-63 (Особистий внесок – брала участь в обробці, узагальненні результатів та підготовці статті)
3. Zotsenko L., Kyslychenko V. Fatty acids composition study of Mint Bush (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) and Chinese Vietnamese balm (*Elsholtzia ciliata* Thun.) in aboveground parts. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020. № 46. Vol. 1. P. 42–50. (Особистий внесок – брала участь в обговоренні, обробці результатів дослідження та підготовці статті)
4. Зоценко Л. О. Вивчення вітамінного складу трави деяких видів роду *Elsholtzia* Willd. *Annals of Mechnikov Institute*. 2021. №4. С. 74–78. DOI: 10.5281/zenodo.5761417 (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)
5. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Дослідження вмісту вуглеводів у сировині деяких видів роду *Elsholtzia* Willd. *Annals of Mechnikov Institute*. 2022. № 1. С. 85-89. DOI: 10.5281/zenodo.6350433 (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, в обговоренні, обробці результатів дослідження та підготовці статті)
6. Зоценко Л. О., Цуркан О. О. Дослідження вмісту розмаринової кислоти у траві ельшольції Стаунтона. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин: матеріали II міжнародної науково-практичної internet-конференції, 21-23 березня 2016 р., м. Харків*. Харків: Видавництво НФаУ, 2016. С. 115-116.
7. Зоценко Л. О., Гудзенко В. А. Дослідження вмісту розмаринової кислоти в екстрактах надземних частин ельшольції Стаунтона. *Ліки людині. Сучасні про-*

блеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: матеріали XXXIII Всеукраїнської науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів, 8 квітня 2016 р., м. Харків. Харків.: Видавництво НФаУ, 2016. С. 62.

8. Зоценко Л. О., Цуркан О. О. Дослідження вмісту поліфенольних сполук в екстрактах надземних частин ельшольції Стаунтона. *Хімія природних сполук*: матеріали IV Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, 21-22 квітня 2016 р., м. Тернопіль. Тернопіль: ТДМУ, 2016. С. 60–61.

9. Зоценко Л. О., Цуркан О.О. Ідентифікація та кількісне визначення мікрота мікроелементів в сировині *Elsholtzia Stauntonii* Benth. *Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали II міжнародної науково-практичної конференції, 28-29 березня 2018 р., м. Харків. Х.: Вид-во НФаУ, 2018. С. 131–132.

10. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Визначення вмісту суми органічних кислот у траві ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) та ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* Thun.). *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали V Міжнародної науково.-практичної інтернет-конференції, 26 листопада 2020 р., м. Харків. Харків: Видавництво НФаУ, 2020. С. 195–196.

11. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Визначення вмісту хлорофілів та каротиноїдів у траві ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) та ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* Thun.). *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: матеріали IV Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, 26-27 листопада 2020 р., м. Харків. Харків: Видавництво НФаУ, 2020. С. 102–103.

12. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Дослідження фітостеролів у траві двох видів ельшольції. *Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень*: матеріали V Міжнародної наукової конференції, 2 квітня 2021 р., м. Березоточа. Березоточа, 2021. С. 264–268.

РОЗДІЛ 4

ВИВЧЕННЯ МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНОЇ БУДОВИ ТРАВИ ЕЛЬШОЛЬЦІЇ ВІЙЧАСТОЇ ТА ЕЛЬШОЛЬЦІЇ СТАУНТОНА. ВИЗНАЧЕННЯ ПОКАЗНИКІВ ЯКОСТІ ТА ТЕХНОЛОГІЧНИХ ПАРМЕТРІВ СИРОВИНИ

Монографії ДФУ на ЛРС регламентують проводити ідентифікацію рослинної сировини за визначенням її макроскопічних (Ідентифікація А) і мікроскопічних (Ідентифікація В) ознак. Тому нами було проведено визначення морфолого-анатомічної будови трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона як найбільш перспективних видів ЛРС.

4.1 Вивчення морфологічних ознаки сировини

Трава ельшольції війчастої. Сировина являє собою суміш стебел, листя, суцвіть та окремих квіток. Стебло чотиригранне, фіолетового кольору, нерівномірно опушене по гранях і борозенках. Листя довгочерешкові, яйцеподібно-еліптичної або ланцетної форми, розсіяно опушені, зеленого кольору, мережа жилок малопомітна, не втиснута, основа – клиноподібні, верхівка – поступово звужена, край – дрібногородчасто-пилчастий. Суцвіття густе, колосоподібне, циліндричне, одностороннє. Приквітки зелені, трав'яністі, округлі або широко-яйцеподібні, з гострим кінцем, по краю дрібновійчасті. Чашечка трубчасто-дзвоникувата з чашолистками яйцеподібної форми, з майже однаковими зубцями, залозиста, густо опушена, зелена. Віночок ліловий, зовні коротко опушений, лопаті війчасті. Запах специфічний, ароматний. Смак злегка гіркуватий.

Трава ельшольції Стаунтона. Сировина складається зі стебел, цільних або частково подрібнених листя та суцвіть і окремих квіток. Стебло фіолетово-червоне, сіро-опушене короткими м'якими волосками. Листя черешкові, від ланцетної до еліптично-ланцетної форми, з верхнього боку голі, пурпурові по

краю та середній жилці, з нижнього – білувата, щільно-залозиста, основа – звужена, верхівка – загострена, край – пилчато-зубчастий. Черешок фіолетовий, коротко-опушений. Суцвіття колосоподібні, прямі, густоквіткові, односторонні, сіро-опушені короткими м'якими волосками. Чашечка трубчасто-дзвоникувата, зовні густо сіро-войлочно опушена. Віночок рожево-фіолетовий, зовні вкритий білими ворсинками, всередині рідко залозистий. Запах сильний, ароматний. Смак гіркуватий.

4.2 Вивчення анатомічної будови сировини

Стебло ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона вкрите одношаровою епідермою. У ельшольції війчастої епідерма та зовнішня клітинна стінка епідермальних клітин значно товща, ніж у ельшольції Стаунтона (рис. 4.1Б, табл. 4.1).

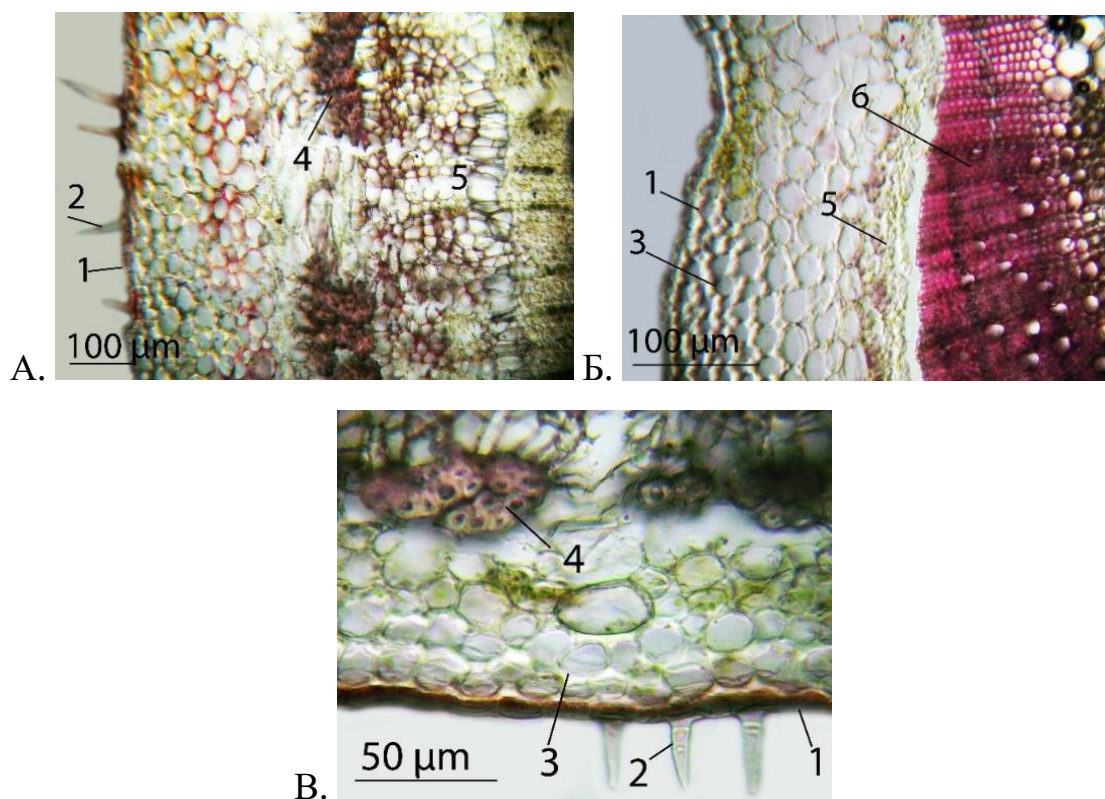


Рис. 4.1 Мікроскопічні ознаки стебла: А, В – ельшольція Стаунтона, Б – ельшольція війчаста: 1 – епідерма, 2 – проста трихома, 3 – коленхіма, 4 – склеренхімні шапочки, 5 – флоема, 6 – ксилема.

Порівняно тонка епідерма стебла ельшольції Стаунтона компенсується густим покривом трихом (рис. 4.1А), де поряд з численними простими трихомами зустрічалися поодинокі дрібні залозисті трихоми на одноклітинній ніжці. У ельшольції Стаунтона під епідермою стебла рівномірно розміщено 4-5 шарів коленхіми, тоді як у ельшольції війчастої скупчення коленхіми чередувалися з ділянками хлоренхіми, утворюючи чотирикутну форму стебла (рис. 4.1Б). Первинна флоема у ельшольції Стаунтона утворювала масивні склеренхімні шапочки (рис. 4.1А, 4.1В), а у ельшольції війчастої склеретизувалися лише поодинокі елементи первинної флоеми. Ксилема гарно розвинена в обох видів ельшольції [91].

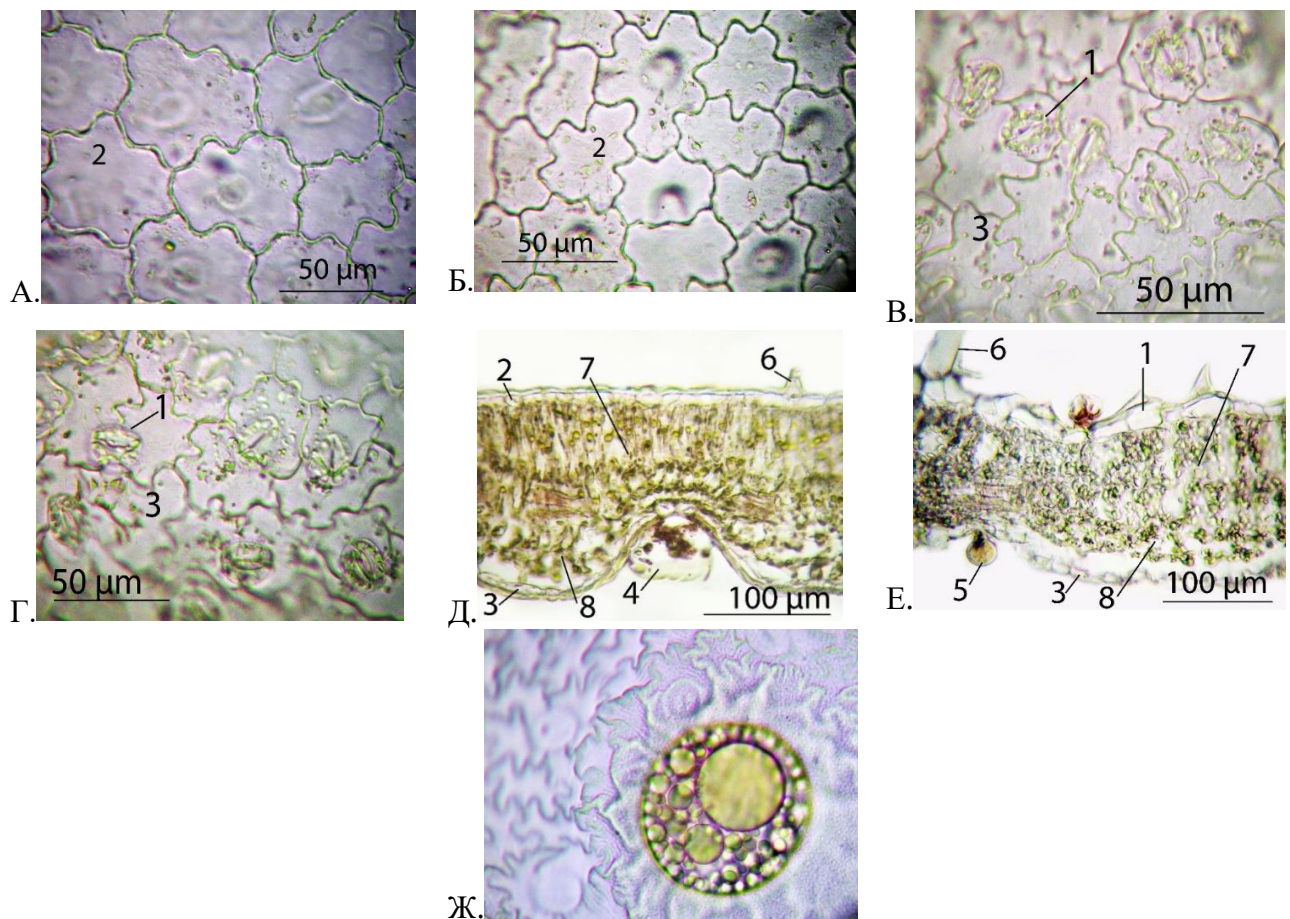


Рис. 4.2 Мікроскопічні ознаки листа: А, В, Д – ельшольція Стаунтона, Б, Г, Е – ельшольція війчаста, Ж – велика ефіроолійна залозка: 1 – продихи, 2 – адаксіальна епідерма, 3 – абаксіальна епідерма, 4 – велика ефіроолійна залозка, 5 – дрібна залозиста трихома, 6 – проста трихома, 7 – палісадний мезофіл, 8 – губчастий мезофіл.

Поверхня листків вкрита трихомами: на адаксіальній поверхні листків обох видів ельшольції спостерігалися одноклітинні прості «шипоподібні» (рис. 4.2Д, 4.2Е) та багатоклітинні прості трихоми, базальні клітини деяких мали короткі відгалуження (рис. 4.2Е). На абаксіальній поверхні обох видів наявні одноклітинні прості трихоми, які розміщені на жилках, та великі ефіроолійні залозки на одноклітинній ніжці (рис. 4.2Д, 4.2Ж). Великі ефіроолійні залозки розміщені в криптах, утворених абаксіальною епідермою (рис. 4.2Д). Крім того, для ельшольції в'ійчастої характерні дрібні залозисті трихоми, які поодинокі розміщені на жилках з обох боків. Вони мали одноклітинну голівку та одноклітинну ніжку (рис. 4.2Е). У ельшольції Стаунтона такі залозисті трихоми спостерігалися в дуже малій кількості лише на адаксіальній поверхні. У ельшольції в'ійчастої на центральній жилці з абаксіального боку розміщені довгі прості трихоми. За кількістю трихом досліджувані види достовірно не відрізнялися (табл. 4.1) [91].

Таблиця 4.1

Морфометричні показники ельшольції в'ійчастої та ельшольції Стаунтона

Морфометричний показник	Ельшольція Стаунтона	Ельшольція в'ійчата
1	2	3
Стебло		
Товщина епідерми, мкм	13±4*	20±3
Товщина зовнішньої клітинної стінки епідермоцитів, мкм	1,5±0,8*	4±0,3
Адаксіальна сторона листка		
Площа адаксіальних епідермоцитів, мкм ²	810±181*	538±134
Кількість багатоклітинних простих трихом на адаксіальному боці, шт/мм ²	2,7±1,1	2,2±0,8
Кількість залозистих дрібних трихом на жилках, шт/мм ²	—	3,9±0,8
Кількість одноклітинних простих трихом, шт/мм ²	48±12	39±8

1	2	3
Абаксіальна сторона листка		
Площа абаксіальних епідермоцитів, мкм ²	351±71	297±68
Довжина продихів, мкм	18±1*	15±1
Ширина продихів, мкм	14±1*	12±1
Кількість продихів, шт/мм ²	121±14*	149±7
Кількість простих одноклітинних трихом на жилках, шт/мм ²	9,1±1,7*	12,4±1,1
Кількість великих залозистих трихом, шт/мм ²	11,1±1,8	11,9±1,7
Поперечний зріз листка		
Товщина адаксіальної епідерми, мкм	19,5±2,9*	27±5
Товщина зовнішньої клітинної стінки адаксіальних епідермоцитів, мкм	2,5±1,7	3,5±0,8
Товщина палисадної паренхіми, мкм	92,3±2,9*	82,6±6,9
Товщина губчастої паренхіми, мкм	57,8±3,8*	36,8±10,4
Товщина абаксіальної епідерми, мкм	6,5±1,9*	11,6±2,2
Товщина зовнішньої клітинної стінки абаксіальних епідермоцитів, мкм	2,2±1,9*	0,7±0,3
Товщина листової пластинки	186,3±6,3*	151,5±14,1
Черешок		
Товщина адаксіальної епідерми, мкм	14±2*	20±2
Товщина зовнішньої клітинної стінки адаксіальних епідермоцитів, мкм	3,5±1,1*	6±1
Висота багатоклітинних трихом на адаксіальній стороні, мкм	44±8*	174±43
Товщина абаксіальної епідерми, мкм	13±2*	21±4
Товщина зовнішньої клітинної стінки абаксіальних епідермоцитів, мкм	1,8±0,3*	3,8±0,9

1	2	3
Висота багатоклітинних трихом на абаксіальній стороні, мкм	77±32*	278±64
Товщина черешка, мкм	1400±131*	784±46
Пелюстка		
Висота трихом, мкм	195±141*	17±3
Товщина пелюстки, мкм	44±4	43±5

Примітки:

1. * – $P < 0,05$ – відносно параметрів ельшольції війчастої;
2. «—» – параметр відсутній.

Черешок досліджених видів ельшольції мав округлу форму з адаксіального боку (рис. 4.3А, 4.3Г) та увігнутий з невеликими виростами по краях з абаксіального боку (рис. 4.3Б, 4.3В). Черешок ельшольції Стаунтона вдвічі більший, ніж у ельшольції війчастої, що пов'язано з більшою за розмірами листовою пластинкою (табл. 4.1). Черешок вкритий одношаровою епідермою, при чому адаксіальна епідерма мала вдвічі товщу зовнішню клітинну стінку. Під епідермою розміщено 4-5 шарів кутової коленхіми (рис. 4.3). Провідна система представлена у вигляді суцільного відкритого колатерального пучка, розміщеного півмісяцем (рис. 4.3Б). Черешок з обох боків вкритий багатоклітинними простими трихомами, які значно більші з абаксіального боку. Довжина таких трихом у ельшольції війчастої втричі більша за довжину трихом ельшольції Стаунтона (рис. 4.3Д, 4.3Е). У ельшольції Стаунтона на обох боках черешка наявні дрібні залозисті трихоми, а у ельшольції війчастої вони зустрічаються поодинокі (рис. 4.3Е) [91].

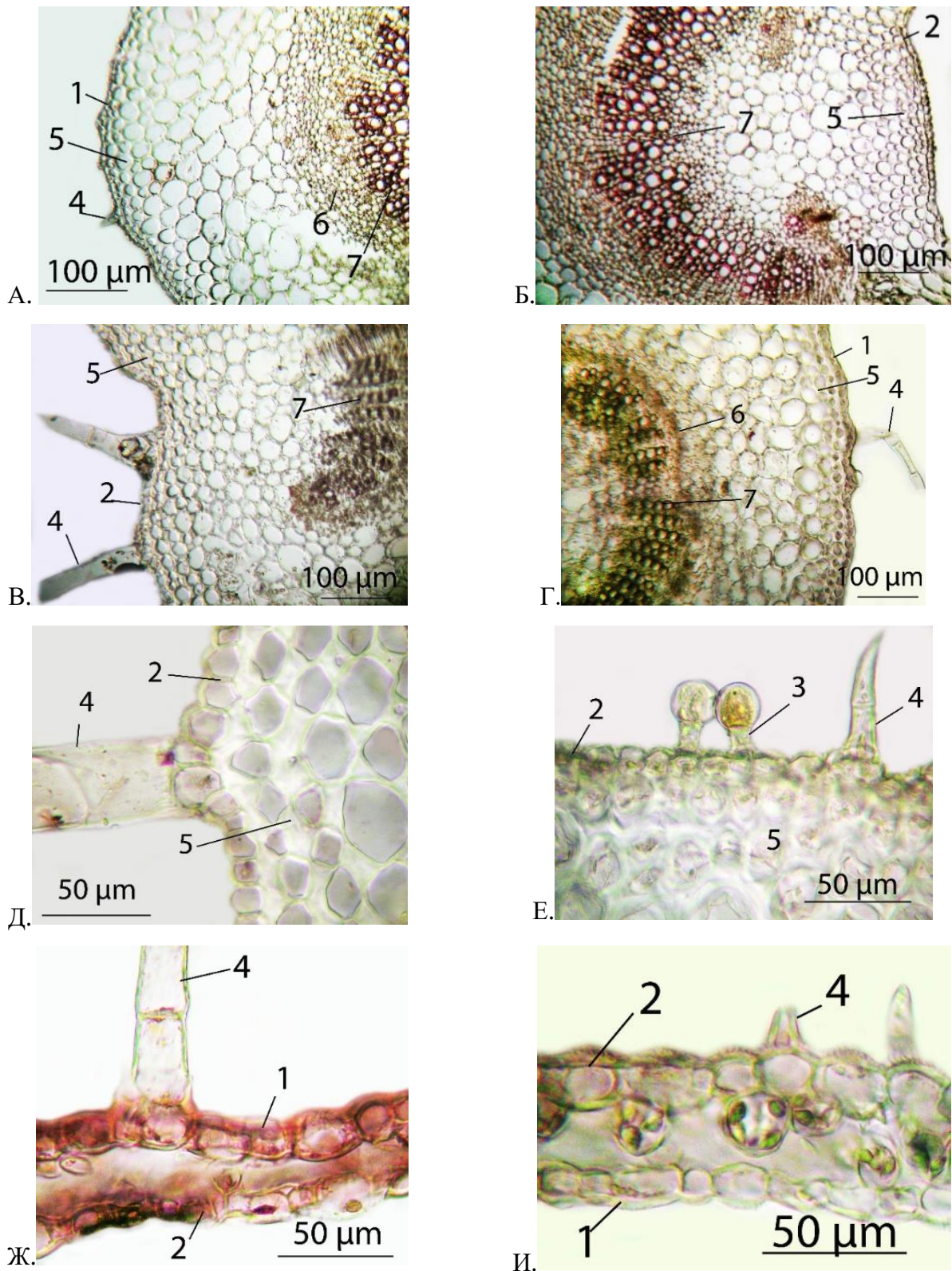


Рис. 4.3 Мікроскопічні ознаки черешка та пелюстки: А, Б, Е – черешок ельшольції Стаунтона, В, Г Д, – черешок ельшольції війчата, Ж – пелюстка ельшольції Стаунтона, И – пелюстка ельшольції війчатої: 1 – адаксіальна епідерма, 2 – абаксіальна епідерма, 3 – дрібна залозиста трихома, 4 – проста трихома, 5 – кутова коленхіма, 6 – флоема, 7 – ксилема.

