

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Гордєй Карина Романівна

УДК 615.07:615.32:582.998.16

ДИСЕРТАЦІЯ

**Фармакогностичне вивчення маруни дівочої та розробка лікарських
рослинних засобів на її основі**

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

К. Р. Гордєй

Науковий керівник Гонтова Тетяна Миколаївна, доктор фармацевтичних наук,
професор

Харків – 2021

АНОТАЦІЯ

Гордей К. Р. Фармакогностичне вивчення маруни дівочої та розробка лікарських рослинних засобів на її основі. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії 226 «Фармація, промислова фармація». – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2021.

У дисертаційній роботі висвітлено питання комплексного фармакогностичного вивчення трави маруни дівочої (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip.), стандартизації лікарської рослинної сировини, розроблення оптимальної технології отримання лікарських рослинних препаратів, стандартизації та дослідження їхньої фармакологічної активності.

За допомогою сучасних методик ідентифікації та кількісного визначення БАР в об'єктах дослідження виявлено сесквітерпенові лактони, хлорофіли, каротиноїди, карбонові кислоти, компоненти ефірної олії, фенольні сполуки, макро- та мікроелементи.

Уперше проведено порівняльний аналіз хімічного складу вітчизняних серій трави маруни дівочої та її сортів White Gem і Phlora Pleno.

Отримано ліпофільні фракції з вітчизняних зразків трави маруни дівочої та сортів White Gem та Phlora Pleno. Вміст фракцій склав для трави маруни дівочої – 5,7 %, маруни дівочої сорту Phlora Pleno – 4,1 %, маруни дівочої сорту White Gem – 3,9 %. В отриманих фракціях ідентифіковано хлорофіл *a*, хлорофіл *b* та β -каротин.

Проведено порівняльний аналіз карбонових кислот трави маруни дівочої та її сортів White Gem і Phlora Pleno, заготовлених на території України. У досліджуваних зразках виявлено та ідентифіковано 35 карбонових кислот. 10 кислот віднесено до низькомолекулярних аліфатичних кислот, 16 до жирних та 9 до ароматичних. Загальний вміст карбонових кислот у траві маруни дівочої

склав 26540,13 мг/кг, сорту Phlora Pleno – 22960,52 мг/кг та сорту White Gem – 24312,51 мг/кг. Серед визначених карбонових кислот у всіх зразках домінували бурштинова, левулінова, лимонна, щавлева, пальмітинова, лінолева та ліноленова кислоти.

Із зразків трави маруни дівочої та її сортів отримано ефірну олію, її вміст коливався в межах від 0,39 до 1,60 %. Уперше проведено порівняльний аналіз якісного складу та кількісного вмісту компонентів ефірної олії досліджуваних зразків. У зразках трави маруни дівочої виявлено 44 сполуки, сорту Phlora Pleno – 37, сорту White Gem – 34. Найбільший вміст компонентів ефірної олії визначено в траві сорту White Gem – 4390,64 мг/кг, у 2 рази менший у траві сорту Phlora Pleno – 2194,81 мг/кг та у 3,2 раза менший у траві маруни дівочої – 1375,02 мг/кг. Домінантними компонентами в усіх зразках були камфора, *транс*-хризантенілацетат, фенхілацетат, каріофіленоксид.

Досліджено фенольний профіль вітчизняних зразків трави маруни дівочої та її сортів. Методами ТШХ та ВЕРХ ідентифіковано 14 сполук. Уперше в досліджених зразках ідентифіковано неохлорогенову, 4-О-кофеїлхіну, кемпферол-3-рутинозид, лютеолін, лютеолін-7-глюкозид.

Розроблено методику ідентифікації флавоноїду сантину методом ТШХ.

Спектрофотометричним методом у досліджуваних зразках визначено кількісний вміст суми флавоноїдів, який коливався від 0,79 до 3,03 % (у перерахунку на гіперозид) та суми гідроксикоричних кислот – від 3,34 до 6,47 % (у перерахунку на хлорогенову кислоту). Домінантним компонентом у 7 зразках трави маруни дівочої була 3,5-дикофеїлхінна кислота (вміст варіював від 5402,57 до 11276,17 мкг/г).

Уперше визначено антирадикальну активність трави маруни дівочої та сортів White Gem і Phlora Pleno методом ВЕРХ. У 7 серіях трави маруни дівочої антирадикальна активність варіювала від 86,49 до 127,89 мкмоль/л. У траві маруни дівочої з 7 речовин, що виявляли антирадикальну активність, ідентифіковано

хлорогенову кислоту, а в траві сортів White Gem та Phlora Pleno з 12 сполук ідентифіковано рутин та хлорогенову кислоту.

Визначено елементний склад у серіях трави маруни дівочої з різних областей України та сортах White Gem і Phlora Pleno. Найбільший сумарний вміст елементів визначено в зразку трави маруни дівочої з Харківської області (6402,77 мг/100г). Серед визначених елементів у всіх зразках домінували калій, кальцій, магній та силіцій. Відсотковий вміст калію був найбільший та варіював від 56,9 до 68,5 % серед усіх визначених елементів.

Уперше проведено порівняльний аналіз морфолого-анатомічної будови трави маруни дівочої та її сортів. Визначено загальні та відмінні ознаки. Виявлено додаткові діагностичні мікроскопічні ознаки (стебло ребристе, 5-6-шарова кутова коленхіма, спіральні та пористі судини, 4-6-клітинні головчасті волоски; схізо-лізигенні вмістища з брунатним вмістом у паренхімі ложа кошика, сосочкоподібна епідерма квіток, друзи в паренхімі листочків обгортки кошика), що запропоновано внести в національну частину монографії «Маруни дівочої трава» до розділу «Ідентифікація Б».

Уперше досліджено динаміку накопичення партенолід, суми флавоноїдів і суми гідроксикоричних кислот у траві маруни дівочої, визначено оптимальну фазу для накопичення цих БАР і період заготівлі сировини – масове цвітіння.

Визначено показники якості вітчизняних серій трави маруни дівочої, заготовлених у різних регіонах України, а також її сортів Phlora Pleno та White Gem. В усіх серіях трави маруни дівочої та її сортів методом ТШХ згідно з методикою ДФУ ідентифіковано сесквітерпеновий лактон партенолід ($R_f = 0,5$; рухома фаза *ацетон Р - толуол Р* (15:85)). Методом ВЕРХ визначено вміст цього сесквітерпенового лактону в серіях сировини маруни дівочої, що коливався від 0,16 % до 0,39 %. Високий вміст партенолід визначено в сортах Phlora Pleno та White Gem (0,56 % та 0,47 % відповідно). Проведено верифікацію методики кількісного визначення партенолід за такими критеріями: лінійність, правильність та прецизійність.

Запропоновано в національну частину монографії ДФУ «Маруни дівочої трава» додатково внести визначення вмісту суми гідроксикоричних кислот методом СФ (не менше 2 %), що підтверджено актом впровадження № 11/1330-5 від 28.09.2020 р.

Розроблено технологію одержання з трави маруни дівочої густого ліпофільного екстракту під умовною назвою «Танапарт». Стандартизацію одержаного екстракту запропоновано проводити за такими параметрами: ідентифікація та вміст партеноліду, сухий залишок, мікробіологічна чистота. Уперше методом ТШХ та ВЕРХ у отриманому екстракті визначено партенолід, вміст якого склав 6,48 %.

Зі шроту отримано густий водно-спиртовий екстракт під умовною назвою «Тапацетіл». Стандартизацію одержаного екстракту запропоновано проводити за такими параметрами: ідентифікація хлорогенової та кофейної кислот, кількісний вміст суми флавоноїдів та суми гідроксикоричних кислот, сухий залишок, мікробіологічна чистота. Новизну досліджень підтверджено патентом на корисну модель № 140385 від 25.02.2020 р. Уперше в екстракті «Тапацетіл» методом ВЕРХ ідентифіковано та визначено вміст 12 сполук фенольної природи.

Уперше проведено дослідження фармакологічної активності екстрактів трави маруни дівочої «Танапарт» і «Тапацетіл». Підтверджено *in vitro* їх антибактеріальну та протигрибкову дію. В умовах *in vivo* підтверджено протизапальну активність екстракту «Тапацетіл» на моделях карагенінового та гістамінового набряків. Аналгетичну дію екстракту «Танапарт» підтверджено в тестах «гаряча пластинка» та «оцтовокіслі корчі». Екстракти виявляли найвищу активність у дозі 50 мг/кг.

Розроблено проєкти МКЯ на отримані лікарські рослинні препарати «Тапацетіл екстракт густий» та «Танапарт екстракт густий».

Розроблено інформаційний лист «Терміни заготівлі трави маруни дівочої (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip.)» за результатами досліджень динаміки

накопичення суми флавоноїдів та суми гідроксикоричних кислот у зразках трави маруни дівочої (видано за № 252-2019 від 36.03.2019 р.).

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

Ключові слова: маруна дівоча, трава, сорт White Gem, сорт Phlora Pleno, фармакогностичне вивчення, біологічно активні речовини, стандартизація, екстракт, протизапальна активність, аналгетична активність.

Список публікацій здобувача:

1. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Золотайкіна М. Ю., Сіра Л. М. Морфолого-анатомічні ознаки трави маруни дівочої (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip.). *Фармацевтичний часопис*. 2018. № 1. С. 16–22. (Особистий внесок: аналіз літературних джерел, узагальнення отриманих результатів дослідження, підготовка статті до друку).
2. Hordiei K. R., Gontova T. M., Zolotaikina M. Yu. The study on the elemental composition of the feverfew herb (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz bip.). *Вісник фармації*. 2018. № 3 (95). С. 25–29. (Особистий внесок: експериментальні дослідження, аналіз результатів, підготовка статті до друку)
3. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Сербін А. Г., Котов А. Г., Котова Е. Е. Вивчення фенольних речовин у траві маруни дівочої методом тонкошарової хроматографії та високоефективної рідинної хроматографії *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 3 (95). С. 64-70. (Особистий внесок: аналіз літературних джерел, проведення експерименту та узагальнення отриманих результатів дослідження, підготовка статті до друку).
4. Gordey K. R., Gontova T. M., Gaponenko V. P., Vusik D. M. Comparative study of the elemental composition of the feverfew cultivars ‘Phlora Pleno’ and ‘White Gem’. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020. № 48. P. 34–37. (Особистий внесок: проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).

5. Гордей К. Р., Гонтова Т. М. Дослідження складу жирних та органічних кислот трави маруни дівочої (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz bip.) *Фармацевтичний журнал*. 2020. № 5. С. 61–67. (Особистий внесок: аналіз результатів дослідження, формулювання цілей та задач дослідження, підготовка статті до друку).

6. Hordiei K. R., Gontova T. M., Gaponenko V. P. Prospects of studying of volatile oils of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz bip. For issues in chemosystematics of *Tanacetum* genus. *EUREKA*. 2020. № 6. P. 102–107. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, формулювання цілей та задач дослідження, підготовка статті до друку).

7. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Гапоненко В. П. Дослідження жирних та органічних кислот у траві сортів маруни дівочої White Gem та Phlora Pleno. *Український біофармацевтичний журнал*. 2020. № 4. С. 58–63. (Особистий внесок: аналіз результатів дослідження, огляд літературних джерел, підготовка статті до друку).