Пелюстки досліджених видів ельшольції з абаксіального боку вкриті простими трихомами (рис. 4.3Ж, 4.3И). На пелюстках ельшольції Стаунтона зустрічалися лише довгі трихоми (табл. 4.1), тоді як у ельшольції війчастої довгі трихоми розміщені лише по краю пелюстки [91].

Таким чином, відмінною анатомічною діагностичною ознакою ельшольції війчастої є наявність дрібних залозистих трихом, які поодинокі розміщені на жилках, та наявність довгих простих трихом на центральній жилці з абаксіального боку, також прості трихоми черешка, що втричі довші за аналогічні у ельшольції Стаунтона. Для ельшольції Стаунтона анатомічною діагностичною ознакою є наявність численних трихом та масивні скупчення склеренхіми у стеблі (табл. 4.1) [91].

Також було визначено ультраструктуру поверхні епідермальної тканини трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона, використовуючи методи скануючої мікроскопії.

Ельшольція Стаунтона. Поверхня стебла колікулярна. Межі клітин чіткі. Периклінальні стінки епідермальних клітин випуклі. Дистальні та проксимальні антиклінальні стінки не розрізнялися за товщиною. Епідермальні клітини характеризувалися розпластаними чи витягнутими проекціями та звивистими обрисами. Кутикула добре розвинена, спостерігався епікутикулярний віск у вигляді плівок. Наявне густе складне опушення, сформоване трихомами кількох типів: дрібними залозками, великими залозками, шипиками, довгими волосками. Усі трихоми, крім шипиків, багатоклітинні. Дрібні залозки мали одноклітинну голівку та триклітинну ніжку; великі залозки сформовані з великої восьмиклітинної голівки та короткої ніжки, яка складена трьома тангентально витягнутими клітинами. Прості волоски мали бородавчасту поверхню та варіювали за довжиною від дрібних до в кілька разів більших (рис. 4.4) [91].

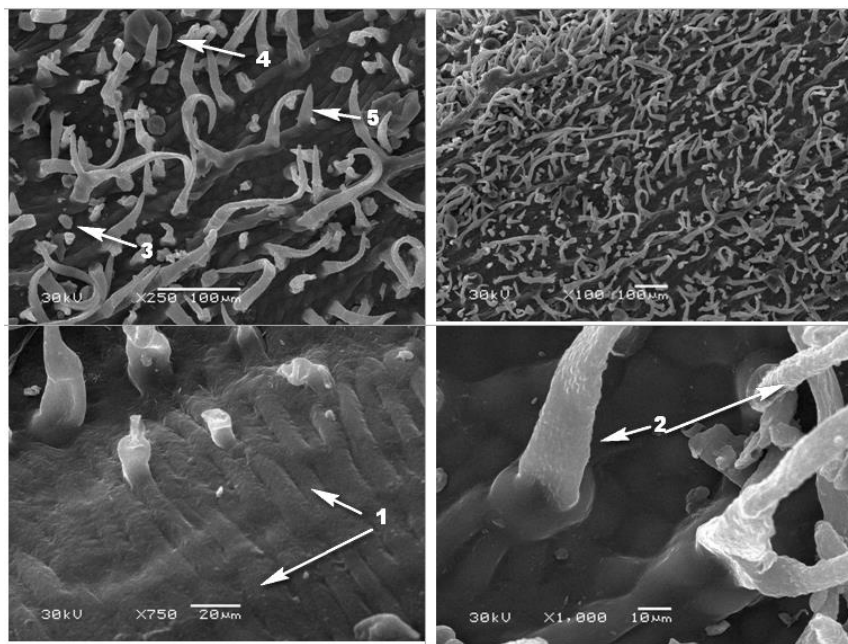


Рис. 4.4 Ультраструктура поверхні стебла ельшольції Стаунтона: 1 – основні епідермальні клітини, 2 – довгі стрічкоподібні трихоми, 3 – дрібні багатоклітинні залозки, 4 – великі багатоклітинні залозки, 5 – шипики.

Листок гіпостоматичний, аномоцитні прориди рівномірно розміщені на нижній поверхні листової пластинки, дещо вище рівня основних епідермальних клітин. Адаксіальна поверхня листової пластинки колікулярна. Проекції та обриси епідермальних клітин варіювали: над мезофілом спостерігалися клітини з розпластаними проекціями та звивистими обриси, в області провідних пучків – з витягнутими проекціями та звивистими обриси. Кутикула добре розвинена. Опушення змішаного типу, сформоване простими та залозистими волосками. На верхній поверхні листка спостерігалися трихоми трьох типів: сопочки, які мали при основі добре розвинений зубець, від базальної частини до апікальної, багатоклітинні стрічкоподібні трихоми та дрібні залозки. Залозисті волоски розміщені по поверхні листової пластинки нерівномірно, найбільша їх кількість спостерігалася по жилкам, значно менше між ними. Вони мали ніжку, яка складалася з трьох приблизно одного розміру клітин, та одноклітинну голівку. Прості волоски – щетинисті, мали бородавчасту поверхню та варіювали за довжиною – від дрібних до в кілька разів більших. Спостерігалися як по жилці, так по усій поверхні листової пластинки (рис. 4.5) [91].

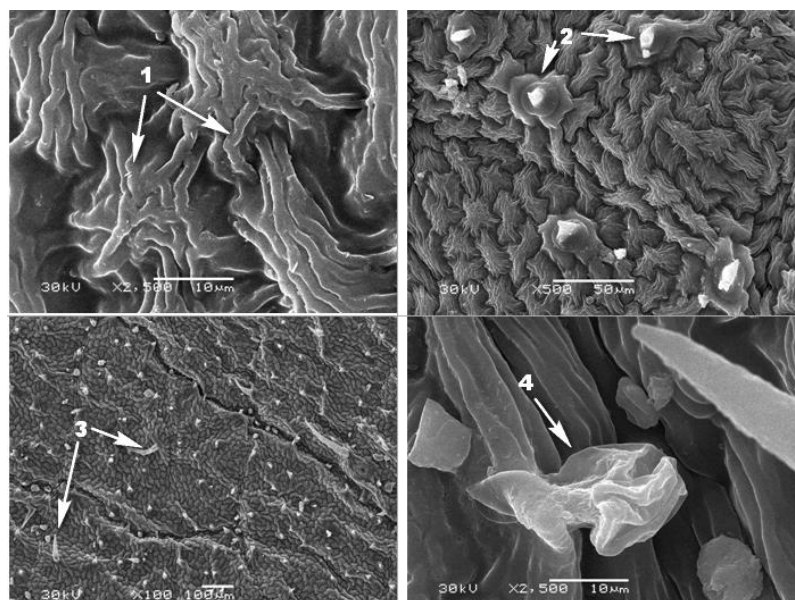


Рис. 4.5 Ультраструктура адаксіальної епідерми листкової пластинки ельшольції Стаунтона: 1 – кутикула складчастого типу, 2 – сосочки, 3 – багатоклітинні стрічкоподібні трихоми, 4 – дрібні багатоклітинні залозки.

Абаксіальна поверхня відрізнялася від адаксіальної виразнішою зморшкуватістю кутикули. Крім того, центральна жилка листка густо опушена трихомами: довгими стрічкоподібними, короткими шипиками, сосочками та залозками. По усій поверхні листкової пластинки спостерігалися густо розміщені великі залозки, які сформовані восьмиклітинною голівкою та короткою триклітинною ніжкою (рис. 4.6) [91].

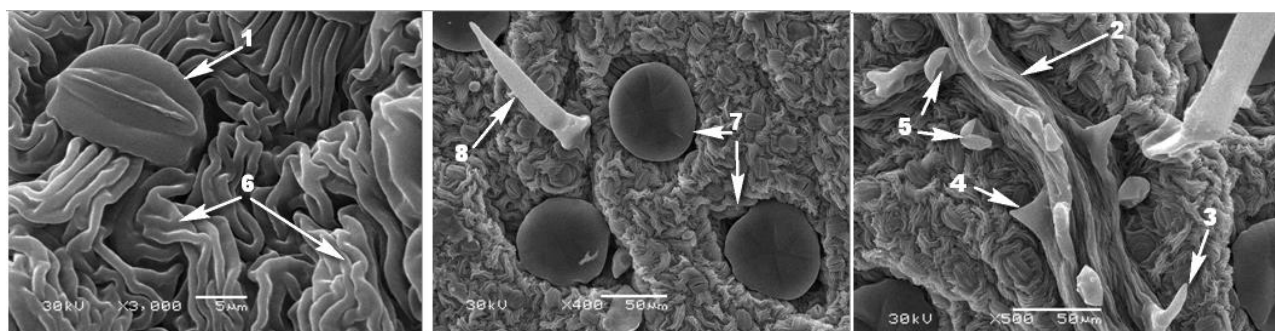


Рис. 4.6 Ультраструктура абаксіальної епідерми листкової пластинки ельшольції Стаунтона: 1 – кутикула гладенького типу, 2 – центральна жилка, 3 – багатоклітинні стрічкоподібні трихоми, 4 – продихи, 5 – основні епідермальні клітини, 6 – великі багатоклітинні залозки, 7 – ультраструктура стрічкоподібної трихоми, 8 – дрібні багатоклітинні залозки.

Чашечка квітки мала змішане повстисте опушення, яке сформоване трихомами кількох типів: довгими стрічкоподібними, шипиками та сосочками (рис. 4.7) [91].

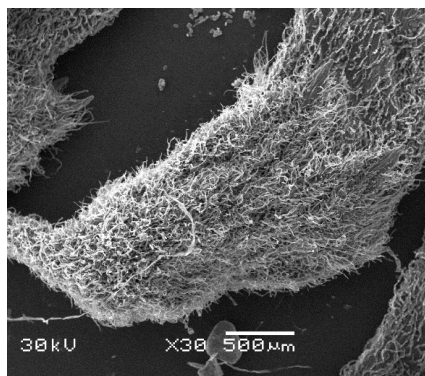


Рис. 4.7 Ультраструктура чашечки квітки ельшольції Стаунтона.

Базальна частина пелюсток мала густе опушення, яке сформоване довгими трихомами. Крім того, спостерігалися великі залозки з восьмиклітинною голівкою та короткою триклітинною ніжкою. У дистальній частині пелюсток опушення практично відсутнє, інколи зустрічалися поодинокі трихоми. Рельєф поверхні епідерми ямчастий, периклінальні стінки, дещо ввігнуті, містилися нижче рівня антиклінальних стінок (рис. 4.8) [91].

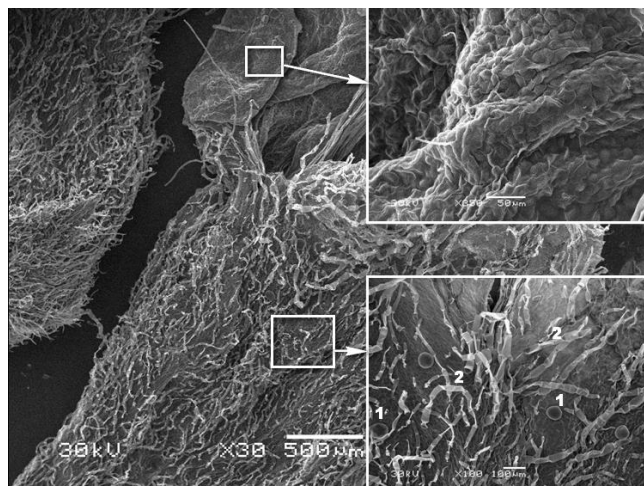


Рис. 4.8 Ультраструктура епідерми пелюсток квітки ельшольції Стаунтона: 1 – великі багатоклітинні залозки, 2 – стрічкоподібні довгі трихоми.

Ельшольція війчаста. Рельєф поверхні стебла, на відміну від ельшольції Стаунтона, варіював у межах однієї рослини: між ребрами рельєф поверхні сіт-

частий – антиклінальні стінки епідермальних клітин потовщені, периклінальні – практично плоскі, по ребрам – ямчастий – дистальні та проксимальні антиклінальні стінки значно потовщені, периклінальні – увігнуті. Межі клітин чіткі. Епідермальні клітини характеризувалися між ребрами розпластаними, а по ребрам витягнутими проекціями та звивистими обрисами. Кутикула добре розвинена, на відміну від ельшольції Стаунтона спостерігався епікутикулярний віск у вигляді корок. Крім того, ельшольція війчаста відрізнялася від ельшольції Стаунтона ступенем розвитку опушення: опушення рідке, сформоване довгими стрічкоподібними трихомами, дрібними залозками, та локалізоване переважно між ребрними зонами. За будовою трихоми не відрізнялися від таких у ельшольції Стаунтона. Крім того, у ельшольції війчастої на відміну від ельшольції Стаунтона на стеблі відсутні великі залозки (рис. 4.9) [91].

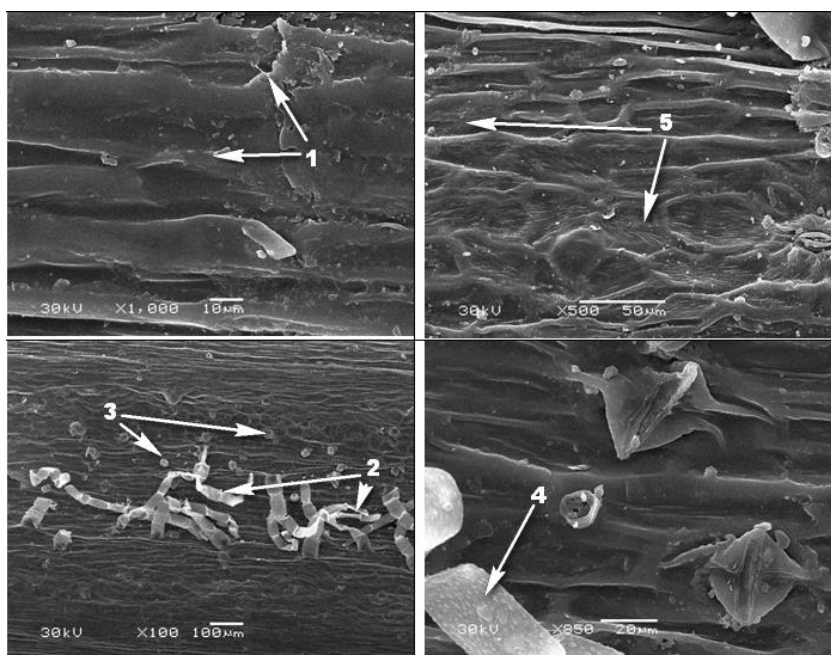


Рис. 4.9 Ультраструктура епідерми стебла ельшольції війчастої: 1 – воскові кірки, 2 – багатоклітинні стрічкоподібні трихоми, 3 – дрібні залозки, 4 – ультраскульптура стрічкоподібної трихоми, 5 – основні епідермальні клітини.

Листок гіпостоматичний, аномоцитні продихи рівномірно розміщені на нижній поверхні листової пластинки, дещо вище рівня основних епідермальних клітини. Адаксіальна поверхня листової пластинки, на відміну від ельшольції Стаунтона, остисто-гребінчаста. Межі клітин чіткі. Проекції та обриси

епідермальних клітин варіювали: над мезофілом спостерігалися клітини з розпластаними проекціями та звивистими обрисами, в області провідних пучків – з витягнутими проекціями та звивистими обрисами. Кутикула добре розвинена. Опушення змішаного типу: сформоване простими та залозистими волосками. На верхній поверхні листка спостерігалися трихоми трьох типів: сосочки з добре розвиненим від базальної до апікальної частини зубцем, багатоклітинні стрічкоподібні трихоми (дуже рідко) та дрібні залозки. Опушення спостерігалося переважно по жилках. За будовою трихоми не відрізнялися від таких ельшольції Стаунтона (рис. 4.10) [91].

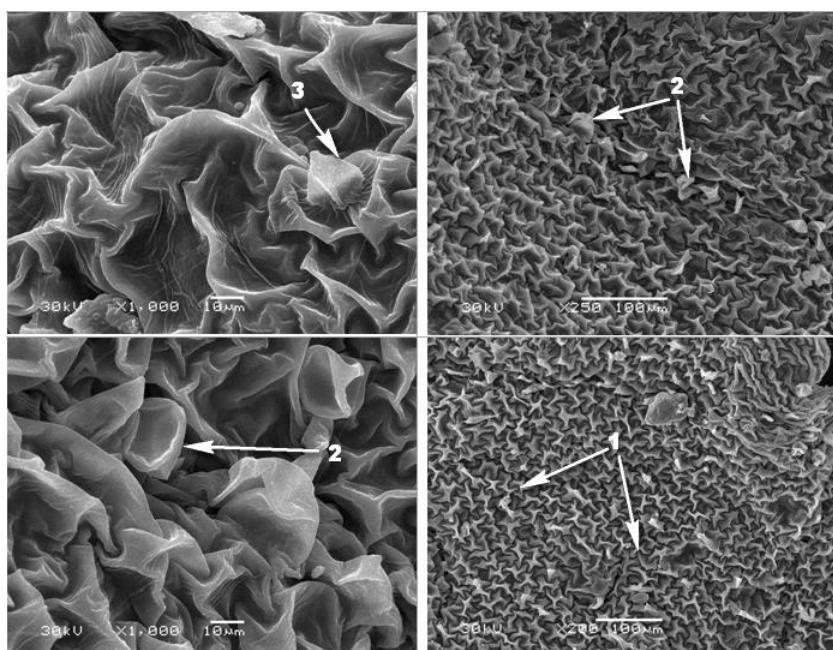


Рис. 4.10 Ультраструктура адаксіальної епідерми листкової пластинки ельшольції війчавстої: 1 – основні епідермальні клітини, 2 – одноклітинні шипики, 3 – папіли.

Абаксіальна поверхня відрізнялася від адаксіальної наявністю великих залозок з восьмиклітинною голівкою та короткою триклітинною ніжкою, які містилися по усій абаксіальній поверхні листка. Крім того, центральна жилка листка опушена трихомами: довгими стрічкоподібними, короткими шипиками, сосочками та залозками. Слід зазначити, що центральна жилка листка та бічні жилки мали рідке опушення, на відміну від ельшольції Стаунтона (рис. 4.11) [91].

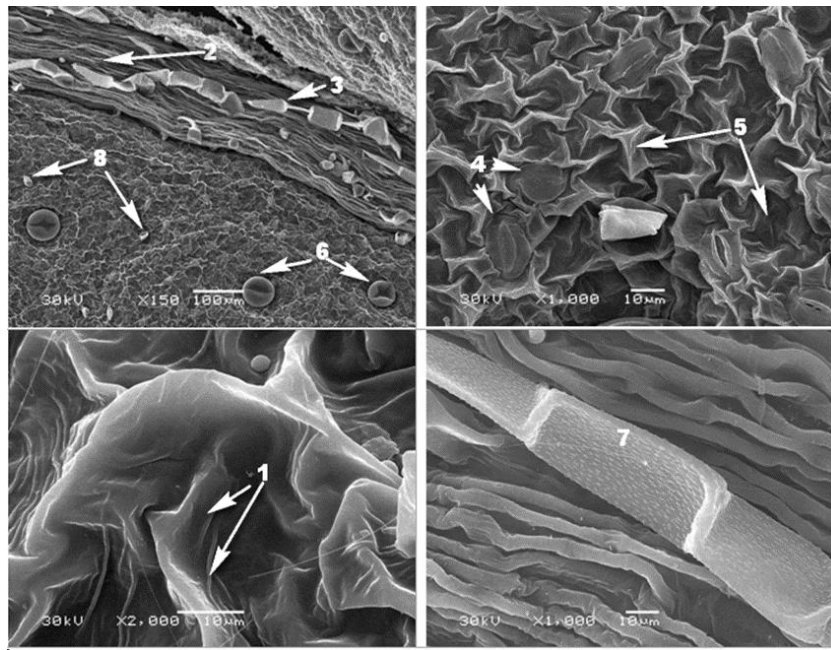


Рис. 4.11 Ультраструктура абаксіальної епідерми листкової пластинки ельшольції війчастої: 1 – кутикула гладенького типу, 2 – центральна жилка, 3 – багатоклітинні стрічкоподібні трихоми, 4 – продихи, 5 – основні епідермальні клітини, 6 – великі багатоклітинні залозки, 7 – ультраструктура стрічкоподібної трихоми, 8 – дрібні багатоклітинні залозки.

Чашолистки чашечки мали густе змішане опушення, сформоване трихомами кількох типів: довгими стрічкоподібними, шипиками, сосочками та залозистими трихомами двох типів: великими залозками з багатоклітинною голівкою та дрібними залозками з одноклітинною голівкою. Найбільша кількість великих залозок спостерігалася у верхній частині чашолистиків в області зубців чашечки, у базальній частині чашечки спостерігалася більше стрічкоподібних трихом і менше залозистих (рис. 4.12) [91].

Пелюстки мали рідке опушення поодинокими трихомами, на відміну від ельшольції Стаунтона. У дистальній частині пелюсток опушення відсутнє, інколи зустрічалися поодинокі трихоми, натомість практично кожна основна епідермальна клітина несла папіли, сформовані зовнішньою периклінальною стінкою та складками кутикули. Рельєф поверхні епідерми горбкуватий, периклінальні стінки дещо випуклі, кутикула формує складки (рис. 4.12) [91].

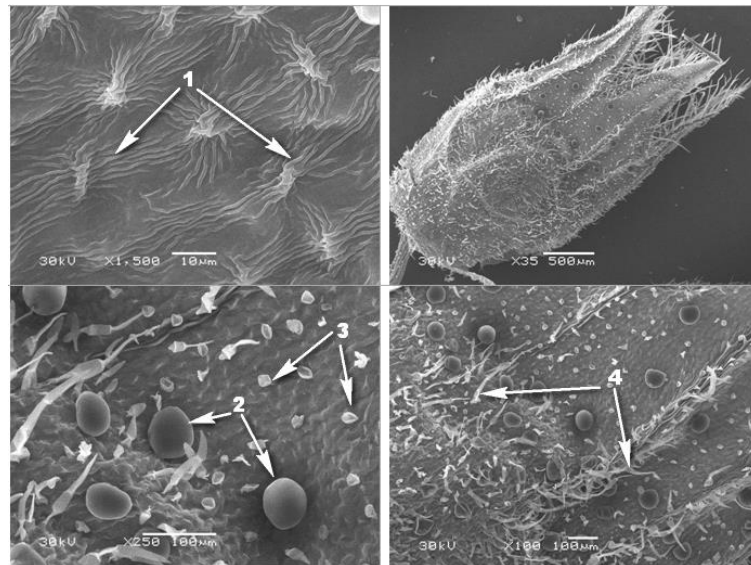


Рис. 4.12 Ультраструктура епідерми чашечки та пелюстки квітки ельшольції війчастої: 1 – кутикула, 2 – великі багатоклітинні залозки, 3 – дрібні багатоклітинні залозки, 4 – стрічкоподібні довгі трихоми.

Насінини видовжено-яйцеподібні, з помітно звуженим халазальним кінцем, на якому сформований придаток у вигляді «носика», та заокругленим мікропілярним кінцем. Рубчик округлої форми. Рафе (насіннєва ніжка) не виразний. Рельєф сітчастий. Форма клітин спермодерми кутова, полігональна, але клітини переважно ізодіаметричні. Дистальні та проксимальні антиклінальні стінки клітин однаково потовщені. Зовнішні периклінальні стінки плоскі зі складчастою ультраструктурою (рис. 4.13) [91].

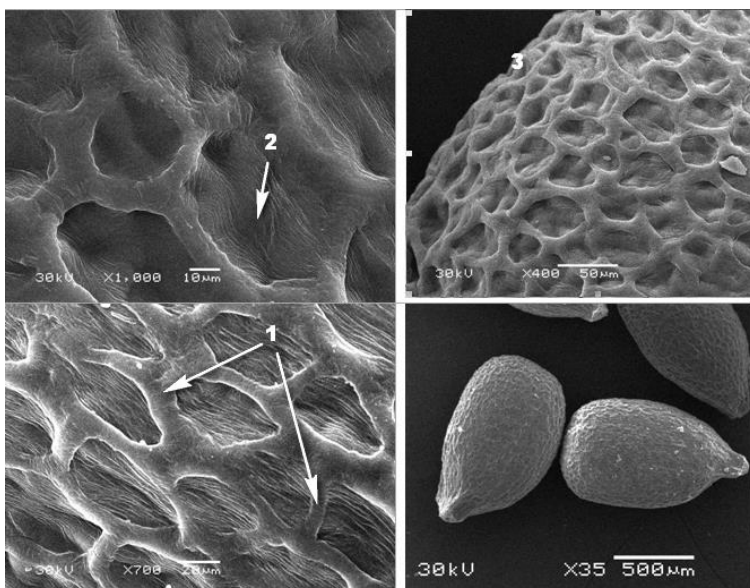


Рис. 4.13 Ультраструктура поверхні насінин ельшольції війчастої: 1 – антиклінальні епідермальні стінки, 2 – периклінальні епідермальні стінки, 3 – сітчаста ультраструктура поверхні насінин.

Таким чином, у результаті дослідження ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона встановлено, що обидва види характеризувалися як спільними, так і відмінними ознаками. Для досліджених видів загальними характерними ознаками є:

- гіпостоматичний тип листкової пластинки,
- аномоцитні продихи рівномірно розміщені на нижній поверхні листкової пластинки, дещо вище рівня основних епідермальних клітини,
- розпластані проекції та звивисті обриси клітин,
- добре розвинена кутикула,
- будова та тип трихом.

Поряд з цих є відмінні ознаки, які чітко відрізняли один вид від іншого:

- центральна та бічні жилки листка ельшольції війчастої мали рідке опушення, на відміну від ельшольції Стаунтона,
- абаксіальна поверхня листкової пластинки ельшольції Стаунтона виразно зморшкувата на відміну від ельшольції війчастої,
- ступінь розвитку опушення на стеблі та рельєф поверхні епідерми: для ельшольції війчастої характерним є сітчастий або ямчастий рельєф поверхні та рідке опушення, сформоване довгими стрічкоподібними трихомами, дрібними залозками, і локалізоване переважно між реберними зонами; для ельшольції Стаунтона – колікулярний рельєф поверхні стебла та густе рівномірне опушення різними типами трихом [91].

4.3 Визначення показників якості сировини

Обов'язковою вимогою монографій ДФУ на ЛРС є визначення її доброякісності, зокрема встановлення втрати в масі при висушуванні, загальної золи та золи, нерозчинної в хлористоводневій кислоті [17]. Тому нами було проведено визначення цих показників для трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона. Результати визначення показників якості наведені в таблиці 4.2.

**Показники якості сировини ельшольції війчастої та
ельшольції Стаунтона [2]**

Показник	Значення показника, %	
	трава ельшольції війчастої	трава ельшольції Стаунтона
Втрата в масі при висушуванні	6,59±0,19	7,82±0,23
Загальна зола	8,75±0,52	10,21±0,61
Зола, нерозчинна в хлористоводневій кислоті	1,20±0,07	0,58±0,03

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

Одержані результати щодо визначення показників якості сировини – втрата в масі при висушуванні, загальна зола та зола, нерозчинна в хлористоводневій кислоті – використані при розробці проєктів МКЯ на траву ельшольції. Крім того, втрату в масі при висушуванні враховано при розрахунках кількісного вмісту БАР у сировині [37].

Для одержання екстрактів принципове значення має співвідношення сировини та екстрагента, тому що воно забезпечує необхідну концентрацію БАР у витяжці (що важливо з фармакотерапевтичної точки зору) та достатню виснаженість рослинної сировини (що має економічне значення). Тому визначення екстрактивних речовин проводили, використовуючи такі співвідношення сировина–екстрагент 1:10, 1:25 та 1:50. Як екстрагенти використані вода, 20 %, 50%, 70 % і 90 % етанол. Результати визначення екстрактивних речовин наведені в таблиці 4.3.

Результати визначення екстрактивних речовин показали, найвищий вихід екстрактивних речовин спостерігався при співвідношенні сировина–екстрагент (1:50), а найкращим екстрагентом для трави ельшольції війчастої була вода, для трави ельшольції Стаунтона – 20 % етанол [37].

**Вміст екстрактивних речовин у траві ельшольції війчастої та ельшольції
Стаунтона**

Екстра- гент	Вміст у перерахунку на абсолютно суху сировину, % (n=5)					
	трава ельшольції війчастої			трава ельшольції Стаунтона		
	1:10	1:25	1:50	1:10	1:25	1:50
вода	22,26±1,43	30,52±1,96	39,95±2,57	15,43±0,99	22,76±1,47	28,64±1,84
20 % етанол	15,66±1,01	25,53±1,64	32,44±2,09	22,48±1,45	24,63±1,59	31,94±2,06
50 % етанол	23,02±1,48	19,79±1,27	27,90±1,80	16,38±1,05	21,57±1,39	25,05±1,61
70 % етанол	9,90±0,64	14,93±0,96	27,91±1,81	14,59±0,94	20,43±1,32	22,62±1,46
90 % етанол	8,84±0,57	12,02±0,77	18,80±1,21	23,67±1,52	11,96±0,77	20,82±1,34

За результатами фармакогностичного дослідження розроблено проекти МКЯ «Ельшольції війчастої трава» та «Ельшольції Стаунтона трава» (додаток Б).

4.4 Визначення технологічних параметрів сировини

Відомо, що при одержанні екстракційних препаратів важливе значення мають технологічні параметри ЛРС, оскільки вони впливають на вибір обладнання, розрахунок кількості екстрагента, повноту вилучення БАР і проведення оптимізації процесу екстрагування [10, 86]. Тому нами були визначені середній розмір часток, питома маса, об'ємна та насипна густина, пористість, нарізність, вільний об'єм шару, коефіцієнт поглинання екстрагенту для води, 20 %, 50 %, 70% та 90 % етанолу. Результати дослідження наведені у таблиці 4.4.

Таблиця 4.4

**Технологічні параметри трави ельшольції війчастої та
ельшольції Стаунтона**

Технологічний параметр	Значення технологічного параметру					
	трава ельшольції війчастої			трава ельшольції Стаунтона		
Середній розмір часток, мм	3,43±0,25			3,57±0,26		
Питома густина, г/см ³	0,82±0,05			1,26±0,08		
Об'ємна густина, г/см ³	0,30±0,02			0,46±0,03		
Насипна густина, г/см ³	0,051±0,003			0,078±0,005		
Пористість	0,39±0,02			0,60±0,04		
Порозність	0,52±0,03			0,76±0,04		
Вільний об'єм шару	0,75±0,04			0,90±0,05		
Коефіцієнт поглинання, мл/г	1:10	1:25	1:50	1:10	1:25	1:50
- води	8,75± 0,42	9,56± 0,46	9,45± 0,45	6,05± 0,29	6,50± 0,31	6,50± 0,31
- 20 % етанол	7,86± 0,38	8,52± 0,41	9,62± 0,46	6,36± 0,30	6,23± 0,30	7,35± 0,35
- 50 % етанол	7,36± 0,35	8,49± 0,41	9,46± 0,45	5,38± 0,46	6,47± 0,31	8,65± 0,41
- 70 % етанол	6,33± 0,30	5,89± 0,28	6,39± 0,31	5,82± 0,28	6,57± 0,31	7,52± 0,36
- 90 % етанол	4,91± 0,23	6,95± 0,33	5,34± 0,26	4,96± 0,24	3,98± 0,19	5,33± 0,25

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

Результати визначення технологічних параметрів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона були використані при розробці технології одержання екстрактів на основі рослинної сировини [37].

Висновки до розділу 4

1. Проведено визначення морфолого-анатомічних ознак, ультраструктури поверхні епідермальної тканини, показників якості та технологічних параметрів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона.

2. Для трави обох видів відмінними морфологічними діагностичними ознаками є: характер опушення стебла, листкової пластинки та віночка; форма та край листа; забарвлення віночка.

3. Визначено анатомічні діагностичні ознаки трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона. Для ельшольції війчастої такими є наявність дрібних залозистих трихом, які поодинокі розміщені на жилках, довгих простих трихом на центральній жилці з нижнього боку та простих трихом черешка, що втричі довші за аналогічні у ельшольції Стаунтона. Для ельшольції Стаунтона анатомічною діагностичною ознакою є наявність числених трихом та масивні скупчення склеренхіми у стеблі.

4. При вивченні ультраструктури поверхні епідермальної тканини трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона встановлено загальні та відмінні ознаки сировини. До загальних ознак належать: гіпостоматичний тип листкової пластинки, аномоцитний тип продихового апарату, розпластані проекції та звивисті обриси клітин, добре розвинена кутикула, будова та тип трихом. Серед відмінних ознак ультраструктури слід виділити: характер опушення центральної та бічних жилок, зморшкуватості нижньої поверхні листкової пластинки, ступінь розвитку опушення на стеблі та рельєф поверхні епідерми.

5. Визначено втрату в масі при висушуванні, вміст загальної золи та золи, нерозчинної в хлористоводневій кислоті, у траві ельшольції війчастої та ельшо-

льції Стаунтона, які склали $6,59 \pm 0,19$ % і $7,82 \pm 0,23$ %; $8,75 \pm 0,52$ % і $10,21 \pm 0,61$ % та $1,20 \pm 0,07$ % і $0,58 \pm 0,03$ % відповідно.

6. Для трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона визначено вміст екстрактивних речовин при використанні води, 20 %, 50%, 70 % і 90 % етанолу. Встановлено, що оптимальним співвідношенням сировина–екстрагент є 1:50, а екстрагентом для трави ельшольції війчастої – вода, для трави ельшольції Стаунтона – 20 % етанол.

7. Результати визначення морфолого-анатомічних ознак і показників якості сировини використані при розробці проєктів МКЯ на траву ельшольції війчастої та траву ельшольції Стаунтона, а технологічні параметри – при розробці технології одержання сухих екстрактів на основі досліджуваних видів сировини.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С., Панасенко О. І. Дослідження технологічних параметрів сировини трави ельшольції Стаунтона та трави ельшольції війчастої. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2020. Т. 14, №4. С. 245–250. DOI: 10.33250/14.04.245 (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, в обговоренні, обробці результатів дослідження та підготовці статті)

2. Anatomical and Ultrastructure Differences Between Some Species of the Genus *Elsholtzia* Willd. of Flora of Ukraine. / L. Zotsenko, N. Nuzhyna, V. Kyslychenko, O. Futorna. Pharmacognosy Journal. 2021. Vol. 13, Issue 4. P. 977–987. (Scopus) DOI: 10.5530/pj.2021.13.126 (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)

РОЗДІЛ 5

ОДЕРЖАННЯ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ СУХИХ ЕСКТРАКТІВ ТРАВИ ЕЛЬШОЛЬЦІЇ ВІЙЧАСТОЇ ТА ЕЛЬШОЛЬЦІЇ СТАУНТОНА

5.1 Попереднє скринінгове вивчення антимікробної активності

За літературними даними, рослини роду Ельшольція характеризуються різними фармакологічними властивостями, зокрема антимікробними. Для визначення умов одержання сухих екстрактів нами було проведено попереднє скринінгове дослідження антимікробної активності [6, 70, 84] екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона, одержаних різними екстрагентами. Дослідження проводили у лабораторії біохімії та біотехнології ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМНУ» під керівництвом к. біол. н., ст.н.сп. Т. П. Осолодченко. Результати вивчення наведені у таблиці 5.1.

При оцінці антимікробних властивостей (табл. 5.1) екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона встановлено, що практично для усіх досліджених об'єктів притаманна антибактеріальна та антифунгальна активності [66].

Таблиця 5.1

Антимікробна активність екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона по відношенню до тест-штамів мікроорганізмів

Співвідношення сировина- екстрагент, вид екстрагенту	Діаметри зон затримки росту, мм (M±m) (p≤0,05)					
	<i>Staphylo- coccus au- reus</i> ATCC 25923	<i>Escherich- ia coli</i> ATCC 25922	<i>Proteus</i> <i>vulgaris</i> ATCC 4636	<i>Pseudo- monas ae- ruginosa</i> ATCC 27853	<i>Bacillus</i> <i>subtilis</i> ATCC 6633	<i>Candida</i> <i>albicans</i> ATCC 653/885
1	2	3	4	5	6	7
Екстракт трави ельшольції війчастої						
1:10, вода	20,0±0,3	17,7±0,3	16,3±0,2	16,0±0,2	19,7±0,3	18,3±0,3

1	2	3	4	5	6	7
1:10, 20 % етанол	19,7±0,3	18,3±0,3	17,0±0,3	17,0±0,3	21,0±0,3	17,7±0,3
1:10, 50 % етанол	20,3±0,3	18,0±0,3	17,0±0,3	17,7±0,3	20,7±0,3	15,0±0,2
1:10, 70 % етанол	20,0±0,3	18,7±0,3	18,7±0,3	17,0±0,3	20,7±0,3	21,3±0,3
1:10, 90 % етанол	20,3±0,3	18,3±0,3	17,7±0,3	18,3±0,3	20,0±0,3	19,0±0,3
1:25, вода	19,3±0,3	17,7±0,3	16,3±0,2	16,7±0,3	20,3±0,3	17,0±0,3
1:25, 20 % етанол	23,3±0,4	21,0±0,3	18,3±0,3	17,3±0,3	21,7±0,3	16,7±0,3
1:25, 50 % етанол	24,0±0,4	22,0±0,3	20,0±0,3	18,0±0,3	23,7±0,4	17,0±0,3
1:25, 70 % етанол	21,0±0,3	20,0±0,3	19,0±0,3	18,3±0,3	22,7±0,3	17,3±0,3
1:25, 90 % етанол	20,7±0,3	19,7±0,3	17,7±0,3	18,0±0,3	22,7±0,3	17,7±0,3
1:50, вода	18,0±0,3	16,0±0,3	15,7±0,2	15,3±0,2	19,3±0,3	15,3±0,2
1:50, 20 % етанол	19,0±0,3	17,3±0,3	16,0±0,2	16,0±0,2	23,7±0,4	16,0±0,2
1:50, 50 % етанол	20,0±0,3	17,3±0,3	16,3±0,3	16,7±0,3	21,0±0,3	16,7±0,3
1:50, 70 % етанол	19,7±0,3	17,7±0,3	17,3±0,3	16,7±0,3	24,3±0,4	17,0±0,3
1:50, 90 % етанол	19,7±0,3	18,0±0,3	16,7±0,3	17,0±0,3	21,3±0,3	16,7±0,3
Екстракт трави ельшольції Стаунтона						
1:10, вода	20,3±0,3	16,7±0,3	16,0±0,2	17,3±0,3	20,3±0,3	16,3±0,3
1:10, 20 % етанол	21,7±0,3	17,0±0,3	15,7±0,2	17,7±0,3	21,7±0,3	16,3±0,3
1:10, 50 % етанол	21,7±0,3	17,0±0,3	17,0±0,3	17,3±0,3	23,3±0,4	16,7±0,3
1:10, 70 % етанол	22,7±0,3	20,0±0,3	17,7±0,3	18,0±0,3	23,0±0,4	16,3±0,3
1:10, 90 % етанол	23,7±0,4	20,3±0,3	18,0±0,3	18,3±0,3	23,7±0,4	17,0±0,3
1:25, вода	20,0±0,3	17,3±0,3	16,0±0,2	16,0±0,2	21,3±0,3	16,3±0,3
1:25, 20 % етанол	21,7±0,3	19,3±0,3	17,3±0,3	17,0±0,3	22,3±0,3	16,0±0,2
1:25, 50 % етанол	22,3±0,3	19,0±0,3	17,3±0,3	17,0±0,3	23,0±0,4	16,7±0,3
1:25, 70 % етанол	23,0±0,4	20,0±0,3	16,7±0,3	18,7±0,3	23,7±0,4	17,0±0,3
1:25, 90 % етанол	22,7±0,3	21,3±0,3	17,3±0,3	19,7±0,3	23,3±0,4	17,3±0,3
1:50, вода	18,7±0,3	17,3±0,3	15,7±0,2	16,7±0,3	19,3±0,3	15,0±0,2
1:50, 20 % етанол	19,7±0,3	18,3±0,3	16,0±0,2	15,7±0,2	20,0±0,3	15,3±0,2
1:50, 50 % етанол	20,0±0,3	19,7±0,3	16,7±0,3	16,7±0,3	19,7±0,3	15,7±0,2
1:50, 70 % етанол	20,7±0,3	19,7±0,3	18,0±0,3	17,7±0,3	20,3±0,3	16,3±0,3
1:50, 90 % етанол	20,3±0,3	20,3±0,3	17,3±0,3	18,0±0,3	20,3±0,3	16,7±0,3

Відомо, що еталонні штами мікроорганізмів є більш чутливими до впливу речовин з антимікробними властивостями. Тому наступним етапом дослідження було вивчення антимікробної активності на тест-штамах, що були виділені від хворих на гнійно-запальні захворювання [6, 84]. Результати дослідження наведені у таблицях 5.2 і 5.3.

Таблиця 5.3

Антибактеріальна активність екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона по відношенню до клінічних тест-штамів мікроорганізмів

Співвідношення сировина- екстрагент, вид екстрагенту	Діаметри зон затримки росту, мм (M±m) (p≤0,05)					
	<i>Staphylo- coccus au- reus</i> №26	<i>Staphylo- coccus au- reus</i> №48	<i>Staphylo- coccus au- reus</i> №69	<i>Escherich- ia coli</i> №57	<i>Escherich- ia coli</i> №115	<i>Klebsiella pneumonia</i> №132
1	2	3	4	5	6	7
Екстракт трави ельшольції війчастої						
1:10, вода	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:10, 20 % етанол	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:10, 50 % етанол	15,7±0,2	14,0±0,2	рост	рост	15,0±0,2	14, 3±0,2
1:10, 70 % етанол	16,0±0,2	14,7±0,2	рост	рост	15,3±0,2	14,7±0,2
1:10, 90 % етанол	16,3±0,3	15,0±0,2	147±0,2	14,3±0,2	16,0±0,2	15,0±0,2
1:25, вода	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:25, 20 % етанол	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:25, 50% етанол	15,0±0,2	14,0±0,2	рост	рост	15,7±0,2	рост
1:25, 70 % етанол	15,7±0,2	14,3±0,2	рост	14,3±0,2	15,7±0,2	14,7±0,2
1:25, 90 % етанол	16,0±0,2	15,0±0,2	14,7±0,2	14,3±0,2	16,0±0,2	15,0±0,2
1:50, вода	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:50, 20 % етанол	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:50, 50 % етанол	14,0±0,2	13,3±0,2	рост	рост	15,0±0,2	Рост
1:50, 70 % етанол	14,7±0,2	13,7±0,2	рост	рост	14,7±0,2	рост

1	2	3	4	5	6	7
Екстракт трави ельшольції Стаунтона						
1:10, вода	14,7±0,2	15,7±0,2	15,3±0,2	13,7±0,2	14,0±0,2	рост
1:10, 20 % етанол	15,0±0,2	15,7±0,2	15,0±0,2	14,3±0,2	13,7±0,2	13,7±0,2
1:10, 50 % етанол	16,3±0,3	16,0±0,2	15,7±0,2	15,7±0,2	15,3±0,2	14,7±0,2
1:10, 70 % етанол	16,3±0,3	16,0±0,2	17,0±0,3	16,0±0,2	15,7±0,2	15,0±0,2
1:10, 90 % етанол	18,0±0,3	16,7±0,3	17,3±0,3	16,7±0,3	16,7±0,3	15,3±0,2
1:25, вода	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:25, 20 % етанол	14,7±0,2	14,0±0,2	рост	рост	15,0±0,2	рост
1:25, 50 % етанол	16,3±0,3	15,3±0,2	14,3±0,2	14,7±0,2	16,0±0,2	15,0±0,2
1:25, 70 % етанол	16,7±0,3	16,0±0,2	15,3±0,2	15,7±0,2	16,0±0,2	15,3±0,2
1:25, 90 % етанол	17,0±0,3	16,3±0,3	15,3±0,2	16,0±0,2	16,7±0,3	15,0±0,2
1:50, вода	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:50, 20 % етанол	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:50, 50 % етанол	15,3±0,2	14,7±0,2	рост	рост	15,3±0,2	рост
1:50, 70 % етанол	15,0±0,2	14,3±0,2	рост	рост	15,0±0,2	14,3±0,2
1:50, 90 % етанол	15,3±0,2	15,0±0,2	рост	рост	15,7±0,2	14,0±0,2

Таблиця 5.3

**Антибактеріальна та антифунгальна активність екстрактів
трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона по відношенню до
клінічних тест-штамів мікроорганізмів (продовження)**

Співвідношення сировина- екстрагент, вид екстрагенту	Діаметри зон затримки росту в мм (M±m) (p≤0,05)					
	<i>Pseudo- monas ae- ruginosa</i> №37	<i>Pseudo- monas ae- ruginosa</i> №55	<i>Enterobact er cloacea</i> №94	<i>Candida albicans</i> №146	<i>Candida albicans</i> №179	<i>Aspergil- lus niger</i> №241
1	2	3	4	5	6	7
Екстракт трави ельшольції війчастої						
1:10, вода	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:10, 20 % етанол	рост	рост	рост	рост	рост	рост

1	2	3	4	5	6	7
1:10, 50 % етанол	15,0±0,2	14,3±0,2	14,3±0,2	13,7±0,2	14,3±0,2	13,3±0,2
1:10, 70 % етанол	15,7±0,2	13,3±0,2	13,7±0,2	13,3±0,2	13,3±0,2	13,7±0,2
1:10, 90 % етанол	16,3±0,3	15,0±0,2	14,7±0,2	14,7±0,2	14,0±0,2	13,7±0,2
1:25, вода	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:25, 20 % етанол	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:25, 50 % етанол	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:25, 70 % етанол	рост	рост	15,0±0,2	14,7±0,2	14,7±0,2	13,7±0,2
1:25, 90 % етанол	рост	рост	14,7±0,2	15,0±0,2	14,3±0,2	13,3±0,2
1:50, вода	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:50, 20 % етанол	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:50, 50 % етанол	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:50, 70 % етанол	рост	рост	рост	рост	рост	рост
Екстракт трави ельшольції Стаунтона						
1:10, вода	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:10, 20 % етанол	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:10, 50 % етанол	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:10, 70 % етанол	15,3±0,2	13,3±0,2	15,0±0,2	14,0±0,2	13,7±0,2	рост
1:10, 90 % етанол	16,0±0,2	14,0±0,2	16,3±0,3	15,0±0,2	15,3±0,2	рост
1:25, вода	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:25, 20 % етанол	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:25, 50 % етанол	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:25, 70 % етанол	рост	рост	16,3±0,3	16,0±0,2	15,3±0,2	15,3±0,2
1:25, 90 % етанол	14,0±0,2	14,3±0,2	16,0±0,2	15,3±0,2	15,0±0,2	15,3±0,2
1:50, вода	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:50, 20 % етанол	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:50, 50 % етанол	рост	рост	рост	рост	рост	рост
1:50, 70 % етанол	13,7±0,2	13,3±0,2	14,3±0,2	15,3±0,2	14,0±0,2	рост
1:50, 90 % етанол	14,0±0,2	13,7±0,2	14,7±0,2	14,3±0,2	13,7±0,2	рост

Результати проведеного скринінгового дослідження фармакологічної активності екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона (табл. 5.2 і 5.3) показали, що з 29 об'єктів, що вивчалися, тільки 5 виявляли виразну

антибактеріальну та антифунгальну дії – екстракти трави ельшольції війчастої у співвідношенні сировина-екстрагент 1:25 з використанням 20 % і 50 % етанолу та трави ельшольції Стаунтона у співвідношенні 1:10 з використанням 50 %, 70 % і 90 % етанолу. Таким чином, проведений первинний скринінг з визначення антимікробної активності екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона дав змогу виявити найбільш активні субстанції з антибактеріальною й антифунгальною активностями [66].