8. Засіб з протизапальною дією : пат. 140385 України. / Гонтова Т.М., Гордей К.Р., Міщено О.Я., Кириченко І.В., Калько К.О., Котов А.Г. № и 2019 07427 ; заявл. 04.07.2019 ; опубл. 25.02.2020, Бюл. № 4. (Особистий внесок: проведення інформаційно-патентного пошуку, проведення експериментальних досліджень, підготовка матеріалів для подання в патентне бюро).

9. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Котова Е. Е., Мариненко Н. І. Терміни заготівлі трави маруни дівочої (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip.) : інформ. лист № 252-2019 / НФаУ. Київ :Укрмедпатентінформ, 2019. 4 с.

10. Gordey K. R., Gontova T. N. Prospects for pharmacognostic research of *Tanacetum parthenium*. *Topical issues of new drugs development : Abstracts of XXIV International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student*, April 20, 2017. Kharkiv : NUPh. Vol. 1. P. 67.

11. Гордей К. Р., Гонтова Т. М. Підбір екстрагенту та вивчення числових показників трави маруни дівочої. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти*

створення лікарських препаратів різної направленості дії : матеріали III Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 14-15 листоп. 2017 р. Харків, 2017. С. 60–61.

12. Гордей К. Р., Гонтова Т. Н. Исследование минерального состава травы *Tanacetum parthenium*. «*Студенческая медицинская наука XXI века*» : матеріали XVII Междунар. конф., г. Витебск, 15-16 нояб. 2017 г. Витебск : ВГМУ, 2017. С. 85-86.

13. Гордей К. Р., Гонтова Т. М. Визначення технологічних параметрів трави маруни дівочої. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів* : матеріали II Міжнародної наук.-практ. дистанц. конф., м. Харків, 1-2 берез. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 69–70.

14. Гордей К. Р., Золотайкіна М. Ю., Гонтова Т. М. Сесквітерпенові лактони маруни дівочої. «*Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій*» : матеріали Всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 12-13 квіт. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 262–263.

15. Hordiei K. R., Gontova T. M. Pigments of *Tanacetum parthenium* herb. *Topical issues of new drugs development* : Abstracts of XXV International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student, April 18-20, 2018. Kharkiv : NUPh, 2018. Vol. 1. P. 38–39.

16. Hordiei K. R., Gontova T. M, Kotova E. E. Analysis of hydroxycinnamic acids content of the feverfew herb depending on the place of cultivation. *Science and practice* : Abstracts of 9th international conference of Pharmacy, November 9, 2018. Kaunas, 2018. P. 31.

17. Гордей К. Р., Гонтова Т. М. Товарознавчий аналіз серій трави маруни дівочої. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали III Міжнар. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 26-28 листоп. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 57.

18. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Котова Е. Е., Кириченко І. В., Міщенко О. Я. Перспективи комплексного використання трави маруни дівочої для створення екстрактів з анальгетичною та протизапальною дією. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, м. Харків, 19-20 верес. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. С. 279–280.
19. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Осолодченко Т. П., Кириченко І. В., Веля М. І., Рубан О. А. Дослідження антимікробної активності густого екстракту з трави маруни дівочої (*Tanacetum parthenium* (L.) Schulz Bip.). *Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації* : матеріали наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 22-23 жовт. 2019 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2019. С. 333–340.
20. Hordiei K., Gontova T., Kotova E., Velia M., Ruban O. Research on the chemical composition and standartisation of the feverfew thick extract. *Sciences and Practice* : 10th International Pharmaceutical Conference November 15, 2019. Kaunas, 2019. P. 32.
21. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Котова Е. Е. Визначення вмісту ефірної олії у серіях маруни дівочої трави. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 11 берез. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 49–50.
22. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Котова Е. Е., Яременко М. С. Дослідження якісного складу та кількісного вмісту фенольних речовин маруни дівочої та сорту «White gem». *Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження* : матеріали наук.-практ. дистанційної міжн. конф., м. Івано-Франківськ, 19-20 травня 2020 р., ІФНМУ. С. 153-154.
23. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Яременко М. С., Lina Raudone, Sonata Trumbeckaite. Дослідження профілю фенольних речовин та антирадикальної активності у траві маруни дівочої. *Теоретичні та практичні аспекти*

дослідження лікарських рослин : матеріали IV Міжнар. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 26-27 листоп. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 82.

24. Гордей К. Р., Вусик Д. М., Рубан О. А., Халавка М.В., Гонтова Т.М. Перспективи створення ректальних супозиторіїв на основі БАР трави маруни дівочої сорту Phlora Pleno. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали IV Міжнар. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 26-27 листоп. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 71.

25. Гордей К. Р., Гонтова Т. М. Стандартизація густого ліпофільного екстракту із трави маруни дівочої. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали V Міжнар. наук.-практ. інтернет–конф., м. Харків, 26 листоп. 2020 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2020. С. 152–153.

26. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Котова Е. Е. Дослідження якісного складу та кількісного вмісту фенольних сполук у траві маруни дівочої та сорті Phlora pleno. *Planta+. Наука, практика та освіта* : матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., м. Київ, 19 лют. 2021 р. Київ : Паливода А. В., 2021. С. 71–73.

ANNOTATION

Hordiei K. R. Pharmacognostic research on the feverfew and creation medicines on its basis. – Qualification scientific work with the manuscript copyright.

The thesis for a philosophic doctor pharmaceutical science degree in speciality 226 «Pharmacy, industrial pharmacy». – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2021.

The thesis is devoted to the complex pharmacognostic study of the feverfew herb, standardization of medicinal plant raw materials, development of optimal technology for obtaining medicines, standardization and research of their pharmacological activity.

Sesquiterpene lactones, chlorophylls, carotenoids, carboxylic acids, components of essential oil, phenolic compounds, macro- and microelements were found in the objects of study using modern methods of identification and quantification of biologically active substances (BAS).

For the first time, a comparative analysis of the chemical composition of domestic series of feverfew herb and its varieties White Gem and Phlora Pleno was conducted.

Lipophilic fractions were obtained from domestic samples of the feverfew herb and its varieties White Gem and Phlora Pleno. The content of fractions for the feverfew herb was 5,7 %, for variety Phlora Pleno – 4,1 % and for variety White Gem – 3,9 %. Chlorophyll a and b, and β -carotene were identified in the obtained fractions.

A comparative analysis of carboxylic acids of feverfew herb and its varieties White Gem and Phlora Pleno collected in Ukraine was carried out. 35 carboxylic acids were detected and identified in the studied samples. 10 acids were classified as low molecular weight aliphatic acids, 16 were classified as fatty and 9 – as aromatic. The total content of carboxylic acids in the feverfew herb was 26540,13 mg/kg, in variety Phlora Pleno – 22960,52 mg/kg and in variety White Gem – 24312,51 mg/kg. Among the determined carboxylic acids, succinic, levulinic, citric, palmitic, linoleic, oxalic and linolenic acids dominated in all the samples.

Essential oil was obtained from the samples of the feverfew herb and its varieties, its content ranged from 0,39 to 1,60 %. For the first time a comparative analysis of the qualitative composition and quantitative content of essential oil components of the

studied samples was carried out. 44 compounds in the feverfew herb were found, 37 compounds – in variety Phlora Pleno, 34 compounds – in variety White Gem. The largest number of essential oil components was identified in the herb of the variety White Gem – 4390,64 mg/kg, 2 times less – in the herb of variety Phlora Pleno – 2194,81 mg/kg and 3,2 times less – in the feverfew herb – 1375,02 mg/kg. Camphor, trans-chrysanthenyl acetate, phenyl acetate and caryophyllene oxide were the dominant components in all the samples.

The phenolic profile of domestic samples of the feverfew herb and its varieties was studied. 14 compounds were identified by TLC and HPLC. Neochlorogenic, 4-o-caffeoylquinic, kaempferol-3-rutinoside, luteolin, luteolin-7-glucoside were identified for the first time in the studied samples.

A method for the identification of flavonoid santin by TLC has been developed.

The quantitative content of the amount of phenolic compounds and hydroxycinnamic acids in the studied samples was determined by spectrophotometric method. The content of flavonoids was from 0,79 to 3,03 % and the content of hydroxycinnamic acids was from 3,34 to 6,47 %. 3,5-dicopheylquinic acid was the dominant compound in 7 samples of the feverfew herb (the content varied from 5402,57 to 11276,17 $\mu\text{g/g}$).

For the first time, the antiradical activity of the feverfew herb and its varieties White Gem and Phlora Pleno was determined by HPLC. Antiradical activity ranged from 86,49 to 127,89 $\mu\text{mol/l}$ in 7 series of the feverfew herb. Chlorogenic acid was identified among the 7 substances that showed anti-radical activity in the feverfew herb, and rutin and chlorogenic acid were identified among the 12 compounds in the herb of varieties White Gem and Phlora Pleno.

The elemental composition in the series of the feverfew herb from different regions of Ukraine, varieties White Gem and Phlora Pleno was determined. The highest total content of elements was determined in the sample of the feverfew herb from Kharkiv region (6402,77 mg/100g). Potassium, calcium, magnesium and silicon dominated

among the identified elements in all the samples. The percentage of potassium was the highest and ranged from 56,9 to 68,5% among all the identified elements.

For the first time, a comparative analysis of the morphological and anatomical structure of the feverfew herb and its varieties was carried out. Common and distinctive features were identified. Additional diagnostic microscopic signs were revealed (ribbed stem, 5-6-layered angular collenchyma, spiral and porous vessels, 4-6-celled covered trichomes; schizo-lysigenic conceptacles with brown content in the parenchyma of the anthodium receptacle, papillary epidermis of flowers, druses in the parenchyma of anthodium leaves wrap) and proposed to be included into the national part of the monograph «Feverfew herb» to the section «Identification B».

For the first time, the dynamics of parthenolide accumulation, the amount of flavonoids and hydroxycinnamic acids in feverfew herb was studied, the optimal phase for the accumulation of BAS data was established as well as the period of raw material collecting – mass flowering.

The quality indicators of domestic series of the feverfew herb collected in different regions of Ukraine and its varieties Phlora Pleno and White Gem were determined. Parthenolide ($R_f = 0,5$) was identified in all the samples of the feverfew herb and its varieties by TLC according to the SPhU method. The content of parthenolide in the series of the feverfew herb ranged from 0,16 % to 0,39 %. High parthenolide content was found in Phlora Pleno and White Gem varieties (0,56 % and 0,47 % respectively). Verification of the quantitative determination method of parthenolide was carried out by the following criteria: linearity, accuracy and precision.

It was proposed to additionally include in the National part of the monograph «Feverfew herb» the content determination of the amount of hydroxycinnamic acids by the spectrophotometric method (not less than 2%), which is confirmed by the act of implementation № 11/1330-5 dated 28.09.2020.

The technology of obtaining a thick lipophilic extract from the feverfew herb, which was named «Tanapart», has been developed. It was proposed to standardize the obtained extract according to the following parameters: identification and parthenolide

content, dry residue and microbiological purity. For the first time, parthenolide (6,48 %) was determined in the extract by TLC and HPLC.

A thick water-alcohol extract, which was named «Tapacetil», was obtained from the extracted meal. It was proposed to standardize the obtained extract according to the following parameters: identification of chlorogenic and caffeic acids, quantitative content of the sum of flavonoids and hydroxycinnamic acids, dry residue and microbiological purity. The novelty of the research was confirmed by the patent for the utility model № 140385 dated 25.02.2020. For the first time, the content of 12 phenolic compounds in the extract «Tapacetil» was identified and determined by HPLC.