На наступному етапі доцільно було встановити МІК і МБЦК (мкг/мл) еталонних і клінічних бактерій та грибів до дії найбільш перспективних субстанцій [61, 131]. Результати досліджень наведені у таблиці 5.4.

Таблиця 5.4

Антимікробна активність (МІК і МБЦК, мкг/мл) перспективних екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона відносно еталонних штамів мікроорганізмів

Еталонний тест-штам	Ельшольція Стаунтона						Ельшольція війчаста			
	1:10, 50 % етанол		1:10, 70 % етанол		1:10, 90 % етанол		1:25, 20 % етанол		1:25, 50 % етанол	
	МІК мкг/мл	МБЦК мкг/мл	МІК мкг/мл	МБЦК мкг/мл	МІК мкг/мл	МБЦК мкг/мл	МІК мкг/мл	МБЦК мкг/мл	МІК мкг/мл	МБЦК мкг/мл
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	125	250	125	125	125	250	250	500	250	500
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	250	500	250	250	250	500	250	500	250	500
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	500	1000	500	1000	500	1000	500	1000	500	1000
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	250	500	250	250	125	250	250	250	250	500

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	500	1000	500	1000	500	1000	500	1000	500	1000
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	500	1000	500	1000	500	1000	500	1000	500	1000

Як свідчать результати, наведені у таблиці 5.4, серед досліджених перспективних екстрактів на увагу заслуговували 2 – екстракт трави ельшольції Стаунтона у співвідношенні 1:10, одержаний 70 % етанолом, та екстракт трави ельшольції війчастої (1:25), одержаний 20 % етанолом, які виявляли не тільки бактерицидний, а й бактеріостатичний ефекти відносно еталонних тест-штамів мікроорганізмів [66].

Для встановлення ефективності в умовах клініки найбільш перспективні екстракти були протестовані на штаммах мікроорганізмів, виділених від хворих на гнійно-запальні процеси [61, 131]. Одержані результати наведені у таблиці 5.5.

Таблиця 5.5

Антимікробна активність (МІК, мкг/мл) перспективних екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона відносно клінічних штамів мікроорганізмів

Екстракт	МІК, мкг/мл ($p \leq 0,05$)			
	<i>Staphylococcus aureus</i> 222	<i>Escherichia coli</i> 311	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 449	<i>Candida albicans</i> 1486
Екстракт ельшольції війчастої (1:25, 20 % етанол)	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
Екстракт ельшольції Стаунтона (1:10, 70 % етанол)	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000

Результати проведених досліджень, які наведено у табл. 5.5, показали, що відібрані екстракти не виявляли виразної антибактеріальної та антифунгальної дій відносно клінічних штамів мікроорганізмів, МІК яких становили >1000 мкг/мл [66].

Оскільки значна кількість інфекційних уражень пов'язана саме з утворенням біоплівки, то показник МІК щодо «планктонних» мікроорганізмів не повністю характеризував перспективність застосування біологічно активних субстанцій у терапії. Тому наступним етапом досліджень було встановлення здатності перспективних субстанцій попереджувати утворення біоплівки.

Вивчення здатності перспективних екстрактів впливати на процес формування біоплівки [72] проводили у відділі фармакології ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ» під керівництвом завідувачки лабораторії фармакології протимікробних засобів, д. мед. н. Н.О. Вринчану. Екстракти трави ельшольції в'їчастої та ельшольції Стаунтона досліджували в концентраціях 250 мкг/мл та 500 мкг/мл. Результати проведеного дослідження наведені у таблиці 5.6 та на рис. 5.1.

Одержані дані свідчили, що досліджувані екстракти трави ельшольції в'їчастої та ельшольції Стаунтона проявляли активність по відношенню до біоплівки грамнегативних, грампозитивних бактерій та дріжджоподібних грибів, а ступінь пригнічення плівкоутворення залежав від концентрацій досліджуваних речовин. Так, у концентрації 500 мкг/мл екстракт ельшольції Стаунтона виразно попереджав плівкоутворення *Escherichia coli* 311 на $54,4 \pm 0,82$ %, *Pseudomonas aeruginosa* 449 – на $49,2 \pm 0,74$ %, *Staphylococcus aureus* 222 – на $89,5 \pm 1,34$ %, а *Candida albicans* 1486 – на $94,7 \pm 1,42$ % (щодо контролю). При дії екстракту ельшольції Стаунтона у концентрації 250 мкг/мл інгібуюча дія речовини зростала майже вдвічі та становила $37,3 \pm 0,56$ % (*Escherichia coli* 311), $73,1 \pm 1,10$ % (*Pseudomonas aeruginosa* 449) і $98,2 \pm 1,47$ % (*Staphylococcus aureus* 222 і *Candida albicans* 1486) [66].

**Вплив екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона
на процес формування біоплівки мікроорганізмами**

Досліджува- ний об'єкт	Утворення біоплівки, % ($p \leq 0,05$)							
	<i>Candida albicans</i> 1486		<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> 222		<i>Escherichia coli</i> 311		<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> 449	
	500 мкг/мл	250 мкг/мл	500 мкг/мл	250 мкг/мл	500 мкг/мл	250 мкг/мл	500 мкг/мл	250 мкг/мл
Екстракт ель- шольції вій- частої (20 % етанол, 1:25)	10,00±0, 15	5,52±0,0 8	21,30±0, 32	11,50±0, 17	45,60±0, 68	35,20±0, 53	7,60±0,1 1	4,30±0,0 7
Екстракт ель- шольції Ста- унтона (70 % етанол, 1:10)	5,34±0,0 8	1,80±0,0 3	10,50±0, 16	1,80±0,0 3	45,60±0, 68	62,70±0, 94	50,80±0, 76	26,90±0, 40

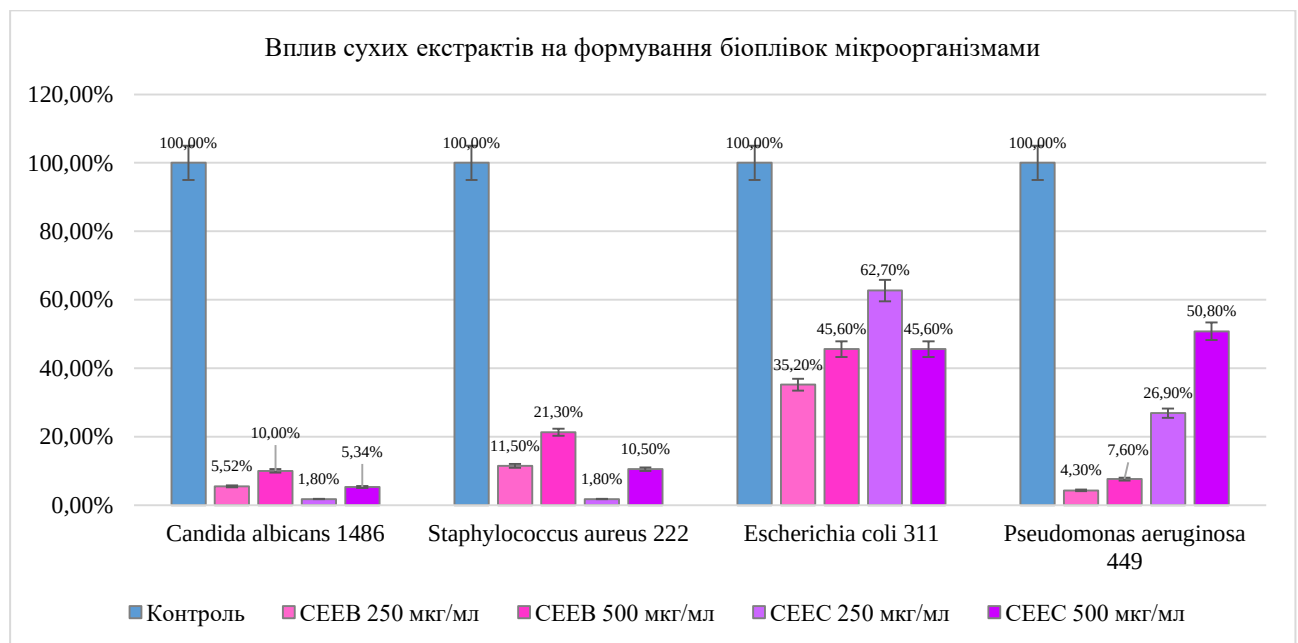


Рис. 5.1 Інтенсивність формування біоплівки мікроорганізмами у присутності екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона.

Порушення процесу утворення біоплівки бактерій (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Staphylococcus aureus*) та грибів (*Candida albicans*) для екстракту ельшольції війчастої у концентрації 500 мкг/мл мало такі значення: пригнічення плівкоутворення становило $70,1 \pm 1,05$ %, $76,1 \pm 1,14$ %, $90,6 \pm 1,36$ % та $99,5 \pm 1,49$ % відповідно. У концентрації 250 мкг/мл відмічався більш значний інгібуючий ефект: $68,0 \pm 1,02$ % для *Escherichia coli*, $81,9 \pm 1,23$ % для *Pseudomonas aeruginosa*, $97,2 \pm 1,46$ % для *Staphylococcus aureus* та $98,0 \pm 1,47$ % для грибів *Candida albicans* (щодо контролю). Результати проведених експериментальних досліджень свідчили, що екстракти, які вивчалися, дозозалежно впливали на формування біоплівок як бактерій, так і грибів. Інгібуюча дія обох екстрактів реєструвалася уже у концентрації 250 мкг/мл. Крім того, представники грампозитивних бактерій та дріжджоподібних грибів виявились більш чутливими до дії цих екстрактів в обох досліджуваних концентраціях [66].

5.2 Одержання сухих екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона та їх фітохімічне дослідження

Результати скринінгу антимікробної активності екстрактів ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона ли що найактивнішими з усіх досліджуваних субстанцій виявились екстракт трави ельшольції війчастої, одержаний 20 % етанолом у співвідношенні сировина-екстрагент 1:25, та екстракт трави ельшольції Стаунтона, одержаний 70 % етанолом у співвідношенні сировина-екстрагент 1:10. Технологія одержання даних сухих екстрактів наведена нижче.

Наважку здрібненої сировини, що проходила крізь сито з отворами діаметром 3 мм, вміщували в екстрактор і додавали відповідний екстрагент: для трави ельшольції війчастої – 20 % етанол у співвідношенні сировина-екстрагент 1:25; для трави ельшольції Стаунтона – 70 % етанол у співвідношенні сировина-екстрагент 1:10. Мацерацію здійснювали протягом 10 діб при кімнатній температурі. Одержані екстракти фільтрували, спочатку випаровували до густої

консистенції, а потім висушували у вакуумній сушильній шафі за температури 40 °С до одержання сухих екстрактів.

Дослідження фенольних сполук – фенольних та інших кислот і флавоноїдів – в одержаних сухих екстрактах ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона проводили методом ВЕРХ [101]. Результати визначення гідроксикоричних кислот наведені у таблиці 5.7 та на рис. 5.2-5.3.

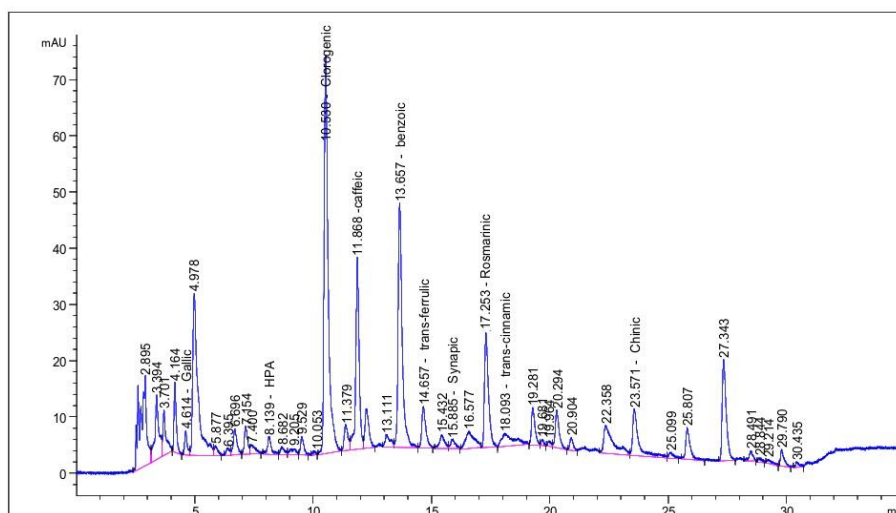


Рис. 5.2 ВЕРХ-хроматограма гідроксикоричних та інших кислот СЕЕВ.

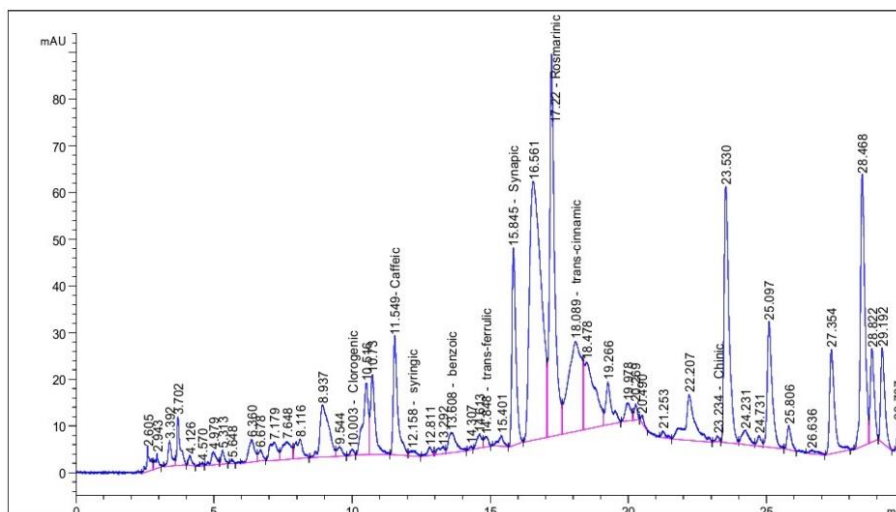


Рис. 5.3 ВЕРХ-хроматограма гідроксикоричних та інших кислот СЕЕС.

**Вміст гідроксикоричних та інших кислот у сухих екстрактах
трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона**

№ з/п	Назва кислоти	Вміст, мкг/г	
		СЕЕВ	СЕЕС
Фенілкарбонові кислоти			
1	Бензойна кислота	2962,32±59,25	459,88±9,20
2	Гідроксифенілоцтова кислота	260,69±5,21	—
3	Галова кислота	231,41±4,83	—
Гідроксикарбонові кислоти			
4	Хінна кислота	707,42±114,15	45,93±0,92
Гідроксикоричні кислоти			
5	Хлорогенова кислота	7797,21±155,94	604,16±12,08
6	Кофейна кислота	452,18±9,04	730,27±14,24
7	Бузкова кислота	418,59±8,37	103,69±2,07
8	<i>транс</i> -Ферулова кислота	492,34±9,85	144,45±2,89
9	Синапова кислота	117,23±2,35	1772,83±35,46
10	<i>транс</i> -Корична кислота	169,95±3,40	1270,48±25,41
11	Розмаринова кислота	—	1857,40±37,15

Примітка. «—» – сполука не знайдена.

У результаті проведеного дослідження у СЕЕВ було ідентифіковано та визначено вміст 10 фенольних та інших кислот, а в СЕЕС – 8. Серед ідентифікованих сполук у СЕЕВ у найбільшій кількості визначені хлорогенова (7797,21±155,94 мкг/г) та бензойна (2962,32±59,25 мкг/г) кислоти. У СЕЕС за вмістом домінували такі кислоти: розмаринова (1857,40±37,15 мкг/г), синапова (1772,83±35,46 мкг/г) і *транс*-корична (1270,48±25,41 мкг/г) кислоти [34, 147].

Результати визначення флавоноїдів методом ВЕРХ [139] у СЕЕВ і СЕЕС наведено на рис. 5.4-5.5 та у таблиці 5.8.

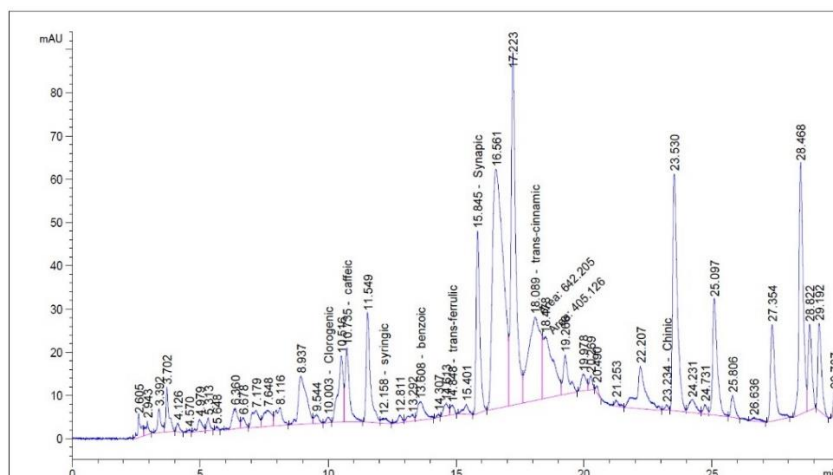


Рис. 5.4 ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів СЕЕВ.

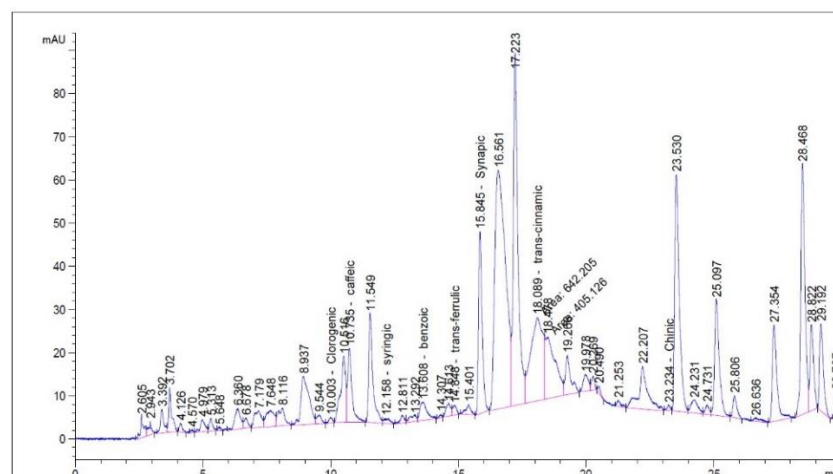


Рис. 5.5 ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів СЕЕС.

Таблиця 5.8

Вміст флавоноїдів у сухих екстрактах трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона

№ з/п	Назва сполуки	Вміст, мкг/г	
		СЕЕВ	СЕЕС
1	2	3	4
1.	Рутин	1601,38±32,03	—
2.	Кверцетин-3-β-глюкозид	—	1651,93±33,04
3.	Нарінгин	257,62±5,15	1125,07±22,50

1	2	3	4
4.	Неогесперидин	1402,25±28,05	9309,76±186,20
5.	Кверцетин	744,86±14,90	—
6.	Лютеолін	—	29573,66±591,47
7.	Нарінгенін	—	358,99±7,18

Примітка. «—» – сполука не знайдена.

У результаті ВЕРХ аналізу в СЕЕВ ідентифіковано та визначено вміст 4, а в СЕЕС – 5 флавоноїдних сполук. Домінуючими флавоноїдами в СЕЕВ були рутин (1601,38±32,03 мкг/г) і неогесперидин (1402,25±28,05 мкг/г), а СЕЕС – лютеолін (29573,66±591,47 мкг/г) і неогесперидин (9309,76±186,20 мкг/г) [147].

У СЕЕВ і СЕЕС визначено вміст гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та суми поліфенолів. Визначення проводили спектрофотометричним методом за методиками ДФУ 2.0 [15-18]. Результати проведених досліджень наведені у таблиці 5.9 і на рис. 5.6.

Таблиця 5.9

Вміст фенольних сполук у сухих екстрактах трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона

Група БАР	Вміст, %	
	СЕЕВ	СЕЕС
Гідроксикоричні кислоти (СЕЕВ – вміст у перерахунку на хлорогенову кислоту; СЕЕС – вміст у перерахунку на розмаринову кислоту)	1,77±0,08	5,68±0,23
Флавоноїди у перерахунку (СЕЕВ – вміст у перерахунку на рутин; СЕЕС – вміст у перерахунку на лютеолін)	3,38±0,14	6,03±0,24
Сума поліфенолів / вміст у перерахунку на пірогалол	5,31±0,21	14,52±0,48

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

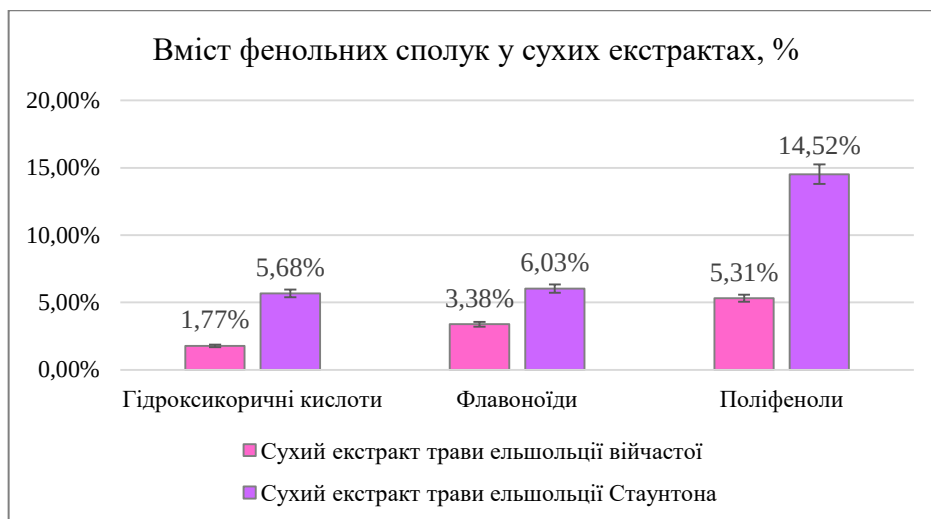


Рис. 5.6 Результати визначення фенольних сполук у сухих екстрактах ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона.

Як свідчать результати кількісного визначення, за вмістом фенольних сполук домінував СЕЕС: гідроксикоричних кислот – $5,68 \pm 0,23$ %, флавоноїди – $6,03 \pm 0,24$ %, сума поліфенолів – $14,52 \pm 0,48$ %. Вміст цих груп БАР у СЕЕВ був значно нижчий і складав $1,77 \pm 0,08$ %, $3,38 \pm 0,14$ % і $5,31 \pm 0,21$ % відповідно. Результати фітохімічного дослідження сухих екстрактів використані при розробці проєктів МКЯ «Ельшольції війчастої трави екстракт сухий» і «Ельшольції Стаунтона трави екстракт сухий» (додаток Б).

5.3 Дослідження фармакологічної активності сухих екстрактів

5.3.1 PASS-прогноз фармакологічної дії

Прогноз фармакологічних властивостей здійснювали відносно СЕЕВ і СЕЕС, основними компонентами яких були фенольні сполуки – гідроксикоричні кислоти та флавоноїди. Одержані дані показників вірогідності наявності та відсутності активності для СЕЕВ наведено у таблиці 5.10, а показники вірогідності наявної та відсутньої фармакологічної дії для СЕЕС наведено у таблиці 5.11.

Прогноз фармакологічної дії сухого екстракту трави ельшольції в'їчної

Активність	Pa/Pi	Механізм дії	Pa/Pi
1	2	3	4
Хлорогенова кислота			
Антиканцерогенна	0,846/0,004	Агоніст цілісності мембрани	0,940/0,004
Антиоксидантна	0,785/0,004	Інгібітор проникності мембран	0,865/0,004
Протипухлинна	0,778/0,014	Поглинання вільних радикалів	0,856/0,002
Антигіпоксантична	0,726/0,006	Інгібітор ліпопероксидази	0,855/0,003
Антифунгальна	0,638/0,014	Інгібітор оксидоредуктази	0,846/0,004
Протизапальна	0,598/0,032	Інгібітор експресії HIF1A	0,826/0,010
Протипухлинна (неходжкінська лімфома)	0,561/0,020	Мукомембранозний протектор	0,752/0,034
Антиметастатична	0,542/0,012	Інгібітор експресії JAK2	0,690/0,019
Противиразкова	0,542/0,017	Інгібітор CDP- гліцеролгліцерофосфотрансферази	0,705/0,053
Противірусна (гепатит В)	0,528/0,004	Інгібітор експресії MMP9	0,651/0,010
Антибактеріальна	0,537/0,013	Інгібітор β -глюкуронідази	0,646/0,008
Вротивірусна (грип)	0,537/0,018	Інгібітор <i>транс</i> -аценафтен-1,2- діолдегідрогенази	0,647/0,017
Радіосенсибілізувальна	0,529/0,033	Підсилює експресію APOA1	0,622/0,009
		Регулятор кальцію	0,580/0,006
		Інгібітор ГАМК-амінотрансферази	0,584/0,010
		Інгібітор глюканендо-1,6- β - глюкозидази	0,602/0,034
		Регулятор ліпідного обміну	0,565/0,027
		Підсилює експресію HMOX1	0,559/0,025
		Інгібітор хлордеконредуктази	0,576/0,066
Рутин			
Кардіопротекторна	0,988/0,001	Інгібітор проникності мембран	0,990/0,000
Антиканцерогенна	0,983/0,001	Поглинає вільні радикали	0,988/0,001
Гепатопротекторна	0,968/0,001	Інгібітор ліпопероксидази	0,987/0,001
Антиоксидантна	0,923/0,003	Агоніст цілісності мембрани	0,984/0,001

1	2	3	4
Протипухлинна	0,849/0,007	Інгібітор CDP-гліцеролгліцерофосфотрансферази	0,919/0,007
Антифунгальна	0,784/0,006	Інгібітор експресії HIF1A	0,842/0,009
Противірусна (грип)	0,743/0,004	Інгібітор хлордеконредуктази	0,824/0,016
Радіосенсибілізувальна	0,742/0,004	Інгібітор β -глюкуронідази	0,764/0,003
Протизапальна	0,728/0,013	Підсилює експресію HMOX1	0,753/0,004
Антибактеріальна	0,677/0,005	Агоніст цілісності мембрани	0,758/0,010
Протиінфекційна	0,657/0,009	Інгібітор оксидоредуктази	0,694/0,016
Антимікобактеріальна	0,605/0,010	Інгібітор <i>транс</i> -аценафтен-1,2-діолдегідрогенази	0,557/0,030
Противиразкова	0,586/0,012	Підсилює експресію APOA1	0,510/0,025
Протипухлинна (рак молочної залози)	0,536/0,016		
Противірусна (герпес)	0,526/0,007		
Антиметастатична	0,522/0,015		
Антимутагенна	0,503/0,015		
Спазмолітична	0,494/0,029		

Примітки:

1. Ра – вірогідність наявності фармакологічної активності;
2. Рі – вірогідність відсутності фармакологічної активності.

Таблиця 5.11

Прогноз фармакологічної дії сухого екстракту трави ельшольції Стаунтона

Активність	Ра/Рі	Механізм дії	Ра/Рі
1	2	3	4
Розмаринова кислота			
Антисептична	0,629/0,007	Агоніст цілісності мембрани	0,956/0,003
Радіосенсибілізувальна	0,562/0,025	Інгібітор хлордеконредуктази	0,780/0,024

1	2	3	4
Антиоксидантна	0,539/0,005	Протектор муко мембран	0,779/0,024
		Підсилює експресію APOA1	0,751/0,004
		Поглинає вільні радикали	0,745/0,003
		Інгібітор експресії JAK2	0,745/0,013
		Інгібітор ліпопероксидази	0,719/0,005
		Інгібітор експресії HIF1A	0,686/0,022
		Регулятор ліпідного обміну	0,672/0,013
		Підсилює експресію HMOX1	0,666/0,012
		Інгібітор ГАМК-аміно трансферази	0,626/0,007
		Інгібітор <i>транс</i> -аценафтен-1,2-діолдегідрогенази	0,581/0,026
		Інгібітор β -глюкуронідази	0,558/0,023
Лютеолін			
Антиоксидантна	0,775/0,004	Інгібітор хлордеконредуктази	0,978/0,001
Протипухлинна	0,783/0,014	Агоніст цілісності мембрани	0,965/0,003
Антисептична	0,710/0,005	Інгібітор експресії HIF1A	0,964/0,003
Гепатопротекторна	0,658/0,009	Інгібітор проникності мембран	0,953/0,002
Протизапальна	0,661/0,021	Підсилює експресію HMOX1	0,935/0,002
Радіосенсибілізувальна	0,632/0,009	Підсилює експресію APOA1	0,822/0,003
Спазмолітична	0,544/0,021	Протектор муко мембран	0,808/0,016
Антифунгальна	0,520/0,027	Інгібітор експресії MMP9	0,777/0,004
		Поглинач вільних рад	0,755/0,003
		Інгібітор ліпопероксидази	0,740/0,004
		Інгібітор β -глюкуронідази	0,735/0,003
		Інгібітор оксидоредуктази	0,693/0,016
		Інгібітор <i>транс</i> -аценафтен-1,2-діолдегідрогенази	0,666/0,014
		Інгібітор β -глюканендо-1,6-глюкозидази	0,672/0,023
		Регулятор ліпідного обміну	0,589/0,023

1	2	3	4
		Інгібітор фактора транскрипції NF каппа В	0,503/0,005

Примітки:

1. P_a – вірогідність наявності фармакологічної активності;
2. P_i – вірогідність відсутності фармакологічної активності.

Антибактеріальна та антифунгальна активності (табл. 5.10 і 5.11) для досліджуваних екстрактів становила P_a у межах (0,784–0,537) для СЕЕВ і (0,710–0,520) для СЕЕС, що може свідчити про притаманну антимікробну активність, а значення P_i відповідали вимогам як за їх величиною, так і за умовою $P_a > P_i$. Також, прогнозувалися деякі механізми дії (інгібітор глюканендо-1,6-бета-глюкозидази, інгібітор CDP-гліцеролгліцерофосфотрансферази), які мають значення для антимікробної дії досліджуваних екстрактів.

Для сухих екстрактів також був проведений прогноз аналгетичної та протизапальної дії. Екстракт трави ельшольції в'їчастої показав такі прогнозовані значення P_a (табл. 5.10) для аналгетичної у межах (0,728–0,598) та для протизапальної дії – 0,584–0,494. За вірогідністю прояву даних видів активності екстракту трави ельшольції Стаунтона характеризувався значеннями P_a 0,661 для протизапальної та у межах (0,626–0,544) для аналгетичної активностей (табл. 5.11). Механізми дії (інгібітор ГАМК-амінотрансферази), які прогнозувалися програмою мають значення для цього виду активності.

Також, для досліджуваних сухих екстрактів прогнозувалася протипухлинна дія (табл. 5.10 та 5.11), де P_a знаходилася у межах (0,849–0,522) для СЕЕВ та (0,738–0,562) для СЕЕС, а також деякі механізми дії (інгібітор експресії JAK2, інгібітор експресії HIF1A, інгібітор експресії MMP9, інгібітор фактора транскрипції NF каппа В), які опосередковано можуть впливати на цей вид активності.

Антиоксидантна та антирадикальна дія екстрактів за вірогідним прогнозом (P_a) знаходилася у межах (0,923–0,785) для СЕЕВ і (0,775–0,539) для СЕЕС (табл. 5.10 та 5.11). Для цього виду активності також прогнозувалися певні механізми дії, а саме агоніст цілісності мембрани, інгібітор хлордеконредуктази, мукомембранозний протектор, підсилювач експресії АРОА1, поглинач вільних радикалів, інгібітор ліпід-пероксидази, регулятор ліпідного обміну, інгібітор транс-аценафтен-1,2-діолдегідрогенази, інгібітор бета-глюкуронідази, інгібітор проникності мембран, інгібітор оксидоредуктази.

Противірусна дія прогнозувалася лише для СЕЕВ та характеризувалася такими значеннями P_a , які лежали у межах (0,743–0,526) (табл. 5.10).

Таким чином, проведений прогноз фармакологічної активності за допомогою експертної системи Prediction of Activity Spectra for Substances для сухих екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона є достатньою теоретичною основою для подальшого планування експериментів з метою обґрунтування їх майбутнього застосування у практичній медицині.

5.3.2 Визначення гострої токсичності

Оскільки одним із найбільш визначальних факторів при впровадженні нових лікарських засобів є їх безпека, доцільно було провести дослідження гострої токсичності сухих екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона. При проведенні експериментальних досліджень тварини перебували у звичайних умовах згідно з нормами і принципами Директиви Ради ЄС з питань захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових досліджень [114].

Визначення гострої токсичності проводили у відділі медичної хімії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ» під керівництвом завідувача відділу, д. біол. н. О. Є. Ядловського. Дослідження проводили за методом Прозоровського [71]. Результати експериментальних досліджень наведені у таблиці 5.12.

Гостра токсичність сухих екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона, $n = 4$

Досліджуваний екстракт	Доза, мг/кг	Кількість тварин/загибель	LD ₅₀ , мг/кг
СЕЕВ	5000	4/0	>5000
	1000	4/0	
	500	4/0	
СЕЕС	5000	4/0	>5000
	1000	4/0	
	500	4/0	

Примітка. n – кількість тварин у групі.

Результати експерименту (табл. 5.12) показали, що сухі екстракти трави обох видів ельшольції не викликали загибелі тварин у дослідних групах. Реєструвалась незначна інтоксикація в перші години експерименту та була однаковою для обох екстрактів. Клінічна картина гострого отруєння у мишей при введенні обох сухих екстрактів носила дозо-залежний характер та супроводжувалася ускладненням дихання, загальмованістю, потягами до блювоти, тремором, нетиповим пересуванням по клітці, вигинанням спини у дозі 5000 мг/кг. У дозі 1000 мг/кг спостерігалися потяги до блювоти, нетипове пересування по клітці, зниження рухової активності. При введенні сухих екстрактів у дозі 500 мг/кг у мишей знижувалася рухова активність, відмічалися потяги до блювоти та сонливість. Слід зазначити, що симптоми проходили протягом часу і у подальші періоди спостереження поведінка тварин не відрізнялася від фізіологічної норми [32, 147].

У таблиці 5.13 наведено результати спостереження за динамікою зміни маси тіла у піддослідних тварин при одноразовому внутрішньошлунковому введенні досліджуваних екстрактів.

Динаміка зміни маси тіла при одноразовому внутрішньошлунковому введенні сухих екстрактів

Доза, мг/кг	Статистичний показник	Вихідне	3 день	7 день	14 день
СЕЕВ					
5000	M±m	27,25±1,25	26,75±0,96	26,65±0,66	27,45±1,38
	% до вихідного		-1,83	-2,20	0,73
1000	M±m	26,62±0,95	26,35±0,52	26,67±0,47	27,51±0,36
	% до вихідного		-1,03	0,19	3,32
500	M±m	27,62±0,47	27,65±0,79	27,80±0,53	28,45±0,13
	% до вихідного		0,09	0,63	2,99
СЕЕС					
5000	M±m	26,25±1,26	27,00±0,82	27,10±0,80	27,27±0,74
	% до вихідного		2,85	3,24	3,90
1000	M±m	27,35±1,25	26,87±0,91	27,72±0,63	27,80±1,11
	% до вихідного		-1,74	1,37	1,66
500	M±m	27,50±1,29	27,95±1,47	28,45±1,43	28,63±1,26
	% до вихідного		1,64	3,45	4,09
Контроль					
Контроль	M±m	26,00±1,15	26,75±0,5	27,50±0,57	28,12±1,03
	% до вихідного		2,88	5,76	8,17

Примітка. $P < 0,05$ у порівнянні з вихідним значенням.

Контроль маси тіла вказував на дозо-залежне зниження динаміки збільшення маси тіла тварин, які одержували сухі екстракти у досліджуваних дозах на 3, 7 і 14 день (табл. 5.13). Одночасно, при огляді тварин та при розтині загинувших тварин відзначено, що вовна чиста, видимі слизові злегка ціанотичні, при візуальному обстеженні внутрішніх органів (серце, легені, печінка, підшлунко-

ва залоза, нирки, кишечник, шлунок, статеві органи) відхилень від норми не виявлено. Маса внутрішніх органів тварин була в рамках фізіологічної норми. Експериментально встановлено, що протягом 14 днів дослідження усі тварини вижили, симптоми інтоксикації – відсутні, зміни, які характеризували вплив на органи та системи організму, не виявлені. Отже, одержані дані дозволили віднести досліджувані сухі екстракти трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона до V класу токсичності (практично нетоксичних речовин) ($LD_{50} > 5000$ мг/кг) [32, 147].

5.3.3 Вивчення фармакологічних властивостей

Спираючись на результати PASS-прогнозу щодо вірогідності прояву фармакологічних властивостей та нетоксичність сухих екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона, нами були вивчено аналгетичну, протизапальну, анксиолітичну та антирадикальну активності. Дослідження проводили на базі відділу медичної хімії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ» під керівництвом завідувача відділу, д. біол. н. О. Є. Ядловського.

Вивчення аналгетичної активності.

Дослідження аналгетичної дії сухих екстрактів ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона проводили на моделі оцтовокислих «корчів». Досліджувані екстракти вводили у дозі 100 мг/кг, що складало $1/50 LD_{50}$, виходячи з вивченого діапазону доз гострої токсичності [22, 120]. Результати проведеного вивчення наведено у таблиці 5.14.

Як показали результати проведених досліджень, наведені в табл. 5.14, обидва екстракти за вираженістю аналгетичної активності поступалися препаратом порівняння кеторолак. Але СЕЕВ виявляв достовірний аналгетичний ефект – 45,45 %.

Аналгетична активність сухих екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона

Речовина	Доза, мг/кг	Число «корчів» в контролі, $M \pm m$	Число «корчів» в досліді, $M \pm m$	% інгібіції числа «корчів», %
Кеторолак	5,0	$15,5 \pm 1,88$	$2,2 \pm 0,44$	-85,89***
СЕЕВ	100,0	$8,8 \pm 2,52$	$4,8 \pm 0,44$	-45,5*
СЕЕС	100,0	$8,8 \pm 2,52$	$6,0 \pm 1,4$	-31,8

Примітки:

1. *** – $P < 0,001$ в порівнянні з контролем;
2. * – $P < 0,05$ в порівнянні з контролем.

СЕЕС показав тенденцію аналгетичної дії. Оскільки тест оцтовокислих «корчів» характеризував вісцеральний біль, у патогенезі якого відіграють значну роль медіатори запалення, можна припустити наявність протизапального компоненту знеболювальної активності досліджуваних екстрактів [32, 147].

Таким чином, встановлено, що сухий екстракт ельшольції війчастої характеризувався статистично достовірною знеболювальною дією, яка підтверджена прогнозом *insilico* (п. 5.3.1).

Вивчення антиексудативної (протизапальної) активності.

Наступним етапом у проведенні фармакологічних досліджень було вивчення антиексудативної активності сухих екстрактів ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона. Дослідження проводили на моделі карагенінового набряку у мишей у дозі 100 мг/кг [22]. Результати вивчення наведені в таблиці 5.15.

**Антиексудативна активність сухих екстрактів трави ельшольції війчастої
та ельшольції Стаунтона**

Речовина	Доза, мг/кг	Величина набряку в контролі, у.о., $M \pm m$	Величина набряку в досліді, у.о., $M \pm m$	% інгібіції набряку
Диклофенак натрію	4,0	54,70 $\pm$ 4,64	30,5 $\pm$ 5,62	-44,2***
СЕЕВ	100,0	27,64 $\pm$ 4,92	15,5 $\pm$ 3,85	-43,9*
СЕЕС	100,0	27,64 $\pm$ 4,92	20,94 $\pm$ 15,91	-24,24

Примітки:

1. *** – $P < 0,001$ в порівнянні з контролем;
2. * – $P < 0,05$ в порівнянні з контролем.

Експериментально встановлено, що СЕЕВ виявляв антиексудативну дію, що співставима з активністю референс-препарату – диклофенак натрію (табл. 5.15). Для СЕЕВ також притаманна антиексудативна активність. Відомо, що модель «карагенінового» набряку характеризує циклооксигеназний компонент запалення. Таким чином, одержані дані не виключають впливу досліджуваних сухих екстрактів ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона на функцію ізоферментів ЦОГ [147].

Вивчення анксиолітичної активності.

Вивчення впливу сухих екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона на ЦНС проводили на моделі «відкритого поля» за оцінкою горизонтальної, вертикальної, дослідницької та психоемоційної активності (тривалість грумінга, кількість фекальних болюсів) [106, 129]. Результати дослідження наведено у таблиці 5.16.

Анксиолітична активність сухих екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона, n = 5

Показник активності		СЕЕВ		СЕЕС	
		M±m	%	M±m	%
Кількість пересічених квадратів, n	Контроль	100,20±13,10		100,20±13,10	
	Дослід	100,00±7,95	-0,20	85,80±7,10	-14,30
Дослідницька активність (заглядування у нірки) , n	Контроль	2,80±0,41		2,80±0,40	
	Дослід	2,40±0,65	-14,29	2,60±0,28	-7,140
Вертикальна активність (вставання на задні лапки) , n	Контроль	6,00±1,35		6,00±1,80	
	Дослід	6,00±1,61	0	8,00±1,75	33,30
Грумінг, сек	Контроль	9,20±2,04		9,20±2,04	
	Дослід	5,60±1,64	-39,13	7,60±3,40	-17,30
Фекальні болюси, n	Контроль	1,00±0,22		1,00±0,22	
	Дослід	0,33±0,12	-66,70	0,50±0,13	-50,00

Примітка. $P < 0,05$ в порівнянні з контролем.

При оцінці анксиолітичної активності встановлено, що п'ятиденне пероральне введення СЕЕС практично не впливало на поведінку тварин, незначно збільшуючи вертикальну активність мишей (табл. 5.16). Введення СЕЕВ також не достовірно впливало на поведінку тварин. Слід відмітити зниження кількості грумінгу та числа фекальних болюсів у мишей. Дані показники характеризували психоемоційний стан тварин і вказували на незначну анксиолітичну дію досліджуваних екстрактів. Таким чином, встановлено, що на моделі відкритого поля повторні введення досліджених екстрактів не проявляли негативного впливу на поведінку мишей.

Вивчення антирадикальної (антиоксидантної) активності.

Показники оптичної густини спиртових розчинів стабільного радикалу ДФПГ (контроль) та спиртових розчинів ДФПГ, що містили досліджувані екстракти (дослід) за проміжок часу проведення експерименту, а також відсотковий показник АРА, який характеризував здатність досліджуваних екстрактів знижувати вміст радикальної форми ДФПГ у спиртовому розчині за проміжок часу 10 хв, наведені у таблиці 5.17.

Таблиця 5.17

Показники оптичної густини спиртових розчинів стабільного радикалу ДФПГ (D_{515}^0) та ДФПГ + Екстракт (D_{516}^t) при взаємодії спиртового розчину ДФПГ із екстрактами двох видів ельшольції та препаратом порівняння ($t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$)

Досліджувані субстанції	Оптична густина за проміжок часу з початку реакції (хв.) D_{0520} , Кількість вимірів, $n = 5$						АРА (%), за 10 хв
	1 хв	2 хв	4 хв	6 хв	8 хв	10 хв	
ДФПГ	0	0	0	0	0	0	0
ДФПГ + настойка листя горіха волоського	$0,67 \pm 0,03^*$	$0,52 \pm 0,02^*$	$0,36 \pm 0,01^*$	$0,28 \pm 0,01^*$	$0,23 \pm 0,01^*$	$0,19 \pm 0,01^*$	$85,30 \pm 4,27$
ДФПГ + сухий екстракт трави ельшольції війча- стої	$0,98 \pm 0,04^*$	$0,88 \pm 0,03^*$	$0,78 \pm 0,03^*$	$0,71 \pm 0,03^*$	$0,66 \pm 0,03^*$	$0,61 \pm 0,02^*$	$52,74 \pm 2,64$
ДФПГ + сухий екстракт трави ельшольції Стау- нтонна	$0,47 \pm 0,02^*$	$0,27 \pm 0,01^*$	$0,16 \pm 0,01^*$	$0,09 \pm 0,01^*$	$0,08 \pm 0,01^*$	$0,08 \pm 0,01^*$	$93,80 \pm 4,69$

Примітка. * – $P < 0,05$ – відносно спиртового розчину ДФПГ (контролю).

Як видно з табл. 5.17, досліджувані екстракти обох видів ельшольції знижували вміст радикальної форми ДФПГ, тобто виявляли АРА. Найвища антирадикальна активність була визначена для СЕЕС та складала $93,80 \pm 4,69\%$, яка перевищувала активність референс-препарату – настойки листя горіха волоського – $85,30 \pm 4,27\%$. АРА СЕЕВ була дещо нижчою та складала $52,74 \pm 2,64\%$.

Висновки до розділу 5

1. Проведено скринінгове дослідження антимікробної та антифунгальної активності екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона, за результатами якого обрано перспективні екстракти для проведення подальших досліджень.

2. Розроблено та запропоновано спосіб одержання сухих екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона та проведено їх фітохімічне дослідження. Методом ВЕРХ ідентифіковано гідроксикоричні кислоти та флавоноїди: у сухому екстракті трави ельшольції війчастої – 10 гідроксикоричних кислот і 4 флавоноїди, у сухому екстракті трави ельшольції Стаунтона – 8 і 5 відповідно. Серед гідроксикоричних кислот в обох екстрактах у найбільшій кількості визначена кофейна кислота – $7797,21 \pm 155,94$ мкг/г і $1857,40 \pm 37,15$ мкг/г відповідно. Серед флавоноїдів домінували: у сухому екстракті ельшольції війчастої кверцетин – $1601,38 \pm 32,03$ мкг/г, у сухому екстракті ельшольції Стаунтона неогесперидин – $29573,66 \pm 591,47$ мкг/г.