For the first time, the research of the pharmacological activity of the extracts from feverfew herb «Tanapart» and «Tapacetil» was conducted. Their antibacterial and antifungal action has been confirmed *in vitro*. The anti-inflammatory activity of «Tapacetil» extract was confirmed on models of carrageenan and histamine edema. The analgesic effect of «Tanapart» extract was confirmed in the tests «hot plate» and «acetic acid cramps». The extracts showed the highest activity at a dose of 50 mg/kg.

Projects of the quality control method for the obtained herbal medicines «Tapacetil thick extract» and «Tanapart thick extract» have been developed.

An information letter «Terms of collecting feverfew herb (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip.)» based on the results of studies of the dynamics of flavonoids and hydroxycinnamic acids accumulation in samples of the feverfew herb was developed (issued on № 252-2019 from 36.03.2019).).

The results of chemical and morphological-anatomical research were introduced into the research work of related institutions of higher education in Ukraine.

Key words: feverfew, herb, variety White Gem, variety Phlora Pleno, pharmacognostic study, biologically active substances, standardization, extract, anti-inflammatory activity, analgesic activity.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	18
ВСТУП	19
РОЗДІЛ 1 СИСТЕМАТИЧНЕ ПОЛОЖЕННЯ, БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД І ЗАСТОСУВАННЯ У МЕДИЦИНІ МАРУНИ ДІВОЧОЇ (Огляд літератури)	27
1.1 Систематичне положення, розповсюдження, ботанічна характеристика маруни дівочої	27
1.2 Хімічний склад маруни дівочої	31
1.3 Застосування маруни дівочої у народній та офіційній медицині	41
1.4 Підходи до стандартизації трави маруни дівочої	47
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКИ, ВИКОРИСТАНІ В ДОСЛІДЖЕННЯХ	51
2.1 Об'єкти досліджень	51
2.2 Матеріали, методи та обладнання досліджень	53
2.2.1 Фізичні, хімічні та фізико-хімічні методи аналізу	53
2.2.2 Фармакогностичні методи аналізу	62
2.2.3 Фармакологічні методи аналізу	64
2.2.4 Технологічні випробування	68
2.2.5 Статистична обробка результатів	68
РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БАР У ТРАВІ МАРУНИ ДІВОЧОЇ ТА ЇЇ СОРТАХ PHLORA PLENO І WHITE GEM	69
3.1 Порівняльне дослідження якісного складу та кількісного вмісту БАР у траві маруни дівочої та її сортах Phlora Pleno і White Gem	69
3.1.1 Ліпофільні речовини	69
3.1.2 Карбонові кислоти	71

3.1.3	Ефірні олії	75
3.1.4	Сполуки фенольної природи	78
3.1.4.1	Розробка методики ідентифікації сировини маруни дівочої за наявністю сантину методом ТШХ	80
3.1.4.2	Кількісне визначення суми гідроксикоричних кислот	84
3.1.4.3	Кількісне визначення суми флавоноїдів	86
3.1.4.4	Дослідження фенольних сполук методом ВЕРХ	89
3.1.5	Дослідження впливу фенольних сполук на рівень антирадикальної активності	94
3.1.6	Дослідження макро- та мікроелементного складу	96
Висновки до розділу 3		98
РОЗДІЛ 4	ВИВЧЕННЯ МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНИХ ОЗНАК ТРАВИ МАРУНИ ДІВОЧОЇ ТА ЇЇ СОРТІВ. СТАНДАРТИЗАЦІЯ СИРОВИНИ ВІДПОВІДНО ДО ВИМОГ ДФУ	102
4.1	Морфолого-анатомічні діагностичні ознаки трави маруни дівочої та її сортів	102
4.2	Аналіз показників якості, нормованих для ЛРС	111
4.2.1	Ідентифікація партенолідів у траві маруни дівочої та її сортах	115
4.2.2	Кількісне визначення партенолідів у траві маруни дівочої та її сортах	116
4.2.3	Верифікація методики кількісного визначення партенолідів	119
4.3	Розробка національної частини до монографії «Маруни дівочої трава»	120
4.4	Динаміка накопичення партенолідів та фенольних сполук у траві маруни дівочої	124
Висновки до розділу 4		126
РОЗДІЛ 5	РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ОТРИМАННЯ ЕКСТРАКТІВ НА ОСНОВІ ТРАВИ МАРУНИ ДІВОЧОЇ. ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ ДІЇ ОДЕРЖАНИХ ЕКСТРАКТІВ	130

5.1	Розробка технології отримання густого хлороформного екстракту «Танапарт» та густого водно-спиртового екстракту «Тапацетіл»	130
5.2	Дослідження якісного складу та кількісного вмісту основних БАР екстрактів «Танапарт» і «Тапацетіл»	135
5.2.1	Визначення партеноліду в екстракті «Танапарт»	135
5.2.2	Визначення фенольних сполук у екстракті «Тапацетіл»	137
5.2.3	Дослідження антирадикальної активності	139
5.3	Стандартизація екстрактів «Танапарт» і «Тапацетіл»	140
5.3.1	Проект МКЯ на густий хлороформний екстракт трави маруни дівочої «Танапарт»	140
5.3.2	Проект МКЯ на густий водно-спиртовий екстракт трави маруни дівочої «Тапацетіл»	142
5.4	Дослідження фармакологічної активності екстрактів «Танапарт» і «Тапацетіл»	143
5.4.1	Антибактеріальна та антигрибкова дія екстрактів «Танапарт» і «Тапацетіл»	143
5.4.2	Протизапальна активність екстракту «Тапацетіл»	145
5.4.3	Аналгетична активність екстракту «Танапарт»	145
	Висновки до розділу 5	147
	ВИСНОВКИ	151
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	154
	ДОДАТКИ	170

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АЕС –	атомно-емісійна спектрофотометрія
БАР –	біологічно активі речовини
ВЕРХ –	високоєфективна рідинна хроматографія
ВООЗ –	Всесвітня організація охорони здоров'я
ГХ –	газова хроматографія
ГХ-МС –	хромато-мас-спектрометрія
ГК –	гідроксикоричні кислоти
ДФУ –	Державна фармакопея України
ЄФ –	Європейська фармакопея
ІК –	інтактний контроль
КП –	контрольна патологія
ЛРП –	лікарський рослинний препарат
ЛРС –	лікарська рослинна сировина
МКЯ –	методи контролю якості
МОЗ –	Міністерство охорони здоров'я
НФаУ –	Національний фармацевтичний університет
СЗ –	стандартний зразок
СФ –	спектрофотометрія
ТШХ –	тонкошарова хроматографія
УФ –	ультрафіолетова область
ФСЗ ДФУ	фармакопейний стандартний зразок Державної фармакопеї України
ПЗА	протизапальна активність
АА	аналгетична активність
ТЕАЄ	Тролокс-еквівалент антирадикальної ємності
НПЗЗ	нестероїдні протизапальні засоби

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Світова тенденція популяризації фітотерапії зумовлена високою безпечністю препаратів на основі лікарської рослинної сировини. Проте наразі існують захворювання, для лікування яких використовують лише терапію синтетичними засобами, яка своєю чергою має багато недоліків. Одним із таких захворювань є мігрень. За даними ВООЗ, мігрень входить до перших 20 захворювань, які викликають значну працездатність. У світі від мігрені страждає понад 10 % людей. Принаймні 0,5 % дорослого населення України мають регулярні напади мігрені. Класичними препаратами вибору є НПЗЗ та триптани. Проте наведені лікарські засоби чинять низку побічних ефектів. Тому актуальним постає питання пошуку ефективних та безпечних лікарських рослинних засобів для лікування і профілактики нападів мігрені.

Однією з перспективних рослин для розв'язання цієї проблеми є представник роду пижмо – *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. Це багаторічна трав'яниста рослина родини Айстрові, яку широко культивують у країнах Європи, Північної Америки та на території України. Вона знайшла застосування в народній медицині як антимігренозний, протизапальний, жарознижувальний, цитостатичний засіб.

За кордоном маруну дівочу широко використовують як дієтичну добавку у вигляді капсул і таблеток для лікування і профілактики мігрені (Migranol®, MigraHerb®, Feverfew grande chamomile®, Feverfew® Swanson тощо). Ефективність трави маруни дівочої у терапії мігрені пов'язують з особливостями хімічного складу, у якому переважають сесквітерпенові лактони, зокрема партенолід. За останні 10 років з'явилась низка публікацій з дослідженнями щодо використання маруни дівочої для лікування онкологічних захворювань.

Офіційною сировиною маруни дівочої є трава – *Tanacetum parthenii* herba. Монографії на цю сировину, яку стандартизують за наявністю та кількісним вмістом партеноліду, містять Європейська, Американська, Американська трав'яна, Британська фармакопеї та Державна фармакопея України. Попри наявність

монографії на траву маруни дівочої у ДФУ, комплексних досліджень цього виду в Україні не проводили. Нормативно-аналітична документація, використовувана в Україні, є перекладом монографії ЄФ, де не враховано діагностичні ознаки та особливості хімічного складу вітчизняної сировини, тому гостро стоїть питання розробки національної частини проєкту монографії «Маруни дівочої трава *N*» до Державної фармакопеї України.

З метою розширення сировинної бази перспективними для дослідження є також сорти маруни дівочої, які широко культивують в Україні. Такі сорти маруни дівочої, як White Gem і Phlora Pleno є невибагливими до природно-кліматичних умов України та мають значну надземну масу.

Отже, фармакогностичне вивчення вітчизняних зразків трави маруни дівочої та її сортів, стандартизація сировини, розробка лікарських рослинних препаратів на сьогодні є актуальними.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційну роботу виконано відповідно до плану Проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України як фрагмент комплексних наукових робіт Національного фармацевтичного університету за темою: «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на їх основі» (№ державної реєстрації 0114U000946). Дисертанткою особисто проведено фармакогностичне вивчення трави маруни дівочої, її сортів Phlora Pleno та White Gem, розроблено на основі офіційної сировини маруни дівочої лікарські засоби.

Мета і завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи було комплексне фармакогностичне дослідження трави маруни дівочої та її сортів Phlora Pleno і White Gem, отримання лікарських рослинних препаратів на основі офіційної сировини маруни дівочої, розроблення параметрів стандартизації сировини та лікарських рослинних препаратів, вивчення їх біологічної дії.

Для досягнення мети було визначено такі завдання:

- провести аналіз наукових першоджерел щодо систематичного положення, морфолого-анатомічної будови, хімічного складу, використання маруни дівочої та її сортів Phlora Pleno і White Gem, критеріїв стандартизації сировини;
- дослідити якісний склад і кількісний вміст основних груп БАР у зазначених виді та сортах;
- визначити динаміку накопичення партенолідів, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот в обраній сировині за фазами вегетації;
- дослідити серії трави маруни дівочої з різних областей України та її сорти відповідно до вимог ДФУ;
- вивчити морфолого-анатомічні ознаки досліджуваного виду та сортів, провести стандартизацію сировини;
- розробити технології одержання екстрактів з трави маруни дівочої, визначити показники їх якості та розробити проекти МКЯ на екстракти;
- визначити фармакологічну активність одержаних екстрактів.

Об'єкт дослідження. Комплексне фармакогностичне вивчення трави маруни дівочої, її сортів Phlora Pleno і White Gem та екстрактів на основі офіційної сировини маруни дівочої.