3. Спектрофотометричним методом визначено вміст гідроксикоричних кислот, флавоноїдів і суми поліфенолів: у сухому екстракті трави ельшольції війчастої був значно нижчий і склав $1,77 \pm 0,08$ %, $3,38 \pm 0,14$ % і $5,31 \pm 0,21$ %, у сухому екстракті трави ельшольції Стаунтона – $5,68 \pm 0,23$ %, $6,03 \pm 0,24$ % і $14,52 \pm 0,48$ % відповідно.

4. Для одержаних сухих екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона визначено гостру токсичність. Встановлено, що за класифікацією К. К. Сидорова обидва екстракти відносяться до V класу токсичності (практично нетоксичні речовини). У дослідях *in vitro* та *in vivo* встановлено наявність антимікробної, антифунгальної, анагетичної, протизапальної, анксиолітичної та антирадикальної активностей.

5. За результатами проведених досліджень розроблені проєкти МКЯ на «Ельшольції війчастої трави екстракт сухий» та «Ельшольції Стаунтона трави екстракт сухий».

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. The Study of Phenolic Composition and Acute Toxicity, Anti-inflammatory and Analgesic Effects of Dry Extracts of Some *Elsholtzia* Genus (Lamiaceae) Species / L. Zotsenko, V. Kyslychenko, K. Kalko, S. Drogozov. *PharmacologyOnline*. 2021. Vol. 2. P. 637–49. (Scopus) (*Особистий внесок* – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, одержувала екстракти, брала участь в обговоренні результатів дослідження та написанні статті)

2. Патент на корисну модель № 148148, МПК А61К 36/00. Спосіб отримання сухих екстрактів рослинного походження з антибактеріальною дією / Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. (Україна). № u202006318; Заявл. 29.09.2020; Опубл. 15.07.2021; Бюл. № 8. (*Особистий внесок* – брала участь в патентному пошуку, одержанні лікарського засобу та оформленні патенту)

3. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Визначення гострої токсичності сухих екстрактів ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) та ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* Thun.). *Planta+*. *Наука, практика та освіта*: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, 19 лютого 2021 р., м. Київ. Київ: НМУ Богомольця, 2021. С. 306–307.

4. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Дослідження кількісного та якісного складу біологічно активних речовин в сухому екстракті трави ельшольції Стаунтона. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: збірник матеріалів III Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, 2 квітня 2021 р., м. Харків. Харків: Видавництво НФаУ, 2021. С. 88.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведені експериментальні результати вирішення наукової задачі, яка визначається у комплексному фармакогностичному дослідженні листя, суцвіть, трави та стебел ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона, одержанні лікарських засобів на основі перспективних видів сировини, а також розробці параметрів стандартизації лікарської рослинної сировини та лікарських рослинних засобів.

1. Проведено аналіз джерел сучасної наукової літератури щодо актуальності проведення досліджень сировини ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона з метою обрання перспективної лікарської рослинної сировини.

2. Хімічними реакціями, методами ПХ, ТШХ, ГХ/МС, ГХ, ВЕРХ, іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії та РФМ у сировині ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона встановлено наявність та ідентифіковані амінокислоти, вуглеводи, органічні кислоти, фенольні сполуки, хлорофіли, каротиноїди, вільні жирні кислоти, фітостероли, компоненти летких сполук, макро- та мікроелементи.

3. Гравіметричним, титриметричним, спектральними та хроматографічними методами визначено вміст БАР у досліджуваних видах сировини ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона. Результати проведених досліджень показали, що домінуючі кількості сполук встановлені у траві обох видів ельшольції. Тому даний вид сировини було обрано для проведення подальших випробувань.

4. Проведено визначення фракційного складу полісахаридів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона і встановлено вміст ВРПС, ПР, ГЦ А та ГЦ Б, що склало $6,70 \pm 0,45$ % і $7,78 \pm 0,52$ %, $2,93 \pm 0,20$ % і $3,26 \pm 0,22$ %, $4,25 \pm 0,28$ % і $5,38 \pm 0,36$ %, $2,46 \pm 0,16$ % і $3,49 \pm 0,23$ % відповідно.

5. Визначено мінеральний склад сировини ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона методом рентген-флуоресцентної спектрометрії. Ідентифіковано та встановлено вміст 16 елементів, серед яких в усіх досліджуваних видів сировини у найбільшій кількості містилися К, Са і S. Вміст важких металів знаходився в межах вимог гранично допустимих концентрацій для сировини та харчових продуктів.

6. Визначено морфолого-анатомічні ознаки трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона. До відмінних морфологічних ознак належать характер опушення стебла, листової пластинки та віночка; форма та край листа; колір віночка. Основними відмінними анатомічними діагностичними ознаками є для трави ельшольції війчастої – дрібні залозисті трихоми, які розміщені поодинокі на жилках, довгі прості трихоми, розташовані на центральній жилці з нижнього боку, та прості трихоми черешка, які в три рази довші за аналогічні у ельшольції Стаунтона; для ельшольції Стаунтона – численні трихоми усіх трьох типів та масивні скупчення склеренхіми у стеблі.

7. Проведено стандартизацію трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона. Визначено показники якості (втрата в масі при висушуванні, загальна зола, зола, нерозчинна в хлористоводневій кислоті, екстрактивні речовини) та технологічні параметри (середній розмір часток, питома маса, об'ємна та насипна густина, пористість, нарізність, вільний об'єм шару, коефіцієнт поглинання екстрагенту для різних розчинників). За результатами проведених досліджень розроблено проекти МКЯ «Ельшольції війчастої трава» та «Ельшольції Стаунтона трава».

8. Розроблено технології одержання сухих екстрактів з трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона. Проведено їх фітохімічне вивчення, у результаті якого встановлено наявність та визначено вміст фенольних сполук – гідроксикоричних кислот ($1,77 \pm 0,08$ % і $5,68 \pm 0,23$ %), флавоноїдів ($3,38 \pm 0,14$ % і $6,03 \pm 0,24$ %) та суми поліфенолів ($5,31 \pm 0,21$ % і $14,52 \pm 0,48$ %) відповідно. Створено проекти МКЯ «Ельшольції війчастої трави екстракт сухий» і «Ельшольції Стаунтона трави екстракт сухий».

9. Для сухих екстрактів трави ельшольції війчастої та ельшольції Стаунтона проведено вивчення гострої токсичності та фармакологічної активності. Встановлено, що за класифікацією К. К. Сидорова екстракти належать до V класу токсичності (практично нетоксичні речовини). Визначено, що для екстрактів притаманні антимікробна, аналгетична, антиоксидантна, анксиолітична та антирадикальна активності.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аминокислоты – наноразмерные молекулы: клиникалабораторные исследования / И. С. Чекман, А. О. Сыровая, И. В. Новикова и др. Х., 2014. 154 с.
2. Андрущенко О. О., Криворучко О. В. Аналіз ліпофільних екстрактів листя *Sorbus aucuparia*, *Sorbus aria* та *Sorbus torminalis*. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2013. № 3 (13). С. 73-75.
3. Біохімічний склад рослин видів роду *Astragalus* L. та *Elsholtzia* Willd в умовах інтродукції в НБС ім. М.М. Гришка НАН України / О. П. Бондарчук, М. В. Рись, В. В. Фіщенко та ін. *Хімія природних сполук*: мат. IV Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. уч-тю (м. Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р.). Тернопіль: ТДМУ, 2016. С. 73-74.
4. Вивчення вітамінного складу сухих порошків біомаси *Flammulina velutipes* / Т. А. Буткевич, М. Л. Сятиня, В. П. Попович, Р. І. Козак. *Фармацевтичний журнал*. 2015. № 6. С. 70-75.
5. Вивчення летких фракцій сировини моркви посівної сортів «Яскрава» та «Нантська харківська» / Д.-М. В. Пазюк, І. О. Журавель, О. А. Кисличенко, Н. Є. Бурда. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2017. №3 (7). Р. 29-33.
6. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів. Методичні рекомендації. К., 2004. 38 с.
7. Войцехівська О. В., Ситар О. В., Таран Н. Ю. Фенольні сполуки: різноманіття, біологічна активність, перспективи застосування. *Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія Біологія*. 2015. Вип. 1(34). С. 104–119.
8. Волочай В. І., Ковальов В. М. Вивчення амінокислотного складу трави галінсоги дрібноквіткової та галінсоги війчастої. *Запорозж. мед. журн*. 2012. № 3(72). С. 44-46.
9. Выделение рибофлавинсвязывающего апобелка из белка куриных яиц и его использование для определения рибофлавина в биологических образцах / В.

М. Коденцова, О. А. Вржесинская, В. В. Рисник и др. *Прикладная биохимия и микробиология*. 1994. Т. 30, № 4-5. С. 603-609.

10. Гарна С. В., Ветров П. П., Георгіянц В. А. Взаємозв'язок основних технологічних параметрів рослинної сировини. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2012. №1(8). С. 54-57.

11. Гомля Л. М., Давидов Д. А. Флора вищих судинних рослин Полтавського району. Довідник. Полтава: 2008. 263 с.

12. Горобець А.О. Вітаміни і мікроелементи як специфічні регулятори фізіологічних та метаболічних процесів в організмі дітей та підлітків. *Перинатологія і Педіатрія*. 2019. № 4(80). С. 75-92.

13. Гриненко У. В., Журавель І. О. Визначення вмісту хлорофілів та каротиноїдів в листі шпинату городнього (*Spinacia oleracea* L.). Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика. 2017. Вип. 28. С. 29–33.

14. Гриненко У. В., Журавель І. О. Визначення жирнокислотного складу в насіння шпинату городнього сорту «Фантазія». *Фітотерапія. Часопис*. 2017. №3. С. 55-58.

15. Державна фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доп. 1. Х.: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.

16. Державна фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доп. 2. Х.: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. 336 с.

17. Державна фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Х. : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1130 с.

18. Державна Фармакопея України: у 3 т. / ДП «Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів». 2-ге вид. Х.: Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів, 2014. Т. 3. 732 с.

19. Державний реєстр сортів рослин придатних для поширення в Україні на 2015 рік. К., 2015. 324 с.

20. Дмитриева В. Л., Дмитриев Л. Б. Изучение состава эфирных масел эфиромасличных растений нечернозёмной зоны России. *Известия ТСХА*. 2011. Вып. 3. С. 106-119.

21. Довгаль Е. А. Определение количественного содержания растительных пигментов в листьях *Typha angustifolia* L. *Наука и медицина: современный взгляд молодежи*: сб. IV Междунар. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Алматы, 20-21 апреля 2017. ISJM. Special Issue. С. 229–230.

22. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. реком. / За ред. О. В. Стефанова. К.: Авіцена, 2001. 528 с.

23. Дослідження леткої фракції коренеплодів пастернаку посівного (*Pastinaca sativa* L.) / Ю. Є. Шиморова, В. С. Кисличенко, В. Ю. Кузнєцова, Н. А. Сущук. *Фітотерапія. Часопис*. 2017. №4. С. 34-37.

24. ДСТУ 7803:2015. Продукти перероблення фруктів та овочів. Методи визначання вітаміну С [ГОСТ 24556-89 (ИСО 6557-1-86, ИСО 6557-2-84), чинний від 2016-04-01]. Вид. офіц. Київ: УкрНДНЦ, 2016. IV, 19 с. (Національний стандарт України).

25. Євлаш В. В., Отрошко Н. О., Вакшуль З. В. Кількісне визначення вітаміну С в модельних харчових системах. *Восточно-Европейский журнал передовых технологий*. 2012. № 6/10(60). С. 52-55.

26. Євлаш В.В., Отрошко Н.О., Вакшуль З. В. Удосконалення методик хімічного аналізу вітаміну С у харчових продуктах. *Прогресивна техніка та технології харчових виробництв, ресторанного та готельного господарств і торгівлі. Економічна стратегія і перспективи розвитку сфери торгівлі та послуг*: міжнар. наук.-практ. конф., 18 жовтня 2012 р., м. Харків. Х.: ХДУХТ, 2012. Ч.1. С. 411-412.

27. Звіт антимонопольного комітету України за результатами дослідження фармацевтичних ринків (за період 2014 р. – перше півріччя 2016 р.) [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.amc.gov.ua/amku/doccatalog/document?id=131567&schema=main> (дата звернення: 14.03.2016). Назва з екрану.

28. Зоценко Л. О. Вивчення вітамінного складу трави деяких видів роду *Elsholtzia* Willd. *Annals of Mechnikov Institute*. 2021. №4. С. 74–78.

29. Зоценко Л. О., Гудзенко В. А. Дослідження вмісту розмаринової кислоти в екстрактах надземних частин ельшольції Стаунтона. *Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: мат. XXXIII Всеукр. наук.-практ. конф. за уч-тю міжнар. спеціалістів, 8 квітня 2016 р., м. Харків. Х.: Вид-во НФаУ, 2016. С. 62.

30. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Визначення вмісту суми органічних кислот у траві ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) та ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* Thun.). *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: мат. V Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 26 листопада 2020 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2020. С. 195–196.

31. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Визначення вмісту хлорофілів та каротиноїдів у траві ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) та ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* Thun.). *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: матеріали IV Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, 26-27 листопада 2020 р., м. Харків. Харків: Видавництво НФаУ, 2020. С. 102–103.

32. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Визначення гострої токсичності сухих екстрактів ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) та ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* Thun.). *Planta+. Наука, практика та освіта*: мат. Міжнар. наук.-практ. конф., 19 лютого 2021 р., м. Київ. К.: НМУ Богомольця, 2021. С. 306–307.

33. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Дослідження вмісту вуглеводів у сировині деяких видів роду *Elsholtzia* Willd. *Annals of Mechnikov Institute*. 2022. № 1. С. 85-89.

34. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Дослідження кількісного та якісного складу біологічно активних речовин в сухому екстракті трави ельшольції Стаунтона. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природ-*

ного походження: зб. мат. III Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 2 квітня 2021 р., м. Харків. Х.: Вид-во НФаУ, 2021. С. 88.

35. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Дослідження макро- і мікроелементного складу сировини *Elsholtzia stauntonii* та *Elsholtzia ciliata*. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. Вип.1. С. 63–66.

36. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Дослідження фітостеролів у траві двох видів ельшольції. *Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень*: матеріали V Міжнародної наукової конференції, 2 квітня 2021 р., м. Березоточа. Березоточа, 2021. С. 264–268.

37. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С., Панасенко О. І. Дослідження технологічних параметрів сировини трави ельшольції Стаунтона та трави ельшольції в'ійчастої. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2020. Т. 14, №4. С. 245–250.

38. Зоценко Л. О., Цуркан О. О. Амінокислотний склад надземних органів *Elsholtzia Stauntonii* Benth. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика*. 2017. Вип.28. С. 51–56.

39. Зоценко Л. О., Цуркан О. О. Дослідження вмісту поліфенольних сполук в екстрактах надземних частин ельшольції Стаунтона. *Хімія природних сполук*: мат. IV Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. уч-тю, 21-22 квітня 2016 р., м. Тернопіль. Тернопіль: ТДМУ, 2016. С. 60–61.

40. Зоценко Л. О., Цуркан О. О. Дослідження вмісту розмаринової кислоти у траві ельшольції Стаунтона. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: матеріали II міжнародної науково-практичної internet-конференції, 21-23 березня 2016 р., м. Харків. Харків: Видавництво НФаУ, 2016. С. 115–116.

41. Зоценко Л. О., Цуркан О.О. Ідентифікація та кількісне визначення мікро-та мікроелементів в сировині *Elsholtzia Stauntonii* Benth. *Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали II міжнародної науково-практичної конференції, 28-29 березня 2018 р., м. Харків. Х.: Вид-во НФаУ, 2018. С. 131–132.

42. Исследование полисахаридов пармелии жемчужной слоевищ / В. А. Пинкевич, А. А. Кисличенко, Е. Н. Новосел, В. С. Кисличенко. *Вестник ВГМУ*. 2017. Том 16, №1. С. 111-116.

43. Кисличенко В. С., Новосел О. М., Бухаріна О. В. Вивчення полісахаридного складу представників родів *Malus* L. і *Pyrus* L. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2009. Т. 4, №1. С. 35–38.

44. Кисличенко О. А., Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження якісного складу та визначення кількісного вмісту суми амінокислот у сировині моркви посівної сортів Яскрава, Нантська Харківська, Оленка, Комет та Афалон. *Фітотерапія. Часопис*. 2018. № 1. С. 41–45.

45. Кількісне визначення фенольних сполук у листі сансев'єрії гіацинтової / В. В. Вельма, І. О. Журавель, А. В. Мартинов, С. В. Вельма. *Annals of Mechnikov Institute*. 2021. № 3. С. 39–42.

46. Котюк Л. А., Рахметов Д. Б. Біологічні особливості ельшольції Патрена (*Elsholzia patrinii* Lер.) в умовах Житомирського Полісся / *Агроекологічний журнал*. 2011. Спецвип. С. 133–136.

47. Коцун Л., Кузьмішина І. Синантропна флора Волинської області : монографія. Луцьк: Друк ПП Іванюк В. П., 2016. 186 с.

48. Краснолобов А. Г., Лаксаева Е. А., Мартынов Е. Г. Ранозаживляющее действие водорастворимых полисахаридов ирги обыкновенной. *Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова*. 2010. Том 18, № 2. С. 1–4.

49. Кузнецова В. Ю., Кисличенко В. С., Суцук Н. А. Вивчення карбонових кислот густого екстракту трави грициків звичайних. *Фітотерапія. Часопис*. 2016. № 3. С. 54–56.

50. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария, Б. В. Западнюк. К.: Вища шк., 1983. 384 с.

51. Липиды и липофильные компоненты некоторых лекарственных растений / В. С. Кисличенко, Е. Н. Новосел, В. Ю. Кузнецова и др. *Химия природных соединений*. № 2. 2006. С. 182-183.

52. Лисенко Є. М. Якісне та кількісне визначення металів за допомогою методу рентгено-флуоресцентної спектроскопії : автореф. дис. ... канд. мед. наук. К., 1996. 22 с.

53. Махия Л. М., Мінарченко В. М., Струменська О. М. Стан та перспективи використання лікарських рослин в офіційній медицині України. *Science and Education a New Dimension. Natural and Technical Sciences*. 2017. Vol. 14, Iss. 132. P. 14-16.

54. Медико-биологические требования и санитарные нормы качества продовольственного сырья и пищевых продуктов. М., 1990. 155 с.

55. Меньщикова Е. Б., Ланкин В. З., Кандалинцева Н. В. Фенольные антиоксиданты в биологии и медицине. Строение, свойства, механизмы действия. LAP LAMBERT Academic Publishing, 2012. 488 с.

56. Методи визначення показників якості продукції рослинництва: Наказ Міністерства аграрної політики та продовольства України № 540. К., 2016. 158 с.

57. Мінарченко В. М. Дослідження вітчизняного ринку лікарських засобів рослинного походження. *Фармацевтичний журнал*. 2017. № 1. С. 30-36.

58. Нові сорти ароматичних, лікарських та барвних рослин селекції Нікітського ботанічного саду / В. Д. Работягов, Г. В. Ходаков, І. Є. Логвіненко та ін. *Бюллетень Никитского ботанического сада*. 2007. Вып. 94. С. 48–51.

59. Новосел О. М., Кисличенко В. С., Ханін В. А. Вивчення ліпофільних фракцій з листя яблуні лісової та груші звичайної. *Медична хімія*. 2003. Т. 5, № 2. С. 87-90.

60. Оленников Д. Н., Танхаева Л. М. Методика количественного определения группового состава углеводного комплекса растительных объектов. *Химия растительного сырья*. 2006. №4. С. 29-33.

61. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам [Методические указания МУК 4.2.18-90-04]. *Клин. микробиол. антимикроб. химиотер.* 2004. Т. 6, № 4. С. 306–359.

62. Особенности накопления биологически активных веществ в растениях *Elsholtzia stauntonii* Benth., выращиваемых в предгорной зоне Крыма / О. А. Пе-

хова, Л. А. Тимашева, И. Л. Данилова, И. В. Белова. *Аграрный вестник Урала*. 2020. № 11(202). С. 76-84.

63. Островский Ю. М. Экспериментальная витаминология. Мн.: Наука и техника, 1979. 552 с.

64. Панченко С. М. Флора національного природного парку «Деснянсько-Старогутський» та проблеми охорони фіторізноманіття Новгород-Сіверського Полісся: Монографія / за заг. ред. д.б.н. С. Л. Мосякіна. Суми: ВТД «Університетська книга», 2005. 170 с.

65. Патент на корисну модель № 100673. Спосіб стандартизації трави ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) в багатокомпонентних рослинних сумішах / Зоценко Л. О., Цуркан О. О., Гудзенко В. А. (Україна). № u201413200; Заявл. 09.12.2014; Опубл. 10.08.2015, Бюл. № 1.

66. Патент на корисну модель № 148148, МПК А61К 36/00. Спосіб отримання сухих екстрактів рослинного походження з антибактеріальною дією / Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. (Україна). № u202006318; Заявл. 29.09.2020; Опубл. 15.07.2021; Бюл. № 8.

67. Погодіна Л. І., Бурда Н. Є., Кисличенко В. С. Визначення вмісту хлорофілів та каротиноїдів у траві хвилівнику звичайного (*Aristolochia clematidis* L.). *Хімія природних сполук*: мат. V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 30-31 травня 2019 р. Тернопіль: ТДМУ, 2019. С. 49-50.

68. Порівняльний аналіз гідроксикоричних кислот артишоку, що вирощений в Україні та Франції / А. І. Федосов, О. О. Добровольний, А. С. Шаламай та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2017. Т. 10, № 1(23). С. 49-53.

69. Практикум по фармакогнозии: Учеб. пособие для студ. вузов / В. Н. Ковалев, Н. В. Попова, В. С. Кисличенко и др. Х. : Золотые страницы, 2003. 640 с.

70. Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів»: Наказ №167 МОЗ України від 05.04.2007.

71. Прозоровский В. Б. Табличный экспресс-метод определения средних эффективных мер воздействия на биологические объекты. *Токсикологический вестник*. 1998. №1. С. 28–32.
72. Романова Ю. М. Образование биопленок — пример социального поведения бактерий. *Микробиология*. 2006. Т. 75, № 4. С. 556–661.
73. Сидоров К. К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. *Токсикология новых промышленных химических веществ*. 1973. Вып. 13. С. 47–51.
74. Скальный А. В. Химические элементы в физиологии и экологии человека. М.: Изд. Дом «Оникс 21 век»; Мир, 2004. 216 с.
75. Сова Т. В. Доповнення до адвентивної флори Південного Сходу України. *Промышленная ботаника*. 2004. Вып. 4. С. 237–240.
76. Сорочан О. О., Штеменко Н. І. Методи аналізу амінокислот: навч.-метод. посіб. Д.: РВВ ДНУ, 2005. 60 с.
77. Степанова Е. Н. Метод определения ниацина в пищевых продуктах. *Вопросы питания*. 1963. № 4. С. 66–70.
78. Тарасов В. В. Флора Дніпропетровської і Запорізької областей. 2-е вид., доп. та випр. Д.: «Ліра», 2012. 296 с.
79. Тимофєєва С. В., Кисличенко О. А., Журавель І. О. Вивчення стероїдних сполук у сировині канни садової. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2017. №2(6). С. 38–41.
80. Федосов А. І., В. Кисличенко С. Вивчення елементного складу артишоку суцвіть та часнику цибулин. *Фітотерапія. Часопис*. 2017. №3. С. 52–55.
81. Фітопрепарати в комплексному лікуванні запальних захворювань пародонту / О. Д. Салюк, П. Г. Герасимчук, Л. О. Зайцев та ін. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2021. Т. 6, № 5 (33). С. 38–44.
82. Фіторізноманіття Поліського природного заповідника: водорості, мохоподібні, судинні рослини / За заг. ред. к.б.н. О. О. Орлова. К.: Вид-во ТОВ «НВП «Інтерсервіс», 2013. 256 с.