Предмет дослідження. Вивчення якісного складу, визначення кількісного вмісту БАР в траві маруни дівочої та сортів Phlora Pleno і White Gem (ліпофільні речовини, сесквітерпенові лактони, гідроксикоричні кислоти та флавоноїди, карбонові кислоти, ефірна олія), макро- і мікроелементів; визначення морфолого-анатомічних діагностичних ознак трави; стандартизація трави маруни дівочої; розробка національної частини монографії «Маруни дівочої трава» для ДФУ; розробка технології комплексного перероблення трави маруни дівочої та одержання густого хлороформного екстракту «Танапарт» і густого водно-спиртового екстракту «Тапацетіл»; стандартизація і визначення їх фармакологічної активності.

Методи дослідження. Органолептичні, морфолого-анатомічні – опис, ідентифікація, фізичні – визначення втрати в масі під час висушування, загальної золи, розчинність у полярних і неполярних розчинниках; фізико-хімічні –

тонкошарова хроматографія (ТШХ), високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), газова хроматографія (ГХ), хромато-мас-спектрометрія (ГХ-МС), атомно-емісійна спектрофотометрія (АЕС), спектрофотометрія (СФ) в УФ- та видимих ділянках спектрів; хімічні – якісні реакції, специфічні для певних груп БАР; технологічні – визначення об'ємної маси, питомої маси, насипної маси, пористості сировини, порозності шару, вільного об'єму шару, плинності сировини, коефіцієнта поглинання екстрагента; фармакологічні *in vivo* та *in vitro* – антирадикальна, протизапальна, анагетична, антимікробна дії за стандартними методиками; статистичні – оброблення результатів експерименту за вимогами ДФУ.

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше проведено комплексне фармакогностичне вивчення серій трави маруни дівочої, заготовлених у 7 областях України. Досліджено якісний склад та кількісний вміст сесквітерпенових лактонів, ефірної олії, суми гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, жирних і органічних кислот. У ліпофільних фракціях виявлено α і β -каротин, хлорофіл. Ідентифіковано 97 сполук різної природи.

Уперше в досліджуваних зразках виявлено та ідентифіковано 35 карбонових кислот.

Уперше з вітчизняних серій трави маруни дівочої та її сортів отримано ефірну олію. Уперше методом ГХ-МС у траві маруни дівочої виявлено 23 компоненти ефірної олії.

Уперше досліджено фенольний профіль вітчизняних зразків трави маруни дівочої та її сортів. Методами ТШХ та ВЕРХ ідентифіковано 14 сполук. Уперше в траві маруни дівочої ідентифіковано 5 сполук: неохлорогенову кислоту, 4-О-кафеїлхінову кислоту, кемпферол-3-рутинозид, лютеолін, лютеолін-7-глюкозид. Для сортів Phlora Pleno і White Gem усі фенольні речовини визначено вперше.

Розроблено методику ідентифікації флавоноїду сантину методом ТШХ. Спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст суми флавоноїдів (від 0,79 до 3,03 %) та суми гідроксикоричних кислот (від 3,34 до 6,47 %) у 7 зразках трави маруни дівочої.

Уперше в зразках трави маруни дівочої та її сортів методом ТШХ ідентифіковано партенолід. Визначено вміст партеноліду, який варіював від 0,16 % до 0,39 % у 7 зразках трави маруни дівочої та її сортах методом ВЕРХ.

Уперше методом ТШХ та ВЕРХ визначено вміст партеноліду в екстракті «Танапарт» – $6,48 \pm 0,02$ %. Уперше проведено дослідження фармакологічної активності екстрактів «Танапарт» і «Тапацетіл». Підтверджено антибактеріальну, протигрибкову, протизапальну та аналгетичну активність екстрактів.

Уперше визначено антирадикальну активність у вітчизняних серіях трави маруни дівочої та її сортах White Gem та Phlora Pleno. У досліджуваних зразках антирадикальна активність варіювала від 86,49 до 127,89 мкмоль/л.

Уперше досліджено динаміку накопичення партеноліду та фенольних сполук у вітчизняних зразках трави маруни дівочої.

Уперше визначено вміст 14 мінеральних сполук у серіях трави маруни дівочої і сортах White Gem та Phlora Pleno.

Досліджено морфолого-анатомічну будову трави маруни дівочої та її сортів White Gem і Phlora Pleno. Визначено загальні та відмінні ознаки.

Практичне значення отриманих результатів. Експериментальним шляхом підтверджено значну перспективність використання трави маруни дівочої та її сортів White Gem і Phlora Pleno як додаткової сировини. Виявлено додаткові діагностичні мікроскопічні ознаки (стебло ребристе, 5-6-шарова кутова коленхіма, спіральні та пористі судини, 4-6-клітинні головчасті волоски; схізо-лізигенні вмістища з брунатним вмістом у паренхімі ложа кошика, сосочкоподібна епідерма квіток, друзи в паренхімі листочків обгортки кошика), що запропоновано внести до національної частини монографії «Маруни дівочої трава» до розділу «Ідентифікація Б». Запропоновано в національну частину монографії «Маруни дівочої трава» внести додатково визначення вмісту суми гідроксикоричних кислот методом СФ (не менше 2 %), що підтверджено актом впровадження № 11/1330-5 від 28.09.2020 р.

За результатами досліджень динаміки накопичення суми флавоноїдів та суми гідроксикоричних кислот у зразках трави маруни дівочої, заготовлених у різних

областях України, розроблено інформаційний лист «Терміни заготівлі трави маруни дівочої (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip.)» (видано за № 252-2019 від 36.03.2019 р.).

Розроблено технології отримання густих екстрактів із трави маруни дівочої – ліпофільного та водно-спиртового (технологію останнього підтверджено пат. 140385 України на корисну модель «Засіб з протизапальною дією»). Розроблено проекти МКЯ на отримані лікарські рослинні препарати «Тапацетіл екстракт густий» та «Танапарт екстракт густий», апробовані на ТОВ «КФК “ГРІН ФАРМ КОСМЕТИК”».

Дані досліджень хімічного складу, анатомічної будови трави маруни дівочої та її сортів White Gem і Phlora Pleno впроваджено в навчальний процес 4 профільних кафедр ЗВО України: кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету; кафедри фармацевтичної і біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет»; кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету; кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Безпосередньо авторкою здійснено:

- інформаційно-патентний пошук за темою дисертаційної роботи;
- аналіз та впорядкування інформації стосовно систематичного положення і стану вивченості маруни дівочої в Україні та світі;
- аналіз чинних нормативно-аналітичних документів зі стандартизації трави маруни дівочої;
- заготівлю сировини маруни дівочої та її сортів White Gem і Phlora Pleno;
- порівняльний аналіз якісного складу та кількісного вмісту БАР у траві маруни дівочої та її сортів White Gem і Phlora Pleno;
- дослідження динаміки накопичення головних груп БАР у траві маруни дівочої, запропоновано оптимальні терміни заготівлі сировини;
- розробку проєкту національної частини монографії ДФУ «Маруни дівочої трава», МКЯ на одержані екстракти «Танапарт» і «Тапацетіл»;

- розробку технології отримання екстрактів на основі трави маруни дівочої;
- дослідження якісного складу та кількісного вмісту БАР в отриманих екстрактах «Танапарт» і «Тапацетіл»;
- узагальнення даних, отриманих у ході дослідження фармакологічної активності лікарських рослинних препаратів на основі трави маруни дівочої.

Визначення мети, завдань дослідження, обговорення та узагальнення результатів здійснено за участю наукового керівника. Співавторами наукових праць є науковий керівник Т. М. Гонтова та науковці, спільно з якими проведено дослідження: Л. М. Сіра, С. М. Губарь, А. Г. Котов, Е. Е. Котова, L. Raudone, S. Trumbeckaite, В. П. Руденко, В. П. Гапоненко, А. Г. Сербін, О. А. Рубан, М. В. Халавка, М. І. Веля, Д. М. Вусик, О. Я. Міщенко, К.О. Калько, І. В. Кириченко. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантці належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи обговорено та викладено на науково-практичних конференціях різного рівня: XXIV, XXV International Scientific and Practical Conference Of young Scientists and Student «Topical issues of new drugs development» (20 April 2017; April 18-20, 2018, NUPH, Kharkiv); III, V міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (14–15 листопада 2017 р.; 26 листопада 2020 р., НФаУ, Харків); XVII Международной конференции «Студенческая медицинская наука XXI века» (г. Витебск, 15-16 ноября 2017 г.); II Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів» (м. Харків, 1-2 березня 2018); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій» (м. Харків, 12-13 квітня 2018 р.); 9th, 10th international conference of Pharmacy Science and practice (November 9, 2018; November 15, 2019, Kaunas, Lithuania); III, IV Міжнародній науково-практичній конференції

«Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (26-28 листопада 2018 р.; 26-27 листопада 2020 р., НФаУ, м. Харків.); науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку» (м. Харків, 19-20 вересня 2019 р.); науково-практичній конференції «Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації» (м. Харків, 22-23 жовтня 2019 р.); II Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (11 березня 2020 р., м. Харків); науково-практичній дистанційній міжнародній конференції «Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження» (м. Івано-Франківськ, 19-20 травня 2020 р.; Міжнародній науково-практичній конференції «Planta+. Наука, практика та освіта» (Київ, 19 лютого 2021 р.).

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота складається з анотації, вступу, огляду літератури, 4 розділів експериментальних досліджень, загальних висновків, списку джерел літератури і 2 додатків. Основний зміст викладено на 148 сторінках. Роботу ілюстровано 41 рисунком, 30 таблицями. Список використаної літератури складає 160 найменувань, з них кирилицею – 29 та латиницею – 131.

РОЗДІЛ 1

СИСТЕМАТИЧНЕ ПОЛОЖЕННЯ, БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД І ЗАСТОСУВАННЯ У МЕДИЦИНІ МАРУНИ ДІВОЧОЇ (Огляд літератури)

1.1 Систематичне положення, розповсюдження, ботанічна характеристика маруни дівочої.

Маруна дівоча (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip.) – багаторічна трав'яниста рослина роду пижмо (*Tanacetum* L.) родини Айстрові (*Asteraceae* L.) [1, 2, 3, 4, 5]. Рід пижмо належить до триби пупавкових (*Anthemideae* Cass.), яка налічує близько 100 родів та понад 1700 видів, що широко розповсюджені в середземноморських регіонах Європи, Африки та в Центральній Азії [6, 7]. Цей рід є одним із найбільш численних серед пупавкових, він налічує близько 150 видів [4]. Морфологічно близькими до роду *Tanacetum* є роди пупавка (*Anthemis* P.Micheli), ромашка (*Matricaria* L.), хризантема (*Chrysanthemum* L.) та полин (*Artemisia* L.). Близькість морфологічних ознак видів викликає труднощі під час їх класифікації та визначення приналежності до наведених родів. І нині існує багато інтерпретацій та невирішених питань щодо систематичного положення певних видів. Історіографічний огляд свідчить, що маруну дівочу свого часу зараховували до 5 різних родів. Це підтверджують синонімічні назви виду: *Chrysanthemum parthenium* (L.) Bernh., *Leucanthemum parthenium* (L.) Gren and Gordon, *Pyrethrum parthenium* (L.) Smith та *Matricaria parthenium* (L.) Smith [1, 2, 5]. Довгий час маруна дівоча належала до самотійного роду *Pyrethrum* Zinn. Проте 1844 року німецький ботанік, медик та біолог Карл Генріх Шульц приєднав представників роду *Pyrethrum* до роду *Tanacetum*. Він є автором таксону, тому після бінарної назви виду пишуть Schultz Bip. На сьогодні самотійний рід *Pyrethrum* вилучено з наукової ботанічної класифікації, а представників цього роду віднесено до роду *Tanacetum* [2, 8].