83. Хлыпенко Л. А., Орел Т. И. Компонентный состав эфирного масла *Elsholtzia stauntonii* сорта Розовое облако. *Бюллетень ГНБС*. 2016. Вып. 118. С. 23-27.

84. Чутливість до антибактеріальних препаратів збудників позалікарняних інфекцій / Т. П. Осолодченко, І. Д. Андрєєва, Н. П. Завада, Т. В. Лук'яненко та ін. *Annals of Mechnikov Institute*. 2015. № 1. С. 29-38.

85. Шелепко С. Лидер рынка фитопрепаратов: украинские традиции и немецкие технологии. *Ежедневник Аптека*. 2014. № 45(966). С. 4.

86. Шпичак О. С. Визначення технологічних параметрів лікарської рослинної сировини, що входить до складу комплексного апіфітопрепарату «Апісед». *Вісник фармації*. 2013. №1(73). С. 3-8.

87. A Study for the Standardization of *Elsholtzia ciliate* (Thunb.) Hylander and *Elsholtzia splendens* Nakai ex F. Maekawa / J. S. Yun, S. I. Lee, J. S. Rhee, H. K. Park. *The journal of Korean Oriental Medical Society*. 1998. Vol. 19, Iss. 1. P. 19-26.

88. Alkylation or silylation for analysis of amino and non-amino organic acids by GC-MS? / S. G. Villas-Bôas, K. F. Smart, S. Sivakumaran, G. A. Lane. *Metabolites*. 2011. Vol. 1(1). P. 3–20.

89. Analysis of the Essential Oil of *Elsholtzia ciliate* Aerial Parts and Its Insecticidal Activities against *Liposcelis bostrychophila* / M. P. Zhaoa, X. C. Liua, D. Laib et al. *Helvetica Chimica Acta*. 2016. Vol. 99. P. 90–94.

90. Analysis of the monosaccharide composition of purified polysaccharides in *Ganoderma atrum* by capillary gas chromatography / Y. I. Chen, M. Y. Xie, Y. X. Wang et al. *Phytochem Anal.* 2009. Vol. 20(6). P. 503-510.

91. Anatomical and Ultrastructure Differences Between Some Species of the Genus *Elsholtzia* Willd. of Flora of Ukraine. / L. Zotsenko, N. Nuzhyna, V. Kyslychenko, O. Futorna. *Pharmacognosy Journal*. 2021. Vol. 13, Issue 4. P. 977–987.

92. Antiarrhythmic Properties of *Elsholtzia ciliata* Essential Oil on Electrical Activity of the Isolated Rabbit Heart and Preferential Inhibition of Sodium Conductance / R. Mačianskienė, L. Pudžiuvėlytė, J. Bernatoniienė et al. *Biomolecules*. 2020. Vol. 10. P. 948-961.

93. Antimicrobial activity of medicinal herbs against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella gallinarum* / I. Choi, H.-S. Jang, Y.-M. Yoon, J.-C. Um. *Microbiology and Biotechnology Letters*. 2002. Vol. 30(2). P. 177-183.

94. Antioxidant capacity of alcoholic beverages based on infusions from non-traditional spicy-aromatic vegetable raw materials / O. Kuzmin, V. Kucherenko, I. Sylka et al. *Ukrainian Food Journal*. 2020. Vol. 9, Iss. 2. P. 404-424.

95. Biomorphological and biochemical peculiarities of the growth and development of the species *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl. under the pedoclimatic conditions of the Republic of Moldova / M. Colțun, I. Roșca, E. Gille et al. *Revistă științifică a Universității de Stat din Moldova*. 2021. №6(146). P. 34-38.

96. Bouic P.J., Sterols and sterolins: new drugs for the immune system?, *Drug Discov. Today*, 15, pp. 775-778, 2002.

97. Calpe-Berdiel L., Escolà-Gill J.C., Blanco-Vaca F., New insights into the molecular actions of plant sterols and stanols in cholesterol metabolism, *Atherosclerosis*, 203, pp:18-31, 2009.

98. Chekman I.S. *Klinichna fitoterapiya*. K.: A.S.K., 2003. 550 s.

99. Chemical composition and anticancer activity of *Elsholtzia ciliata* essential oils and extracts prepared by different methods / L. Pudziuvelyte, M. Stankevicius, A. Maruska et al. *Industrial Crops & Products*. 2017. Vol. 107. P. 90-96.

100. Chemical Constituents from the Aerial Parts of *Elsholtzia ciliata* and Their Protective Activities on Glutamate-Induced HT22 Cell Death / Y. H. Seo, T. A. Trinh, S. M. Ryu et al. *Journal of Natural Products*. 2020. Vol. 83(10). P. 3149-3155.

101. Combining pressurized liquids with ultrasound to improve the extraction of phenolic compounds from pomegranate peel (*Punica granatum* L.) / B. R. Sumere, M. C. de Souza, M. P. dos Santos et al. *Ultrasonics sonochemistry*. 2018. T. 48. C. 151-162.

102. Composition of the Essential Oils from the Aerial Parts of *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyland. from Vietnam / N. X. Dũng, L. V. Hac, L. H. Hải, P. A. Leclercq. *Journal of Essential Oil Research*. 1996. Vol. 8. P. 107-109.

103. Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activity of Supercritical Fluid Extract of *Elsholtzia ciliata* / J. Ma, R.-R. Xu, Y. Lu et al. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2018. Vol. 21(2). P. 556-562.

104. Dembitskii A. D., Kalinkina G. I., Bergaliev E. Sh. A new terpene ketone, a component of the essential oil of *Elsholtzia ciliata*. *Chemistry of Natural Compounds*. 1993. Vol. 29, № 6. P. 733-734.

105. Different extraction methods for phenolic and volatile compounds recovery from *Elsholtzia ciliata* fresh and dried herbal materials / L. Pudziuvėlyte, V. Jakštas, L. Ivanauskas et al. *Industrial Crops & Products*. 2018. Vol. 120. P. 286-294.

106. Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays / ed. H. Gerhard Vogel. 2-nd ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2002. 1453 p.

107. Effect of Non-Volatile Constituents of *Elsholtzia ciliata* (THUNB.) HYL. from Southern Vietnam on Reactive Oxygen Species and Nitric Oxide Release in Macrophages / D. T. X. Nguyen, H. Tran, S. Schwaiger et al. *Chemistry & Biodiversity*. 2021. Vol. 18(1). P. 1-10.

108. *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl. Extracts from Different Plant Parts: Phenolic Composition, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Activities / L. Pudziuvėlyte, M. Liaudanskas, A. Jekabsone et al. *Molecules*. 2020. Vol. 25, Iss. 1153. P. 1-19.

109. *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hylander attenuates renal inflammation and interstitial fibrosis via regulation of TGF- β and Smad3 expression on unilateral ureteral obstruction rat model / T. W. Kim, Y. J. Kim, C. S. Seo et al. *Phytomedicine*. 2016. Vol. 23. P. 331-339.

110. *Elsholtzia ciliata* inhibits mast cell-mediated allergic inflammation: role of calcium, p38 mitogen-activated protein kinase and nuclear factor-kB / H. H. Kim, J. S. Yoo, H. S. Lee et al. *Experimental Biology and Medicine*. 2011. Vol. 236. P. 1070-1077.

111. *Elsholtzia*: phytochemistry and biological activities / Z. Guo, Z. Liu, X. Wang et al. *Chemistry Central Journal*. 2012. Vol. 6. P. 147-154.

112. *Elsholtzia*: review of traditional uses, chemistry and pharmacology / A. L. Liu, S. M.Y. Lee, Y. T. Wang, G. H. Du. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*. 2007. Vol. 16. P. 73-78.
113. Essential Oils from the Medicinal Herbs Upregulate Dopamine Transporter in Rat Pheochromocytoma Cells / M. S. Choi, B. S. Choi, S. H. Kim et al. *Journal of Medicinal Food*. 2015. Vol. 18(10). P. 1112-1120.
114. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose. Strasburg: Council of Europe, 1987. 11 p.
115. Evaluation of Antioxidant Activities of Aqueous Extracts and Fractionation of Different Parts of *Elsholtzia ciliata* / X. Liu, J. Jia, L. Yang et al. *Molecules*. 2012. Vol. 17. P. 5430-5441.
116. Food Analysis by HPLC / ed. L. M. L. Nollet. NY: Marcel Dekker Inc, 2000. 1068 p.
117. Handbook of Essential Fatty Acid Biology Biochemistry, Physiology, and Behavioral Neurobiology / D. I. Mostofsky, S. Yehuda. *Humana Press*. 1st ed. 1997. 480 p.
118. In Vitro Anti-Leishmanial Activity of Essential Oils Extracted from Vietnamese Plants / T. B. Le, C. Beaufay, D. T. Nghiem et al. *Molecules*. 2017. Vol. 22. P. 1071-1082.
119. Inhibitory Effects of *Elsholtzia ciliata* Extract on Fat Accumulation in High-fat Diet-induced Obese Mice / Y.-Y. Sung, T. Yoon, W.-K. Yang et al. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 2011. Vol. 54(3). P. 388–394.
120. Isobolographic Analysis of the Interaction Between Tapentadol and Ketorolacin a Mouse Model of Visceral Pain / J. R. Zapata-Morales, O. H. Aragon-Martinez, T. A. Soto-Castro et al. *Drug Development Research*. 2016. Vol. 77(4). P. 187-191.
121. Jeon Y.-C., Hong S.-P. A Systematic Study of *Elsholtzia* Willd. (*Lamiaceae*) in Korea. *Korean J. Pl. Taxon*. Vol. 36, № 4. P. 309-333.

122. Jeong J. H., Lim H.B. Chemical Composition and Biological Activities of *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hylander. *Korean Journal Medicinal Crop Sciences*. 2004. Vol. 12(6). P. 463-472.

123. Jones P.J.H., AbuMweis S.S., Phytosterols as functional food ingredients: linkages to cardiovascular disease and cancer, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 12, pp. 147-150, 2009.

124. Kang S. H., Li Y.W., Zheng S. Z. Flavones from *Elsholtzia stauntonii*. *Indian Journal of Chemistry. Section B*. 2004. Vol. 43(6). P. 1332-1334.

125. Kim H.-A, Kim S.-K., Kim B.-H. Anti-inflammatory and Anti-itching Effects of Herbal Medicine Complex Extracts (NI-01). *J. Physiol. & Pathol. Korean Med*. 2020. Vol. 34(6). P. 341-347.

126. Kim J.-H., Jung D.-H. Variations in Volatile Compounds from *Elsholtzia ciliata*. *Journal of Plant Biology*. 2003. Vol. 46(4). P. 287-289.

127. Korolyuk E. A., König W., Tkachev A. V. Composition of essential oil of *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl. from the Novosibirsk region, Russia. *Химия растительного сырья*. 2002. № 1. С. 31-36.

128. Kuznetsova M., Kyslychenko O., Zhuravel I. Identification and quantitative determination of steroidal compounds in the plant material of cabbage. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2017. №6(10). С. 10-16.

129. Lippa A. S., Nash P. A., Greenblatt E. N. Preclinical neuropsychopharmacological testing procedures for anxiolytic drugs. *Anxiolytics*. Mount Kisco, N.Y: Futura Pub. Co, 1979. P. 41–81.

130. Lü J-H, Su X-H, Zhong J-J. Fumigant activity of *Elsholtzia stauntonii* extract against *Lasioderma serricorne*. *South African Journal of Science*. 2012. Vol. 108(7/8). P. 556–58.

131. Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts (EDef 7.3) [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/AFST/Files/EUCAST_E_Def_7_3_Yeast_testing_definitive.pdf.

132. Natural Flavonoids and Its Pharmaceutical Importance / S. Bose, D. Sarkar, A. Bose, S. C. Mandal. *The Pharma Review*. 2018. Vol. 12. P. 61–75.

133. Notulae to the Italian alien vascular flora / G. Galasso, G. Domina, S. Andreatt et al. *Italian Botanist*. 2021. Vol. 11. P. 93–119.
134. Petrovska U., Zhuravel I., Gurieva I. Study of the qualitative composition and quantitative content of amino acids in Spinach plant raw material of Krasen Polissia and Fantasy cultivars. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2019. № 31. Vol. 1. P. 60–63.
135. Pharmacognostic Study on *Elsholtzia ciliata* (Thumb.) Hyl: Anatomy, Phytochemistry and Pharmacological Activities / Q. Zhang, N. M. Porto, C. C. Guilhon et al. *Pharmaceuticals*. 2021. Vol. 14, Iss. 1152. P. 1-17.
136. Pohodina L., Burda N., Kyslychenko V. Fatty acids composition study of birthwort Dutchman's pipe (*Aristolochia clematitis* L.) herb and roots. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2019. № 31. Vol.1. P. 53–57.
137. Protective Effect of Osmundacetone against Neurological Cell Death Caused by Oxidative Glutamate Toxicity / T. A. Trinh, Y. H. Seo, S. Choi et al. *Biomolecules*. 2021. Vol. 11. P. 328–340.
138. Purchon N. Complete Aromatherapy and Essential Oils Handbook for Everyday Wellness. Robert Rose, 2014. 480 p.
139. Pyrzynska K., Sentkowska A. Chromatographic Analysis of Polyphenols. *Polyphenols in Plants*. 2019. Vol. 12. C. 353-364.
140. Shangzhen Z., Runhai L., Xuwei S. Studies on the Flavonoids of *Elsholtzia ciliata* Hyland. *Chemical Journal of Chinese Universities*. 2009. Vol. 10, № 8. P. 866-868.
141. Simultaneous determination of eight catechins and four theaflavins in green, black and oolong tea using new HPLC–MS–MS method / W. Tao, Z. Zhou, B. Zhao, T. Wei. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2016. Vol. 131. P. 140-145.
142. Song B. M., Choi J. S., Park H. J. Composition and Anti-cholinesterase Activity of the Essential Oil Obtained from Korean *Elsholtzia ciliata*. *Korean Journal of Pharmacognosy*. 2016. Vol. 47(3). P. 226-231.

143. Stepanyan E., Chadaeva V., Tsepkova N. Floristic findings in the Kabardino-Balkar Republic (Central Caucasus). *Mountain ecosystems and their components*: BIO Web of Conferences. 2021. P. 35-43.

144. Structure determination and quantification of a new flavone glycoside with anti-acetylcholinesterase activity from the herbs of *Elsholtzia ciliata* / A. Nugroho, J.-H. Park, J. S. Choi et al. *Natural Product Research*. 2017. Vol. 5. P. 1-8.

145. Studies on population reproductive inhibiting effect on volatile oil from *Elsholtzia* Sp., against stored-product insects / W. Suya, H. Yongjra, L. Chunmmg, Z. Ymgjte. Proceedings of the 7th International Working Conference on Stored-Product Protection, 14-19 October 1998, Beijing, China. Sichuan Publishing House of Science and Technology, Chengdu, China, 1999. P. 858–865.

146. The bio-ecological study and the chemical composition of essential oil of the species *Elsholtzia Stauntonii* Benth. under the conditions of the Republic of Moldova / M. B. Colţun, E. Gille, R. Necula et al. *Основні, малопоширені і нетрадиційні види рослин – від вивчення до освоєння (сільськогосподарські і біологічні науки)*: мат. V Міжнар. наук.-практ. конф. (у рамках VI наук. форуму «Науковий тиждень у Крутах – 2021», 11 березня 2021 р., с. Крути, Чернігівська обл.) / ДС «Маяк» ІОБ НААН; відп. за вип. О.В. Позняк: у 4 т. Обухів: Друкарня ФОП Гуляєва В.М., 2021. Т. 4. С. 130-137.

147. The Study of Phenolic Composition and Acute Toxicity, Anti-inflammatory and Analgesic Effects of Dry Extracts of Some *Elsholtzia* Genus (Lamiaceae) Species / L. Zotsenko, V. Kyslychenko, K. Kalko, S. Drogovoz. *PharmacologyOnline*. 2021. Vol. 2. P. 637–49.

148. Three new C-methylated flavones from *Elsholtzia stauntonii*. / S. Zheng, S. Kang, Y. Shen, L. Sun. *Planta Medica*. 1999. Vol. 65. P. 173-175.

149. Tian G. H. Chemical Constituents in Essential Oils from *Elsholtzia ciliata* and Their Antimicrobial Activities. *Chinese Herbal Medicines*. 2013. Vol. 5(2). P. 104-108.

150. Toxicity and Synergistic Effect of *Elsholtzia ciliata* Essential Oil and Its Main Components against the Adult and Larval Stages of *Tribolium castaneum* / J.-Y. Liang, J. Xu, Y.-Y. Yang et al. *Foods*. 2020. Vol. 9(345). P. 1-13.

151. Tucker A. O., DeBaggio T. The Encyclopedia of herbs: A Comprehensive Reference to Herbs of Flavor and Fragrance; ed. by F. DeBaggio. Portland, London: Timber Press, 2009. 605 p.
152. Tucker A. O., Maciarello M. J. Volatile Oil of *Elsholtzia stauntonii* Benth. *Journal of essential oil research*. 1995. Vol. 7. P. 653–655.
153. Vecka M. Zák A. Tvrzická E. Phytosterols as a functional food. *Cas Lek Cesk*. 2007. Vol. 146(4). P.337–342.
154. Volatile compounds composition of *Elsholtzia ciliata* fresh, frozen and dried herbal materials / L. Pudžiuvėlytė, M. Stankevičius, A.-S. Maruška et al. *Vital nature sign: 11th international scientific conference*, 19-20 October, 2017, Vilnius, Lithuania: abstract book. Kaunas : Vytautas Magnus University, 2017. № 11. P. 57.
155. Wang X., Gong L., Jiang H. Study on the Difference between Volatile Constituents of the Different Parts from *Elsholtzia ciliata* by SHS-GC-MS. *American Journal of Analytical Chemistry*. 2017. Vol. 8. P. 625–635.
156. Wollenweber E., Roitman J. N. New reports on surface flavonoids from *Chamaebatiaria* (Rosaceae), *Dodonaea* (Sapindaceae), *Elsholtzia* (Lamiaceae), and *Silphium* (Asteraceae). *Natural Product Communications*. 2007. Vol. 2(4). P. 385–389.
157. Wong C. P., Kaneda T., Morita H. Plant natural products as an anti-lipid droplets accumulation agent. *Journal of Natural Medicines*. 2014. Vol. 68. P. 253–266.
158. Zheng S., Kang S., Shen T. The chemical constituents of *Elsholtzia stauntonii* Benth. *Journal of Northwest Normal University (Natural Science)*. 2000. Vol. 36(1). P. 51–57.
159. Zotsenko L., Kyslychenko V. Fatty acids composition study of Mint Bush (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) and Chinese Vietnamese balm (*Elsholtzia ciliata* Thun.) in aboveground parts. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020. № 46. Vol. 1. P. 42–50.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

1. Зоценко Л. О., Цуркан О. О. Амінокислотний склад надземних органів *Elsholtzia Stauntonii* Benth. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика*. 2017. Вип.28. С. 51–56. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)
2. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Дослідження макро- і мікроелементного складу сировини *Elsholtzia stauntonii* та *Elsholtzia ciliata*. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. Вип.1. С. 63–66. DOI: 10.33617/2522-9680-2019-1-63 (Особистий внесок – брала участь в обробці, узагальненні результатів та підготовці статті)
3. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С., Панасенко О. І. Дослідження технологічних параметрів сировини трави ельшольції Стаунтона та трави ельшольції в'їчної. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2020. Т. 14, №4. С. 245–250. DOI: 10.33250/14.04.245 (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, в обговоренні, обробці результатів дослідження та підготовці статті)
4. Zotsenko L., Kyslychenko V. Fatty acids composition study of Mint Bush (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) and Chinese Vietnamese balm (*Elsholtzia ciliata* Thun.) in aboveground parts. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020. № 46. Vol. 1. P. 42–50. (Особистий внесок – брала участь в обговоренні, обробці результатів дослідження та підготовці статті)
5. Зоценко Л. О. Вивчення вітамінного складу трави деяких видів роду *Elsholtzia* Willd. *Annals of Mechnikov Institute*. 2021. №4. С. 74–78. DOI: 10.5281/zenodo.5761417 (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)
6. Anatomical and Ultrastructure Differences Between Some Species of the Genus *Elsholtzia* Willd. of Flora of Ukraine. / L. Zotsenko, N. Nuzhyna, V. Kyslychenko, O. Futorna. *Pharmacognosy Journal*. 2021. Vol. 13, Issue 4. P. 977–987. (Scopus) DOI: 10.5530/pj.2021.13.126 (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)
7. The Study of Phenolic Composition and Acute Toxicity, Anti-inflammatory and Analgesic Effects of Dry Extracts of Some *Elsholtzia* Genus (Lamiaceae) Species / L. Zotsenko, V. Kyslychenko, K. Kalko, S. Drogovoz. *PharmacologyOnline*. 2021. Vol. 2.

Р. 637–49. (Scopus) (*Особистий внесок* – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, одержувала екстракти, брала участь в обговоренні результатів дослідження та написанні статті)

8. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Дослідження вмісту вуглеводів у сировині деяких видів роду *Elsholtzia* Willd. *Annals of Mechnikov Institute*. 2022. № 1. С. 85-89. DOI: 10.5281/zenodo.6350433 (*Особистий внесок* – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, в обговоренні, обробці результатів дослідження та підготовці статті)

9. Патент на корисну модель № 100673. Спосіб стандартизації трави ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) в багатокомпонентних рослинних сумішах / Зоценко Л. О., Цуркан О. О., Гудзенко В. А. (Україна). № u201413200; Заявл. 09.12.2014; Опубл. 10.08.2015, Бюл. № 1. (*Особистий внесок* – брала участь в патентному пошуку, одержанні лікарського засобу та оформленні патенту)

10. Патент на корисну модель № 148148, МПК А61К 36/00. Спосіб отримання сухих екстрактів рослинного походження з антибактеріальною дією / Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. (Україна). № u202006318; Заявл. 29.09.2020; Опубл. 15.07.2021; Бюл. № 8. (*Особистий внесок* – брала участь в патентному пошуку, одержанні лікарського засобу та оформленні патенту)

11. Зоценко Л. О., Цуркан О. О. Дослідження вмісту розмаринової кислоти у траві ельшольції Стаунтона. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: матеріали II міжнародної науково-практичної internet-конференції, 21-23 березня 2016 р., м. Харків. Харків: Видавництво НФаУ, 2016. С. 115-116.

12. Зоценко Л. О., Гудзенко В. А. Дослідження вмісту розмаринової кислоти в екстрактах надземних частин ельшольції Стаунтона. *Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали XXXIII Всеукраїнської науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів, 8 квітня 2016 р., м. Харків. Харків: Видавництво НФаУ, 2016. С. 62.

13. Зоценко Л. О., Цуркан О. О. Дослідження вмісту поліфенольних сполук в екстрактах надземних частин ельшольції Стаунтона. *Хімія природних сполук*: матеріали IV Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, 21-22 квітня 2016 р., м. Тернопіль. Тернопіль: ТДМУ, 2016. С. 60–61.

14. Зоценко Л. О., Цуркан О.О. Ідентифікація та кількісне визначення мікро-

та мікроелементів в сировині *Elsholtzia Stauntonii* Benth. *Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали II міжнародної науково-практичної конференції, 28-29 березня 2018 р., м. Харків. Х.: Вид-во НФаУ, 2018. С. 131–132.

15. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Визначення вмісту суми органічних кислот у траві ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) та ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* Thun.). *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали V Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, 26 листопада 2020 р., м. Харків. Харків: Видавництво НФаУ, 2020. С. 195–196.

16. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Визначення вмісту хлорофілів та каротиноїдів у траві ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) та ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* Thun.). *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: матеріали IV Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, 26-27 листопада 2020 р., м. Харків. Харків: Видавництво НФаУ, 2020. С. 102–103.

17. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Визначення гострої токсичності сухих екстрактів ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) та ельшольції війчастої (*Elsholtzia ciliata* Thun.). *Planta+. Наука, практика та освіта*: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, 19 лютого 2021 р., м. Київ. Київ: НМУ Богомольця, 2021. С. 306–307.

18. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Дослідження кількісного та якісного складу біологічно активних речовин в сухому екстракті трави ельшольції Стаунтона. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: збірник матеріалів III Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, 2 квітня 2021 р., м. Харків. Харків: Видавництво НФаУ, 2021. С. 88.

19. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Дослідження фітостеролів у траві двох видів ельшольції. *Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень*: матеріали V Міжнародної наукової конференції, 2 квітня 2021 р., м. Березоточа. Березоточа, 2021. С. 264–268.

Продовж. дод. А

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. II міжнародній науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 21-23 березня 2016 р., форма участі – публікація тез);

2. XXXIII Всеукраїнській науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів «Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 8 квітня 2016 р., форма участі – публікація тез);

3. IV Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р., форма участі – публікація тез);

4. II міжнародній науково-практичній конференції «Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 28-29 березня 2018 р., форма участі – публікація тез);

5. V Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 26 листопада 2020 р., форма участі – публікація тез);

6. IV Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 26-27 листопада 2020 р., форма участі – публікація тез);

7. Міжнародній науково-практичній конференції «Planta+. Наука, практика та освіта» (Київ, 19 лютого 2021 р., форма участі – публікація тез);

8. III Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (Харків, 2 квітня 2021 р., форма участі – публікація тез);

9. V Міжнародній науковій конференції «Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень» (Березоточа, 2 квітня 2021 р., форма участі – публікація тез).

Додаток Б

ПРОЄКТ

Проректор з науково-педагогічної роботи
Національного фармацевтичного
університету, професор
Інна ВЛАДИМИРОВА



» « січня » 2023 р.

Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет, Україна

Виробник, країна: Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Elsholtziae ciliatae herba

Ельшольції війчастої трава

Лікарська сировина у мішках з тканини або льно-джуто-кенафних

Продовж. дод. Б

Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
Ідентифікація		
А	Суміш стебел, листя, суцвіть та окремих квіток. Стебло чотиригранне, фіолетового кольору, нерівномірно опушене по гранях і борозенках. Листя довгочерешкові, яйцеподібно-еліптичної або ланцетної форми, розсіяно опушені, зеленого кольору, мережа жилок малопомітна, не втиснута, основа – клиноподібна, верхівка – поступово звужена, край – дрібно городчасто-пилчастий. Суцвіття густе, колосоподібне, циліндричне, одностороннє. Приквітки зелені, трав'яністі, округлі або широкояйцеподібні, з гострим кінцем, по краю дрібновійчасті. Чашечка трубчасто-дзвоникувата з чашолистками яйцеподібної форми, з майже однаковими зубцями, залозиста, густо опушена, зелена. Віночок ліловий, зовні коротко опушений, лопаті війчасті. Запах специфічний, ароматний. Смак злегка гіркуватий.	МКЯ п. 1.1
В	Клітини епідерми стебла з потовщеними оболонками. Під епідермою стебла скупчення коленхіми чередуються з ділянками хлоренхіми. Ксилема гарно розвинена. Клітини верхньої епідерми листка звивисті, нижньої епідерми – дрібно-звивисті. Продихи діацитного типу, іноді анізоцитного типу, розташовані переважно на нижньому боці. Епідерма вкрита кутикулою. На верхній поверхні листка спостерігаються одноклітинні прості «шипоподібні» та багатоклітинні прості волоски, базальні клітини деяких мають короткі відгалуження. На нижній поверхні наявні одноклітинні прості та дрібні залозисті волоски і великі ефіроолійні залозки. Прості волоски розміщені на жилках. Великі ефіроолійні залозки мають одноклітинну ніжку та розміщені в криптах. Дрібні залозисті трихоми поодинокі розміщені на жилках з обох боків і мають одноклітинну голівку та одноклітинну ніжку. Епідерма черешка одношарова, клітини якої з верхнього боку мають потовщення. Під епідермою розміщено 4-5 шарів кутової коленхіми. Провідна система представлена суцільним відкритим колатеральним пучком, що має форму півмісяця. Черешок з обох боків вкритий багатоклітинними простими волосками, які мають більші розміри з нижнього боку. Дрібні залозисті волоски зустрічаються поодинокі.	МКЯ п. 1.2
С		
Фенольні сполуки	На ТШХ виявляються зона хлорогенової кислоти, яка має блакитну флюоресценцію, та зона рутину, яка має жовто-коричневу флюоресценцію. Також можуть виявлятися інші зони з блакитною, жовтою, жовто-коричневою флюоресценцією.	МКЯ п. 1.3
Випробовування		
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 7,0 %	ДФУ 2.0, Т.1, 2.2.32 МКЯ п. 2
Загальна зола	Не більше 9,0 %	ДФУ 2.0, Т.1, 2.4.16 МКЯ п. 2
Зола, нерозчинна в хлористоводневій кислоті	Не більше 1,5 %	ДФУ 2.0, Т.1, 2.4.16 МКЯ п. 2
Кількісне визначення		
Гідроксикоричні кислоти, у перерахунку на хлорогенову кислоту	Не менше 0,5 %	ДФУ 2.0, «Кропиви листя ^N », МКЯ п. 3
Флавоноїди, у перерахунку на рутин	Не менше 1,5 %	ДФУ 2.1 «Софори бутони», МКЯ п. 3

Продовж. дод. Б

МАРКУВАННЯ

На етикетці мішка або тюка українською мовою вказують «Україна», «Розробка НФаУ, м. Харків», його товарний знак і адресу, назву сировини латинською та українською мовами, масу сировини при вологості 10%, умови зберігання, номер партії, термін придатності.

ЗБЕРІГАННЯ

У сухому, захищеному від світла місці.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Антимікробний засіб

Завідувачка кафедри хімії
природних сполук і нутриціології,
доктор фармацевтичних наук,
професор



Вікторія КИСЛИЧЕНКО
« 11 » січня 2023 р.

Аспірант кафедри хімії
природних сполук і нутриціології



Людмила ЗОЦЕНКО
« 11 » січня 2023 р.

Продовж. дод. Б

ПРОЄКТ



Проректор з науково-педагогічної
роботи Національного
фармацевтичного університету
Інна ВЛАДИМИРОВА

» « січень » 2023 р.

Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет,
Україна
Виробник, країна: Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Elsholtziae ciliatae herbae extractum siccum

Ельшольції вйчастой трави екстракт сухий

Лікарський рослинний засіб у флаконах із темного скла

Продовж. дод. Б

Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
Опис	Аморфний порошок коричневого кольору зі специфічним ароматним запахом.	МКЯ п. 1
Розчинність	Легко розчинний у <i>етанолі (20 % об/об)</i> Р, розчинний у воді Р, <i>етанолі (50 % об/об)</i> Р, практично нерозчинний в органічних розчинниках.	МКЯ п. 2
Ідентифікація		
Фенольні сполуки	На ТІХ виявляються зона хлорогенової кислоти, яка має блакитну флюоресценцію, та зона рутину, яка має жовто-коричневу флюоресценцію. Також можуть виявлятися інші зони з блакитною, жовтою, жовто-коричневою флюоресценцією.	МКЯ п. 3
Випробовування		
втрата в масі при висушуванні	Не більше 5,0 %	ДФУ 2.0.1, 2.8.17 2.2.3 2 МКЯ п. 4.
загальна зола	Не більше 11,0 %	ДФУ 2.0.1, 2.4.16 МКЯ п. 4.
важкі метали	Не більше 0,01 %	ДФУ 2.0.1, п. 2.4.8 МКЯ п. 4.
мікробіологічна чистота	В 1 г екстракту допускається наявність не більше 1000 бактерій і 100 дріжджових та пліснявих грибів (у сумі). Не допускається наявність бактерій <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> та <i>Staphylococcus aureus</i> , бактерій роду <i>Salmonella</i> .	ДФУ 2.0.1, 5.1.4 МКЯ п. 4.
Кількісне визначення		
Сума поліфенолів у перерахунку на пірогалол	Не менше 5,0%	ДФУ 2.0.1., 2.8.14 МКЯ п. 5
Сума гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту	Не менше 1,5 %	ДФУ 2.2, «Кропиви листя ^N » МКЯ п. 5

Продовж. дод. Б

ЗБЕРІГАННЯ

У сухому, захищеному від світла місці.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Протимікробний засіб

Антиоксидантний засіб

Завідувачка кафедри хімії
природних сполук і нутриціології,
доктор фармацевтичних наук,
професор



Вікторія КИСЛИЧЕНКО

« 11 » січня 2023 р.

Аспірант кафедри хімії
природних сполук і нутриціології



Людмила ЗОЦЕНКО

« 11 » січня 2023 р.

Продовж. дод. Б

ПРОЄКТ

Проректор з науково-педагогічної
роботи Національного фармацевтич-

ного
університету, професор
Інна ВЛАДИМИРОВА



« 16 вересня » 2023 р.

Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет, Україна

Виробник, країна: Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Elsholtziae stauntonii herba

Ельшольції Стаунтона трава

Лікарська сировина у мішках з тканини або льно-джуто-кенафних

Продовж. дод. Б

Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
Ідентифікація		
А	Суміш стебел, цілих або частково подрібнених листя та суцвіть і окремих квіток. Стебла фіолетово-червоні, сіро-опушені короткими м'якими волосками. Листя черешкові, від ланцетної до еліптично-ланцетної форми, з верхнього боку голі, пурпурові по краю та середній жилці, з нижнього – білувата, щільно-залозиста, основа – звужена, верхівка – загострена, край – пилчасто-зубчастий. Черешок фіолетовий, коротко-опушений. Суцвіття колосоподібні, прямі, густоквіткові, односторонні, сіро-опушені короткими м'якими волосками. Чашечка трубчасто-дзвоникувата, зовні густо сіро-войлочно опушена. Віночок рожево-фіолетовий, зовні вкритий білими ворсинками, всередині рідко залозистий. Запах сильний, ароматний. Смак гіркуватий.	МКЯ п. 1.1
В	Клітини епідерми стебла зі звивистими стінками. Епідерма густо вкрита простими та поодинокими залозистими волосками. Під епідермою стебла рівномірно розміщено 4-5 шарів коленхіми. Первинна флоема утворює масивні склеренхімні шапочки. Ксилема гарно розвинена. Клітини верхньої епідерми листка звивисті, нижньої епідерми – дрібно-звивисті. Продихи діацитного типу, іноді анізоцитного типу, розташовані переважно на нижньому боці. Епідерма вкрита кутикулою. На верхній поверхні листка спостерігаються одноклітинні прості «шипоподібні» та багатоклітинні прості волоски, базальні клітини деяких мають короткі відгалуження. На нижній поверхні наявні одноклітинні прості та дрібні залозисті волоски й великі ефіроолійні залозки. Прості волоски розміщені на жилках. Великі ефіроолійні залозки мають одноклітинну ніжку та розміщені в криптах. Дрібні залозисті трихоми поодинокі розміщені тільки на верхньому боці і складаються з одноклітинної ніжки та одноклітинної голівки. Епідерма черешка одношарова, клітини якої з верхнього боку мають потовщення. Під епідермою розміщено 4-5 шарів кутової коленхіми. Провідна система представлена суцільним відкритим колатеральним пучком, що має форму півмісяця. Черешок з обох боків вкритий багатоклітинними простими волосками, які мають більші розміри з нижнього боку. Дрібні залозисті волоски розміщені на обох боках епідерми черешка.	МКЯ п. 1.2
С		
Фенольні сполуки	На ТШХ виявляється зона з інтенсивною блакитною флуоресценцією, що відповідає розмариновій кислоті, та коричнюватою флуоресценцією, що відповідає зоні лютеоліну. Також можуть виявлятися інші зони з блакитною, синьою, жовтою, жовто-коричневою та коричневою флуоресценцією	МКЯ п. 1.3
Випробовування		
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 8,5 %	ДФУ 2.0, Т.1, 2.2.32 МКЯ п. 2
Загальна зола	Не більше 11,0 %	ДФУ 2.0, Т.1, 2.4.16 МКЯ п. 2
Зола, нерозчинна в хлористоводневій кислоті	Не більше 1,0 %	ДФУ 2.0, Т.1, 2.4.16 МКЯ п. 2
Кількісне визначення		
Розмаринова кислота	Не менше 1,5 %	МКЯ п. 3
Флавоноїди, у пере-рахунку на лютеолін	Не менше 1,5 %	ДФУ 2.2 «Пижма квіткі ^Н », МКЯ п. 3

Продовж. дод. Б

ЗБЕРІГАННЯ

У сухому, захищеному від світла місці.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Протимікробний засіб

Завідувачка кафедри хімії
природних сполук і нутриціології,
доктор фармацевтичних наук,
професор



Вікторія КИСЛИЧЕНКО

« 11 » січня 2023 р.

Аспірант кафедри хімії
природних сполук і нутриціології



Людмила ЗОЦЕНКО

« 11 » січня 2023 р.

Продовж. дод. Б

ПРОЄКТ

Проректор з науково-педагогічної
роботи Національного
фармацевтичного університету

Інна ВЛАДИМИРОВА

16 » « січня » 2023 р.

Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет,
Україна
Виробник, країна: Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Elsholtziae stauntonii herbae extractum siccum

Ельшольції Стаунтона трави екстракт сухий

Лікарський рослинний засіб у флаконах із темного скла

Продовж. дод. Б

Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
Опис	Аморфний порошок коричнево-червонуватого кольору зі специфічним ароматним запахом.	МКЯ п. 1
Розчинність	Легко розчинний у <i>етанолі</i> (70 % об/об) Р, розчинний <i>етанолі</i> (50 % об/об) Р, практично нерозчинний у <i>воді</i> Р та органічних розчинниках.	МКЯ п. 2
Ідентифікація		
Фенольні сполуки	На ТІХ виявляється зона з інтенсивною блакитною флуоресценцією, що відповідає розмариновій кислоті, та коричнюватою флуоресценцією, що відповідає зоні лютеоліну. Також можуть виявлятися інші зони з блакитною, синьою, жовтою, жовто-коричневою та коричневою флуоресценцією	МКЯ п. 3
Випробовування		
втрата в масі при висушуванні	Не більше 5,0 %	ДФУ 2.0.1, 2.8.17 2.2.3 2 МКЯ п. 4.
загальна зола	Не більше 14,0 %	ДФУ 2.0.1, 2.4.16 МКЯ п. 4.
важкі метали	Не більше 0,01 %	ДФУ 2.0.1, п. 2.4.8 МКЯ п. 4.
мікробіологічна чистота	В 1 г екстракту допускається наявність не більше 1000 бактерій і 100 дріжджових та пліснявих грибів (у сумі). Не допускається наявність бактерій <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> та <i>Staphylococcus aureus</i> , бактерій роду <i>Salmonella</i> .	ДФУ 2.0.1, 5.1.4 МКЯ п. 4.
Кількісне визначення		
Сума поліфенолів, у перерахунку на пірогалол	Не менше 14,0%	ДФУ 2.0.1., 2.8.14 МКЯ п. 5
Сума гідроксикоричних кислот, у перерахунку на розмаринову кислоту	Не менше 5,0 %	ДФУ 2.0, «Розмарину листя» МКЯ п. 5

Продовж. дод. Б

латинською та українською мовами, масу лікарського засобу, умови зберігання, номер партії, термін придатності.

ЗБЕРІГАННЯ

У сухому, захищеному від світла місці.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Протимікробний засіб

Антиоксидантний засіб

Завідувачка кафедри хімії
природних сполук і нутриціології,
доктор фармацевтичних наук,
професор



Вікторія КИСЛИЧЕНКО

« 11 » січня 2023 р.

Аспірант кафедри хімії
природних сполук і нутриціології



Людмила ЗОЦЕНКО

« 11 » січня 2023 р.

Додаток В



Продовж. дод. В



Додаток Г

ЛАБОРАТОРІЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ
Державного підприємства «Державний експертний центр
Міністерства охорони здоров'я України»

03680, м. Київ, вул. Антона Цедіка, 14
Свідоцтво про атестацію № 484 від 08.07.21 р.

тел.: (044) 536-13-38
факс: (044) 536-13-44
www.dec.gov.ua

Вих. № 24/062 від « 05 » 10 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Найменування пропозиції для впровадження: методика визначення кислоти розмаринової у траві ельшольції Стаунтона.

Установа, автор: Національний фармацевтичний університет (61002, М.Харків. вул.Пушкінська, 53), кафедра хімії і природних сполук та нутриціології, аспірант – Зоценко Л.О.

Джерела інформації:

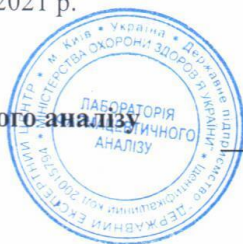
Зоценко Л.О., Цуркан О. О., Гудзенко А.В. Спосіб стандартизації трави ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) в багатокомпонентних рослинних сумішах. // Патент на корисну модель № u201413200; Заявл. 09.12.2014; Опубл. 10.08.2015, Бюл.№1.

Рекомендовано впровадити: методику визначення кислоти розмаринової у траві ельшольції Стаунтона для подальшого використання під час апробації методів контролю якості лікарської рослинної сировини в Лабораторії фармацевтичного аналізу Державного експертного центру МОЗ України.

Термін впровадження: з 01.11.2021 р.

Завідувач

Лабораторії фармацевтичного аналізу
к. фарм. н.



АВН

О. В. Бурмака

Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи та
професійного розвитку фахівців
ПВНЗ «Київський медичний університет»

 проф. Ю.С. П'ятницький

« 18 » « травня » 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати дослідження мінерального складу трави ельшольції.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутриціології, аспірант – Зоценко Л.О.
3. **Джерела інформації:** Зоценко Л.О., Кисличенко В.С. Дослідження макро- і мікроелементного складу сировини *Elsholtzia stauntonii* та *Elsholtzia ciliata*. *Фітотерапія. Часопис*. Київ, 2019. Вип.1. С. 63-66.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармацевтичної і біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет»
5. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.
7. **Терміни впровадження:** 2021-2022 навч. рік.

Затверджено на засіданні кафедри протокол №10 від 14.05.2021р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри фармацевтичної і
біологічної хімії, фармакогнозії
ПВНЗ «Київський медичний університет»
д.фарм.н, професор



О. Ю. Коновалова

Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи

Тернопільського національного

медичного університету

імені І.Я. Горбачевського МОЗ України

проф. І.М. Кліщ

14 » « 05 » 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати дослідження жирнокислотного складу трави ельшольції.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутриціології, аспірант – Зоценко Л.О.
3. **Джерела інформації:** Zotsenko L., Kyslychenko V. Fatty acids composition study of Mint Bush (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) and Chinese Vietnamese balm (*Elsholtzia ciliata* Thun.) in aboveground parts. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020. № 46. Vol.1. P. 42-50.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.
5. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.
7. **Терміни впровадження:** 2021-2022 навч. рік.

Затверджено на засіданні кафедри протокол № 6 від 12 травня 2021 р.

Відповідальний за впровадження:Завідувачка кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікоюТернопільського національного медичного
університету імені І.Я. Горбачевського
МОЗ України,

д.фарм.н, професор

С. М. Марчиншин

Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
та інновацій
Національного медичного університету
ім. О.О. Богомольця



проф. С.В. Земсков

» 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати дослідження жирнокислотного складу трави ельшольції.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутриціології, аспірант – Зоценко Л.О.
3. **Джерела інформації:** Zotsenko L., Kyslychenko V. Fatty acids composition study of Mint Bush (*Elsholtzia Stauntonii* Benth.) and Chinese Vietnamese balm (*Elsholtzia ciliata* Thun.) in aboveground parts. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020. № 46. Vol.1. P. 42-50.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.
5. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.
7. **Терміни впровадження:** 2021-2022 навч. рік.

Затверджено на засіданні кафедри протокол № 21 від 25.05.21

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри фармакогнозії та ботаніки
Національного медичного університету
ім. О.О. Богомольця,
д.біол.н, професор

В. М. Мінарченко

Продовж. дод. Г



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор Запорізького державного
медичного університету,
д.мед.н., проф. Ю.М. Колесник

«10.06» 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати дослідження амінокислотного складу трави ельшольції.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет (61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53), кафедра хімії природних сполук і нутриціології, аспірант – Зоценко Л.О.
3. **Джерела інформації:** Зоценко Л.О., Цуркан О.О. Амінокислотний склад надземних органів *Elsholtzia Stauntonii* Benth. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика*. Київ. 2017 р., Вип.28. С. 51 -56.
4. **Де впроваджено:** кафедра природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії Запорізького державного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.
7. **Терміни впровадження:** 2021-2022 навч. рік.

Затверджено на засіданні кафедри протокол №10 від 10.06.2021 р.

Завідувач кафедри природничих дисциплін
для іноземних студентів та токсикологічної хімії
Запорізького державного медичного університету,
д.фарм.н., професор

О.І. Панасенко

Професор кафедри природничих дисциплін
для іноземних студентів та токсикологічної хімії
Запорізького державного медичного університету,
д.фарм.н., професор

В.В. Парченко

Продовж. дод. Г

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор закладу вищої освіти з
наукової роботи Тернопільського
національного медичного університету
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
проф. І.М. Кліщ
« 09 » 2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати вивчення анатомічної будови деяких видів роду Ельшольція.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра хімії природних сполук і нутриціології, 61002, м. Харків, вул Пушкінська, 53. Аспірантка Зоценко Л. О.
3. **Джерела інформації:** Anatomical and Ultrastructure Differences Between Some Species of the Genus *Elsholtzia* Willd. of Flora of Ukraine / L. Zotsenko, N. Nuzhyna, V. Kyslychenko, O. Futorna. *Pharmacognosy Journal*. 2021. Vol. 13, Iss. 4. P. 977-987.
4. **Де впроваджено:** у науково-дослідну роботу кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського.
5. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань з питань анатомічної будови лікарської рослинної сировини.
7. **Строки впровадження:** 2021-2022 н. р.

Завідувачка кафедри фармакогнозії
з медичною ботанікою
Тернопільського національного медичного
університету імені І.Я. Горбачевського
д.фарм.н, професорка

Світлана Марчишин