Історичне походження назви дескриптора виду належить стародавнім грекам (V століття до н.е.). Вони назвали траву *parthenium*, тому що використовували її з лікувальною метою для рятування життя людей, які падали з Парфенону під час його будівництва. Англійська назва маруни дівочої «feverfew» у перекладі означає «знижує лихоманку», що пов'язано з використанням цієї трави як жарознижувального засобу давньогрецьким лікарем I століття Діоскоридом. Трава маруни дівочої відома як «середньовічний аспірин», або «аспірин XVIII століття» [5, 9].

Маруна дівоча – рослина-геліофіт, родом із Балканського півострова та Кавказу, де вона росте вздовж доріг, на лісових галявинах, узліссях, просіках переважно на добре зволжених ґрунтах як багаторічна трава [1, 3, 5]. Культивують її як однорічну рослину в країнах Європи, Китаї, Японії, Австралії та в Північній Африці. З середини XIX століття маруну дівочу було інтродуковано в США та Канаді, в Україні її вирощують як декоративну, ефіроолійну, медоносну та інсектицидну культуру [1, 3, 6].

Маруна дівоча має галузисте, прямостояче стебло, заввишки 25 – 60 см. Листки черешкові, перисторозсічені, опушені, світло- або жовто-зелені. Суцвіття – кошики, діаметром 2–4 см, прості або махрові, зібрані в щільні зонтикоподібні щитки. Язичкові квітки – жіночі; трубчасті – двостатеві. Зацвітає через 80–100 днів після посіву. Цвітіння рясне і триває з середини липня до заморозків. Плоди – дрібні, клиноподібні, ребристі, сіруваті сім'янки [1, 10, 11]. Рослина має характерний та яскраво виражений запах камфори.



Рис. 1.1 Маруна дівоча

З декоративною метою у багатьох країнах культивують сорти маруни дівочої, серед яких найбільш поширеними є сорти White Bonnet, Golden Ball, Crown White, Ultra Double White, Rowallane, Aureum, Vanilla, White staRS, White Wonder, Tetra White Wonder, Tetra Weiss, Santana, Plenum, Double-flowered, White Pompom, Row Allen, Nutborne, Butterball, Roya, Schneeball, Selma Stern, Weisser Knopf, Gigantea Tetra [12, 13]. В Україні з декоративною метою вирощують 8 сортів маруни дівочої, а саме: Altus Simpliflowered, Aureum, Golden Ball, Phlora Pleno, Snow Ball, Snow Dwarf, White Gem, Tetra Weiss. Ці сорти інтродуковано в найбільшій кількості в Національному ботанічному саду ім. М. М. Гришка НАН України [13, 14]. Серед наведених сортів в Україні більш широко культивують сорт White Gem та сорт Phlora Pleno, що є невибагливими до природно-кліматичних умов України та мають значну надземну масу.

Таблиця 1.1

Морфологічні особливості сортів маруни дівочої, культивованих в Україні

Назва сорту	Морфологічні особливості	Літературні джерела
1	2	3
Snow Ball (Сноу Болл)	Середньорослий сорт, стебло – 30-35 см, суцвіття білі, позбавлені язичкових квіток, густомахрові, схожі на пухнасті кулі	12, 13, 14
Golden Ball (Голден Болл)	Середньорослий сорт, стебло – 30-35 см, суцвіття оранжево-жовті, махрові, позбавлені язичкових квіток	12, 13, 14
Snow Dwarf (Сноу Дворф)	Низькорослий сорт, стебло – 20-25 см, суцвіття білі	12, 13, 14
Tetra Weiss (Тетра Вай)	Високорослий великоквітковий сорт, стебло – 60 см з білими махровими суцвіттями (діаметр до 4 см) на довгих квітконосах	12, 13, 14

1	2	3
White Gem (Вайт Джем, Уайт Гем)	Середньорослий сорт, стебло – 20–35 см, з біло-жовтими суцвіттями-кошиками, діаметром до 2,5 см. Суцвіття утворені з одного ряду крайових язичкових квіток та серединних – трубчастих. Язичкові квітки короткі, широкі, білі; трубчасті – змінюють своє забарвлення від краю до центру з білого до жовтого	12, 13, 14
Phlora Pleno (Флора Плено)	Високорослий сорт, стебло 40-60 см, з великими (діаметром до 4 см) білими густо-махровими суцвіттями білого кольору й довгими квітконосними пагонами	12, 13, 14
Altus Simpliflowered (Альтус сімпліфловєрд)	Середньорослий сорт, стебло – 22–32 см, з біло-жовтими суцвіттями-кошиками, діаметром до 2,0 см. Суцвіття утворені з одного ряду білих язичкових квіток та жовтих трубчастих на коротких квітконосах	12, 13, 14
Aureum (Ауреум)	Низькорослий сорт, стебло – 20-25 см, відрізняється жовтуватим забарвленням листків, суцвіття утворені з одного ряду білих язичкових квіток та жовтих трубчастих	12, 13, 14

1.2 Хімічний склад маруни дівочої

Порівняльний аналіз заготовлених в Ірані зразків дикорослої та культивованої маруни дівочої засвідчив, що вміст ефірної олії в них становив 0,1 та 0,4 % відповідно [15]. У зразках дикого виду виявлено 33 компоненти, а

культивованого – 30. В олії дикого виду домінантними сполуками були камфора (50,5 %), гермакрен-D (9,2 %), камфен (7,7 %) та сесквілавандулол (4,8 %), тоді як в олії культивованого виду – камфора (57,6 %), хризантенілацетат (25,1 %), камфен (4,6 %) та борніл ангелат (2,2 %) [15].

Згідно з іншим дослідженням маруни дівочої, заготовленої в Ірані, визначено 13 компонентів ефірної олії, серед яких у більшій кількості накопичувались камфора (43,97 %), хризантенілацетат (12,46 %) та фарнезол (7,54 %) [16].

За останніми науковими дослідженнями, основними компонентами ефірної олії трави маруни дівочої є похідні біциклічних монотерпенів – камфора та хризантенілацетат. Камфора є сильним антисептиком та репелентом. З лікувальною метою камфору застосовують у разі м'язових перенапружень, розтягування, запальних захворювань сполучних тканин, ревматичних порушень [17]. Закордонні дослідження сировини маруни дівочої свідчать про найбільший вміст камфори проти інших компонентів. Так, у зразках трави маруни дівочої з Бельгії вміст камфори склав 44,2 %, з Ірану – 53,8 % [18, 19]. Аналіз зразків маруни дівочої з Нідерландів продемонстрував динаміку накопичення камфори в процесі вегетації від 28 % до 48 % [20]. Дослідження ефірної олії коренів маруни дівочої з Ірану також показали, що камфори накопичується 30,2 %. Біциклічний монотерпен камфен також ідентифіковано в сировині маруни дівочої. Його вміст у зразках з Ірану склав 6,9 %, з Бельгії – 5,4 % [18, 19].

Хризантенілацетат уперше ідентифіковано у виді *Tanacetum boreale* Fisch., який є основним маркером ефірної олії представників роду *Tanacetum* [21]. Хризантенілацетат накопичується в сировині представників роду *Tanacetum* у формі *цис*- або *транс*-ізомеру. Так, у зразках трави маруни дівочої з Бельгії ця речовина містилась у формі *транс*-хризантенілацетату в кількості 23,5 %, у зразках з Ірану та Туреччини мала кетонову форму і була представлена хризантеноном із вмістом 3,3 % і 26,5 % відповідно [19, 22].

За літературними даними різних дослідницьких груп, ідентифіковано *транс*-каріофілен у траві маруни дівочої, вміст якого коливався в межах від 0,4 % до

5,9 % [23, 24]. Борніл пентаноат визначено в траві маруни дівочої з Ірану, з вмістом 0,3 % [19].

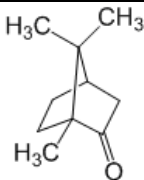
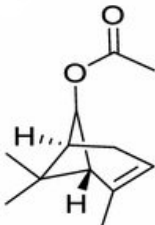
Серед ароматичних терпенів у зразках маруни дівочої ідентифіковано р-цимен із вмістом від 0,3 % до 5,2 % [25, 19].

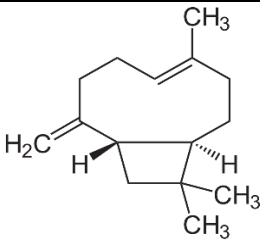
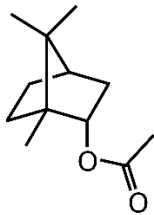
У зразках трави маруни дівочої, заготовлених у Бельгії та Ірані, ідентифіковано монотерпени α - і β -туйон, з якими пов'язують токсичність сировини. У зразку з Бельгії вміст α -туйону становив 0,6 %, а з Ірану – 0,9 % [20].

Специфічними компонентами ефірної олії для деяких видів роду *Tanacetum* є «піретрини», добре відомі своєю інсектицидною дією. Такими видами є *Tanacetum cinerariifolium* (Trev.) Schultz Bip., *Tanacetum odessanum* (Klok.) Tzvel. і *Tanacetum parthenium* L. Schultz Bip [26]. У найбільшій кількості «піретрини» зосереджені у квітках та насінні рослин. Їх широко використовують як природні інсектициди, що проти синтетичних інсектицидів мають більший профіль безпеки.

Таблиця 1.2

Основні компоненти ефірної олії маруни дівочої

№ з/п	Сполука	Структурна формула	Літературні джерела
1	2	3	4
1	Камфора		1, 23, 24, 27, 28
2	Хризантенілацетат		1, 23, 24, 27, 28

1	2	3	4
4	Каріофілен		1, 23, 24, 30
5	Борніл ацетат		1, 23, 24, 31

Вітчизняні науковці С. В. Пида та О. В. Гурська визначали вміст ефірної олії в сортах маруни дівочої, вирощених на території Північного Поділля України. Результати свідчать, що в листках маруни сорту Phlora Pleno вміст ефірної олії склав 1,48 %, сорту Snow Ball – 0,71 %, дещо менший вміст був у сортах White Gem – 0,43 % та Golden Ball 0,44 % (у перерахунку на суху речовину) [32]. Найбільший вміст серед визначених компонентів складали оксигеновмісні монотерпеноїди – 82,40 % у сорті White Gem і 94,93 % у сорті Phlora Pleno. Серед них виявлено такі сполуки: ліналоол, ліналоолоксид, терпінен-4-ол, терпінеол, карвеол. З біциклічних монотерпеноїдів визначено камфору, борнеол, сабієнгідрат, хризантенол, хризантенілацетат. Домінантними сполуками ефірної олії листків досліджуваних чотирьох сортів маруни дівочої були камфора (вміст варіював від 38,40 до 64,56 %), хризантенілацетат (20,55 – 34,16 %), борніл ацетат (1,73 – 5,76 %) та каріофіленоксид (0,82 – 4,13 %). У листках маруни дівочої сорту White Gem виявлено високий вміст борнеолу (3,98 %) [32].

Значний вміст ефірної олії в сортах маруни дівочої свідчить про перспективність їх подальшого дослідження як альтернативного джерела БАР.

Сесквітерпенові лактони – основний клас БАР, представлений у траві маруни дівочої [1, 33, 34]. Налічують понад 6000 сесквітерпенових лактонів встановленої природи [1, 33]. Цей клас БАР виявляє широкий спектр біологічної дії, зокрема

антибактеріальну, протизапальну, цитостатичну, фунгіцидну тощо активність [1, 5, 33, 34, 35]. Хімічно їх класифікують за ступенем циклізації вуглецевого скелета. Найбільш поширені серед них моноциклічні – гермакраноліди, ксантаноліди та елеманоліди, а також біциклічні – евідесманоліди, гваяноліди та псевдогваяноліди. Серед наведених сесквітерпенових γ -лактонів частіше містяться в рослинах моноциклічні гермакраноліди (відомо понад 600 сполук цього класу) [1, 33, 36, 37]. Зазвичай сесквітерпенові лактони виділяють з листків та квіток рослин, рідше – з коренів та кори [38, 39]. Для екстракції частіше використовують неполярні розчинники (хлороформ, діетиловий ефір та різні суміші зазначених екстрагентів).

Переважну кількість сесквітерпенових лактонів виявлено в представників родини *Asteraceae*, у меншій кількості – у родин *Amaranthaceae*, *Lauraceae*, *Magnoliaceae* та в певних видах грибів і мхів [33, 37]. Біологічну дію маруни дівочої зумовлено переважно сесквітерпеновими лактонами, яких налічують близько 30. Близько 85 % від суми ідентифікованих лактонів у цій ЛРС припадає на партенолід, який є представником класу гермакранолідів [1, 33]. Цю сполуку також виявлено в таких видах: *Michelia Rajaniana*, *Tanacetum larvatum*, *Tanacetum vulgare*, *Tanacetum microphyllum*, *Magnolia grandiflora*, *Liriodendron tulipifera*, *Magnolia virginiana*, *Matricaria chamomilla* L. [37, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46].

На накопичення партеноліду впливають чинники навколишнього середовища, а також умови заготівлі та зберігання сировини. Наприклад, відомо, що високий вміст у ґрунті таких елементів, як Mg, Na, Mn та Cu, азотистих добрив підвищує вміст партеноліду в рослині. Важливим фактором є сушіння та зберігання ЛРС, адже використання підвищених температур (вище 60 °C) зменшує вміст партеноліду. Зберігання сировини понад 11 місяців знижує вміст партеноліду на 30 % [47].

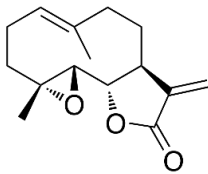
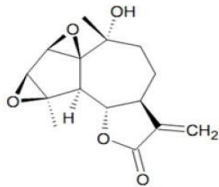
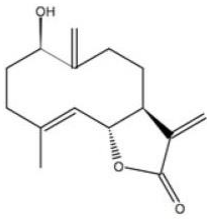
Накопичення партеноліду в траві маруни дівочої раніше досліджували в закордонній сировині. Так, наприклад, у суміші листків та квітучих верхівок, окремо в листках і квітучих верхівках маруни дівочої, заготовлених у Великій Британії, досліджували накопичення партеноліду методом ВЕРХ. Вміст

партеноліду в суміші листків та квітучих верхівок склав 0,18 %, у листках – 0,09 %, у квітучих верхівках – 0,27 %. [48]. У траві маруни дівочої з Нідерландів аналізували накопичення партеноліду протягом вегетаційного періоду. Вміст цієї сполуки коливався в межах від 0,29 % до 0,92 %, а найбільший вміст спостерігався на початку цвітіння [49]. За даними аналізу трави маруни дівочої, заготовленої в різних регіонах Мексики, вміст партеноліду коливався від 0,25 до 0,28 % [50].

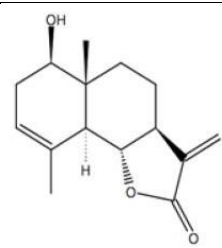
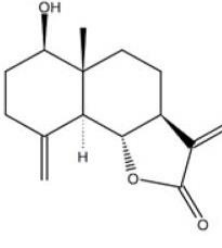
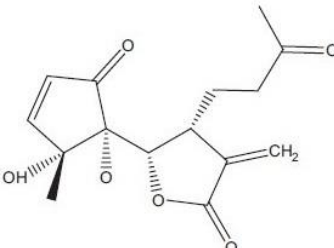
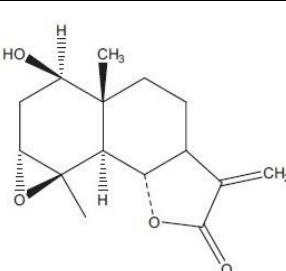
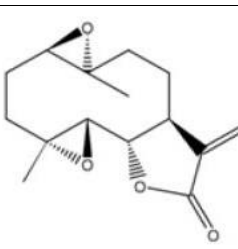
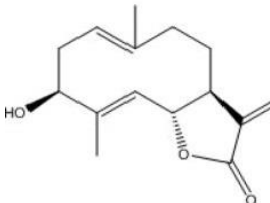
Окрім партеноліду, у траві маруни дівочої виявлено й інші сесквітерпенові лактони: хризантемін, артеканін, артеморин, балханін, канін, 10-епіканін, епоксіартеморин, сантамарин, епоксисантамарин та інші (табл. 1.2) [1, 9, 51, 52, 53].

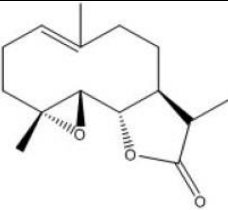
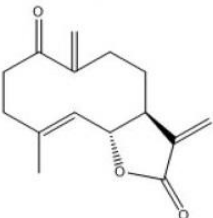
Таблиця 1.3

Основні сесквітерпенові лактони маруни дівочої

№ з/п	Сполука	Структурна формула	Літературні джерела
1	2	3	4
1	Партенолід		1, 51, 52, 53
2	Артеканін		1, 51, 52, 53
3	Артеморин		1, 9, 51, 52, 53

Продовж. табл. 1.3

1	2	3	4
4	Сантамарин		1, 9, 51, 52, 53
5	Рейнозин		1, 9, 51, 52, 53
6	Секотанартенолід		1, 9, 51, 52, 53
7	Епоксисантамарин		1, 9, 51, 52, 53
8	Костунолід діепоксид		1, 9, 51, 52, 53
9	3-β-Гідроксикостунолід		1, 9, 51, 52, 53

1	2	3	4
10	11,13- Дигідропартенолід		1, 9, 51, 52, 53
11	Ангідроверлотонін		1, 9, 51, 52, 53

Інформація щодо накопичення партенолідів у сортах достатньо обмежена. Дослідження вмісту сесквітерпенових лактонів у траві маруни дівочої сортів Golden Ball і Snow Ball, заготовлених на території Кавказу, засвідчило, що вміст цих БАР у сорті Golden Ball склав 0,58 %, а в сорті Snow Ball – 0,96 % [54, 55].

Згідно з літературними джерелами фенольні сполуки маруни дівочої представлені гідроксикоричними кислотами (хлорогенова, дикофеїлхінна, цикорієва та ін.), флавоноїдами та їх глікозидами (6-гідроксикемпферол 3,6-диметиловий ефір, 6-гідроксикемпферол 3,6,4'-триметиловий ефір (танетин), кверцетагетин-3,6-диметиловий ефір, кверцетагетин-3,6,3'-триметиловий ефір, кверцетин, апігенін, апігенін-7-глюкуронід, лютеолін, лютеолін-7-глюкуронід, хризоеріол, сантин, яцеїдин, centaureїдин) [1, 5, 55, 56, 57].

За літературними даними, вміст флавоноїдів у сировині маруни звичайної значно коливався залежно від місця вирощування. Так, наприклад, у траві маруни дівочої, заготовленій в Ізраїлі, вміст флавоноїдів склав 0,54 %, в Індії – 1,9 %, у Франції – 1,1 %, в Ірані – 0,11 % [34, 58, 59]. У зразках маруни дівочої з Ірану ідентифіковано кемпферол, нарингенін, апігенін, лютеолін, кверцетагетин, танетин, сантин, хризоеріол, яцеїдин та centaureїдин, з похідних коричної кислоти – синапову ($3,86 \pm 0,1$ мг/г) та ферулову ($2,59 \pm 0,1$ мг/г) кислоти [17, 60]. Сумарний вміст фенольних сполук у сировині, заготовленій у Румунії, склав 3,48 %, з яких

1,27 % припадало на флавоноїди та 1,30 % на деривати кофейної кислоти. Серед ідентифікованих сполук у найбільшій кількості містились апігенін, лютеолін, кверцетин, хлорогенова, кофейна та гентизинова кислоти [61].

Особливу увагу науковці звертають на метильовані та метоксильовані флавоноїди маруни дівочої, а саме 5,7-дигідрокси-3,6,4'-триметоксифлавіон (сантин), 6-гідроксикемпферол 3,7,4'-триметиловий ефір (танетин), 6-гідроксикемпферол 3,7-диметиловий ефір (кверцетагетин) та кверцетагетин 3,7,3'-триметиловий ефір. У траві маруни дівочої, заготовленій у Бразилії, методом ВЕРХ ідентифікували санин та партенолід. Також запропоновано використання санину як додаткового маркера сировини, адже партенолід також міститься у квітках пижма звичайного та ромашки римської [58]. Дослідження науковців з Мексики засвідчило, що вміст санину в траві маруни складає 7,4 %, що забезпечує високу анксиолітичну та антидепресивну активність в експерименті *in vivo* [62].

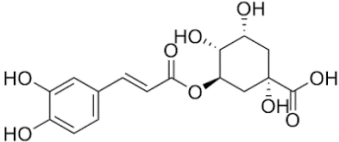
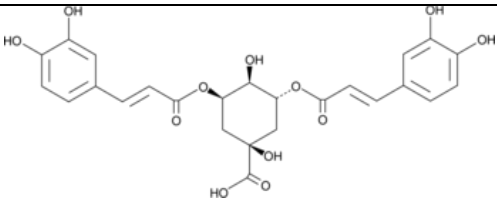
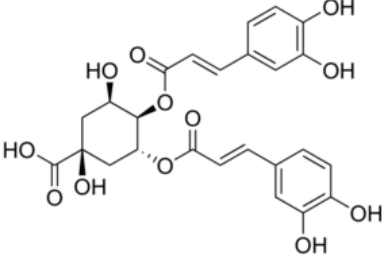
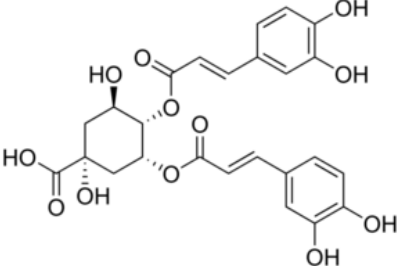
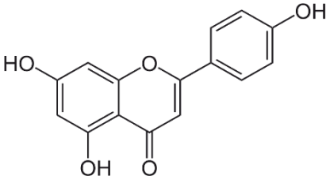
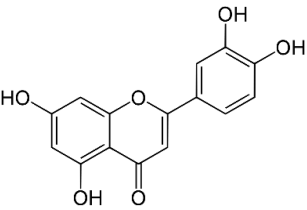
Переважаю в усіх проаналізованих нами джерелах як домінуючі фенольні компоненти зазначено деривати кофейної кислоти, а саме: хлорогенову кислоту (5-кофеїлхінна кислота), дикафеїлхінні (3,5-, 4,5- та 3,4-ди-О-кафеїлхінні кислоти) та трикафеїлхінні кислоти. Уперше 3,5-, 4,5- та 3,4-ди-О-кафеїлхінні кислоти ідентифіковано в траві маруни дівочої, заготовленій у США, а також доведено їхню високу антиоксидантну активність [63]. Науковці з Туреччини дослідили взаємозв'язок фенольного складу сировини маруни з її антиоксидантною активністю [64].

У коренях маруни дівочої виявлено кумарини ізофраксидин та ізофраксидин диметиловий ефір [1, 65]. Також у коренях маруни дівочої визначено лігнан – (2-гліцерил)-О-коніферальдегід [1, 66].

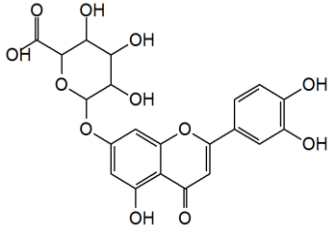
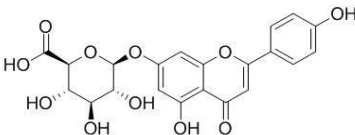
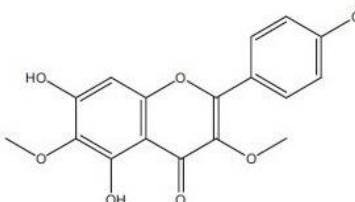
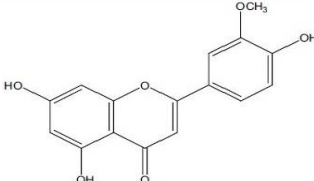
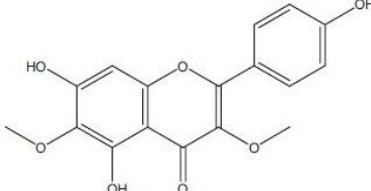
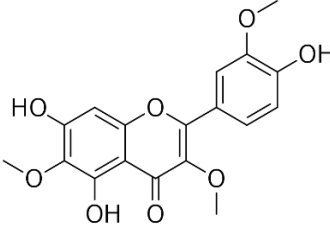
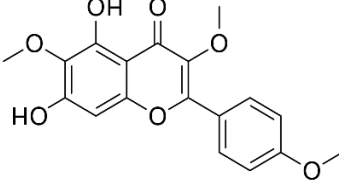
Основні фенольні сполуки, ідентифіковані в сировині маруни дівочої, наведено в табл. 1.4.

Таблиця 1.4

Основні фенольні сполуки маруни дівочої

№ з/п	Сполука	Структурна формула	Літературні джерела
1	2	3	4
1	Хлорогенова кислота		1, 63, 67, 68
2	3,5 - дикофеїлхінна кислота		1, 63, 67, 68, 69, 70
3	3,4 - дикофеїлхінна кислота		1, 63, 67, 68, 69, 70
4	4,5 - дикофеїлхінна кислота		1, 63, 67, 68, 69, 70
5	Апігенін		1, 63, 67, 68, 69, 70
6	Лютеолін		1, 63, 67, 68, 69, 70

Продовж. табл. 1.4

1	2	3	4
7	Лютеолін-7- глюкуронід		1, 63, 67, 68, 69, 70
8	Апігенін-7- глюкуронід		1, 63, 67, 68, 69, 70
9	Танетин		1, 63, 67, 68, 69, 70
10	Хризоеріол		1, 63, 67, 68, 69, 70
11	6-гідроксикемпферол 3,6-диметиловий ефір		1, 63, 67, 68, 69, 70
12	Яцеїдин		1, 63, 67, 68, 69, 70
13	Сантин		1, 63, 67, 68, 69, 71

Проведене дослідження фенольних сполук сортів маруни Golden Ball та Snow Ball, які вирощували на Кавказі, засвідчило, що вміст суми флавоноїдів у сорті Golden Ball склав 2,03 %, а в сорті Snow Ball – 2,47 % у перерахунку на рутин [54, 55].

Аналіз накопичення фенольних сполук проводили в сортах маруни дівочої Snow Ball, Golden Ball, White Gem та Phlora Pleno, вирощених на території України (Тернопільська обл.). Доведено, що протягом онтогенезу вегетативні та генеративні органи рослин накопичували різний вміст флавоноїдів. Найбільший вміст виявлено в листі та суцвіттях сортів маруни дівочої. Так, вміст флавоноїдів у листі сорту Snow Ball склав $328,4 \pm 14,6$ мг/100 г, сорту Phlora Pleno – $363,1 \pm 13,5$ мг/100 г, сорту Golden Ball – $309,8 \pm 12,7$ мг/100 г, сорту White Gem – $370,8 \pm 14,7$ мг/100 г. Кількість флавоноїдів у суцвіттях сортів була дещо нижчою та варіювала від $225,0 \pm 8,4$ до $282,1 \pm 10,7$ мг/100 г. У стеблах сорту White Gem вміст флавоноїдів був нижчий – $130,7 \pm 4,7$ мг/100 г, а в стеблах сорту Phlora Pleno – $158,4 \pm 3,6$ мг/100 г. У коренях сорту White Gem вміст флавоноїдів був $158,4 \pm 3,6$ мг/100 г, Golden Ball – $47,1 \pm 1,8$ мг/100 г та в сорті Phlora Pleno – $67,6 \pm 2,3$ мг/100 г. Отже, найбільший вміст флавоноїдів у дослідженій сировині був у сортах Phlora Pleno, White Gem і Golden Ball, найнижчий – у сорті Snow Ball [72]. Проаналізовані дані свідчать про перспективність дослідження сортів маруни дівочої Phlora Pleno, White Gem і Golden Ball.

Мелатонін ідентифіковано в листі маруни дівочої [73, 74].

У зразках трави маруни дівочої, культивованих в Ірані, визначено жирні кислоти, основними з яких були пальмітинова (57,27 %) та міристинова (14,7 %) [16]. З ненасичених кислот вміст лінолевої кислоти склав 6,03 %, а ліноленової – 2,01 % [16].

1.3 Застосування маруни дівочої у народній та офіційній медицині

Історична довідка. Цілющі лікувальні властивості маруни дівочої згадували ще античні філософи. Грецький лікар Діоскорид у I столітті нашої ери описував

чудову здатність маруни дівочої позбавляти від «гарячих запалень». У середні віки лікарі рекомендували пити відвар маруни дівочої з цукром або медом у разі ускладненого дихання, кашлю, хрипів. Настій трави маруни дівочої в поєднанні з вершковим маслом або вином використовували для лікування діареї, здуття та коліків. Вважали, що настої маруни дівочої ефективні проти артритів, дерматитів, болю у животі, зубного болю та шуму у вухах. Англійський фармацевт XVII століття, що є автором відомого «Повного травника», Томас Калпепер рекомендував вживати маруну дівочу в разі розладу менструального циклу та як протиотруту проти опію. Відомі випадки застосування маруни дівочої як абортивного засобу. Американські індіанці лікували маруною дівочою коліки та нудоту [1, 3].

Застосування в народній медицині. У наш час маруну дівочу широко застосовують у народній медицині. Вона є одним із найбільш ефективних засобів для лікування і профілактики мігрені та запаморочень. Перший сучасний публічний звіт про використання маруни дівочої як профілактичного засобу проти мігрені з'явився у 1978 році. Історія, про яку повідомляли у British Health Magazine, стосувалася пацієнтки, що страждала на важку мігрень з 16 років. У 68 років вона почала щодня вживати по 3 листки маруни дівочої, а через 10 місяців головний біль повністю припинився [1].

Також маруну дівочу застосовують для лікування артритів, розладів менструального циклу, нудоти, колітів, астми. Відомо також ефективне застосування маруни дівочої як кардіотонічного та спазмолітичного засобу. Маруну дівочу використовують як антикоагулянт. Зовнішньо настої з трави маруни дівочої застосовують у разі дерматитів, псоріазу та інших дерматологічних захворювань, що супроводжуються свербінням [1, 3].

Протипоказання. Маруна дівоча та дієтичні добавки на її основі не рекомендовано вагітним та жінкам, які годують груддю, а також у педіатричній практиці – дітям до 2-х років [75]. Не використовують маруну дівочу за індивідуальної непереносності та алергії. Оскільки маруна дівоча розріджує кров,

її не призначають пацієнтам, які вживають антикоагулянти. Зовнішньо застосовують з обережністю, адже є можливість розвитку контактного дерматиту. Курс лікування маруною дівочою зазвичай триває недовго [1, 3].

Застосування в офіційній медицині. У західних країнах маруну дівочу широко використовують як основний компонент дієтичних добавок у вигляді капсул і таблеток з метою лікування і профілактики мігрені (Migranol®, Migra Herb®, Feverfew grande chamomile®, Feverfew® Swanson тощо) [17, 76, 77]. Єдиною складовою цих капсул є висушена трава маруни дівочої в дозі від 125 до 325 мг. На українському ринку представлено дієтичні добавки-капсули закордонних фірм, таких, як Puritans Pride®, Swanson®, Nature's Way®, Eclectic Institute®.

Дозування.

Дорослі. Для лікування мігрені та головних болів: оптимальною дозою є 100–300 мг до 4 разів на день (вміст партеноліду 0,2–0,4 %). Дієтичні добавки на основі трави маруни дівочої, отримані за допомогою CO₂, вживають у дозі 6,25 мг 3 рази на день протягом 16 тижнів [78, 79, 80].

У разі запальних станів (наприклад, артрити): 60-120 крапель екстракту (співвідношення 1:1) 2 рази на день або 60-120 крапель настоянки (співвідношення 1:5) двічі на день [78, 79, 80].

Діти. Дітям старше 2х років дозу розраховують з огляду на вагу. Для дитини вагою 20-25 кг відповідною дозою маруни дівочої є 1/3 дози для дорослого [78, 79, 80].

Сучасні дослідження спектра фармакологічної активності маруни дівочої.

Антимігренозна активність. Науковці стверджують, що здатність трави маруни дівочої пригнічувати мігрень базується на багатьох механізмах, ураховуючи блокування рецепторів серотоніну (5HT), пригнічення синтезу простагландинів, зменшення спазму судин гладкої мускулатури та блокування секреції гранул тромбоцитів [1, 81, 82]. Низку клінічних досліджень проведено щодо антимігренозної активності маруни дівочої. Так, наприклад, дослідження на 8 пацієнтах, які отримували щодень 0,5-1,0 г листків маруни дівочої у вигляді

ліофілізованого порошку в капсулах, та 9 пацієнтах, які отримували плацебо-контроль, засвідчило, що пацієнти з першої групи менше спостерігали головні болі протягом 6 місяців лікування [83]. Ці результати було підтверджено в наступному плацебо-контрольованому дослідженні на 72 пацієнтах, які страждали на мігрень і використовували капсули з порошком листя маруни дівочої в дозі 82 мг [84]. Багатоцентрові клінічні дослідження маруни дівочої як антимігренозного засобу проведено на 60 пацієнтах і доведено, що 63 % пацієнтів, які отримували гомеопатичний препарат LipiGesic™ (основна діюча речовина – маруна дівоча) у дозі 3 мл на день, через 2 години після вживання відчували знеболення, на відміну від 39 %, які отримували плацебо. Пацієнти добре переносили препарат, найчастішими побічними ефектами були оніміння в роті та нудота [85]. У ході досліджень дійшли висновку, що 2-3 свіжих листки маруни дівочої на день ефективні не тільки проти класичної мігрені та кластерних головних болів, але й проти передменструальних, менструальних та інших головних болів [86, 75].

Комплексне дослідження проведено для оновлення Кокранівської бази даних статті «Маруна дівоча для запобігання мігрені». Науковцями здійснено подвійні сліпі рандомізовані контрольовані дослідження (561 пацієнт), що оцінювали клінічну ефективність та безпечність монопрепаратів маруни дівочої для запобігання мігрені. У результаті маруна дівоча знизила частоту нападів мігрені на 1,9 (з 4,8 до 2,9), а плацебо – на 1,3 (з 4,8 до 3,5) разів на місяць, що виявило різницю в ефекті між маруною дівочою і плацебо на 0,6 [87].

Високу ефективність і безпечність трави маруни дівочої для запобігання нападам мігрені підтверджено багатьма дослідженнями [88-98].

Протизапальна активність. Маруна дівоча є інгібітором синтезу простагландинів. Хлороформні екстракти листків маруни дівочої, багаті на сесквітерпенові лактони, пригнічують вироблення запальних простагландинів у лейкоцитах щурів та людини, що пов'язано зі зменшенням окислювальної активності нейтрофілів [99-101].

Танетин, ліпофільний флавоноїд, що міститься в траві маруни дівочої, блокує синтез простагландинів. Водні екстракти маруни дівочої та подрібнені листки в капсулах у дозі 100 мг перешкоджають вивільненню арахідонової кислоти та інгібують *in vitro* агрегацію тромбоцитів, стимульованих аденозиндифосфатом та тромбіном. Результати свідчать про те, що інгібування синтезу простагландинів маруни дівочої відрізняється за механізмом від саліцилатів [102-104].

Протизапальна та імунодепресивна дія трави маруни дівочої в капсулах підтверджується пригніченням вивільнення протизапальних медіаторів з макрофагів та лімфоцитів [105].

Протизапальну та нейромодулювальну активність водного екстракту маруни дівочої доведено в експерименті на мишах, де підтверджено зменшення вивільнення простагландинів та експресії гена IL-1 β у корі головного мозку, а в клітинах гіпоталамусу екстракт знижав рівень позаклітинного дофаміну й збільшував експресію гена-транспортера дофаміну завдяки безпосередній взаємодії з партенолідом [106].

Екстракт із квіток маруни дівочої був ефективним на моделі хронічного звуження невропатичного болю, пов'язаного з гострою запальною фазою, індукованою карагеніном [107].

Останні дослідження свідчать про високу протизапальну активність маруни дівочої шляхом зниження рівня цитокінів, що є ефективним для зниження супутніх захворювань у разі COVID-19 [108].

Противухлинна активність. Механізм цитотоксичної дії маруни дівочої пов'язаний з перериванням реплікації ДНК високореактивним лактоновим кільцем, епоксидом та метиленовими групами партеноліду через інгібування тимідину в ДНК [5, 109, 110].

Партенолід, головний маркер маруни дівочої, проявляє протиракову активність щодо кількох клітинних ліній раку, зокрема карциноми гортані людини та епідермоїдного раку носоглотки, та антигенну активність Епштейна-Барра [111-113]. Доведено ефективність партеноліду в лікуванні раку підшлункової залози.

Результати доводять, що партенолід пригнічує зростання та індукує апоптоз клітин раку підшлункової залози Ранс-1 та ВхРСЗ через 24 години лікування [114]. Підтверджено ефективність партеноліду, отриманого із трави маруни дівочої, проти пухлин товстого кишечника. Апоптоз ракових клітин відбувався в результаті пригнічення зростання та проліферації колоректальних клітин [115]. Партенолід проявляв високу ефективність для припинення зростання клітин з подальшим апоптозом у разі раку легень [116, 117]. Також доведено ефективність екстракту з трави маруни дівочої у лікуванні раку щитоподібної залози [118]. Останні дослідження свідчать про ефективність партеноліду в лікуванні гліобластоми – агресивної злоякісної пухлини з високим рівнем рецидивів. Шляхом складних механізмів партенолід пошкоджує ДНК клітин пухлини, чим викликає їх апоптоз [119].

Інші види активності. Ефективність маруни дівочої у лікуванні ревматоїдного артриту вивчали в подвійному сліпому, рандомізованому та плацебо-контрольованому дослідженні [9, 78, 120].

Екстракт маруни дівочої інгібує вивільнення гістаміну з тучних клітин. Точний механізм дії не визначено, але ймовірно це пов'язано з надходженням кальцію в тучні клітини [121].

Ди- та трикафеоїлхінні кислоти маруни дівочої проявляли протівірусну активність, що доведено *in vitro* та *in vivo* [122-124].

Відома також висока протівірусна активність флавоноїду сантину щодо вірусу грипу А. У дослідженні використовували виділений та очищений санин рослинного походження, який розчиняли у ДМСО. У дозі $27,68 \pm 0,52 \mu\text{M}$ спостерігали найбільший протівірусний ефект, що виявлявся шляхом інгібування фосфорилування вірусних клітин та послаблення експресії запальних цитокінів у заражених вірусом клітинах [125].

Водний екстракт з трави маруни дівочої, заготовленої у Мексиці, мав анксиолітичну та антидепресивну активність у дозі 20 мг/кг, що доведено в експерименті на мишах за допомогою тесту поведінки та тесту підвищеного

плюсового лабіринту. Отримані дані свідчать про позитивний вплив маруни дівочої на серотонінергічну систему, що може бути використано для створення лікарських засобів проти тривоги та депресії [45].

Монотерпени, що входять до складу ефірної олії маруни дівочої, проявляють виражену антимікробну та антиоксидантну активність [126].

1.4 Підходи до стандартизації трави маруни дівочої

Трава маруни дівочої є офіційною сировиною в низці країн, її внесено до Європейської, Американської, Американської трав'яної та Британської фармакопей. Монографію «*Tanacetum parthenii herba*» наведено в Державній фармакопеї України [127-131], вона є повністю гармонізована з Європейською фармакопеєю (ЄФ).

Під час дослідження аналітично-нормативної документації виявлено, що головним маркером сировини є сесквітерпеновий лактон – партенолід, за яким методом ТШХ підтверджують тотожність цієї ЛРС. Відповідно до вимог усіх монографій його вміст має бути не менше 0,2 % [127-131].

Макро- та мікроскопічні ознаки, відсоток домішок (не більше 10,0 % стебел із діаметром понад 5 мм і не більше 2,0 % інших сторонніх домішок), загальної золи (не більше 12 %) та втрати в масі під час висушування (не більше 10 %) регламентовано однаково в усіх монографіях [127-131].

Додаткові вимоги до сировини маруни дівочої висуває Американська фармакопея, де регламентовано: нормування золи, не розчинної в кислоті хлористоводневій (не більше 3 %), відсутність пестицидів, вміст важких металів (не більше 0,002 %), мікробіологічна чистота. Також під час ідентифікації сировини проводять додаткове виявлення фенольних сполук методом ТШХ, що дозволяє відрізнити маруну дівочу від ромашки лікарської та ромашки римської за характерними зонами. Схему хроматограми подано на рис. 1.2.

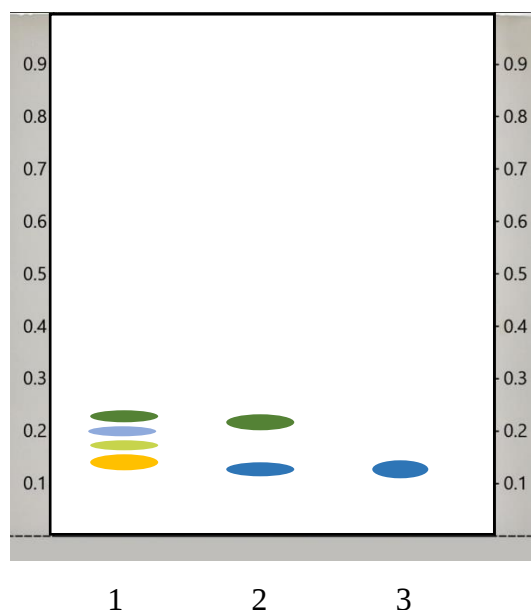


Рис. 1.2 Схема хроматограми фенольних сполук у траві маруни дівочої та близьких видів відповідно до вимог Американської фармакопеї: 1 – маруна дівоча, 2 – ромашка римська, 3 – ромашка лікарська (рухома фаза: *етилацетат* – *вода* - *мурашина кислота безводна* – *оцтова кислота крижана* (10: 2,7: 1,1:1,1))

На схемі видно, що за хроматографування випробовуваного розчину трави маруни дівочої відсутня синя зона з R_f 1,1 (відмінність від ромашки римської), але присутня зелена зона з R_f 2,3 (відмінність від ромашки лікарської), а за відповідних значень R_f зони розташовані таким чином: 1,5 (жовто-оранжева), 1,65 (жовто-зелена), 2,25 (світло-синя) та 2,3 (зелена) [131].

Також треба зазначити, що попри достатній вміст фенольних сполук, легкість і відтворюваність аналізу з їх визначення, цей показник відсутній у монографії ДФУ «Маруни дівочої трава».

Отже, огляд джерел літератури доводить, що іноземні дослідники виявляють науковий інтерес до вивчення трави маруни дівочої як ефективного антимігренозного засобу. На міжнародному фармацевтичному ринку представлені дієтичні добавки на основі трави маруни дівочої, які застосовують для лікування і профілактики нападів мігрені.

На сьогодні доведено протизапальну, протипухлинну, противірусну та антидепресивну активність трави маруни дівочої, що зумовлено комплексом БАР, який представлений переважно сесквітерпеновими лактонами (основним із яких є партенолід), фенольними сполуками (деривати кофейної кислоти, флавоноїди сантин, танетин, кверцетин), ефірною олією (основні компоненти – камфора, хризантенілацетат, камфен, борніл ацетат).

У світі та Україні культивують сорти маруни дівочої, дослідження яких з погляду хімічного складу є фрагментарними, а вивчення їх як можливої додаткової сировини не проводили.

Підходи до стандартизації дещо відрізняються. Монографія у ДФУ є перекладом монографії у ЄФ.

Отже, наразі постають актуальними дослідження трави маруни дівочої, зокрема популярних в Україні сортів, з погляду хімічного складу, а також стандартизація вітчизняних серій трави маруни дівочої згідно з ДФУ, розроблення національної частини монографії ДФУ та створення вітчизняних лікарських рослинних препаратів з певною фармакологічною дією.

Результати аналізу літературних джерел за темою дисертації наведено в таких публікаціях:

1. . Hordiei K. R., Gontova T. M., Gaponenko V. P. Prospects of studying of volatile oils of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz bip. For issues in chemosystematics of *Tanacetum* genus. *EUREKA*. 2020. № 6. P. 102–107.

2. Gordey K. R., Gontova T. N. Prospects for pharmacognostic research of *Tanacetum parthenium*. *Topical issues of new drugs development : Abstracts of XXIV International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student*, April 20, 2017. Kharkiv : NUPh. Vol. 1. P. 67

3. Гордей К. Р., Золотайкіна М. Ю., Гонтова Т. М. Сесквітерпенові лактони маруни дівочої. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських*

субстанцій: матеріали Всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 12-13 квітня 2018 р., НФаУ, 2018. С. 262-263.

4. Гордєй К. Р., Гонтова Т. М., Котова Е. Е., Кириченко І. В., Міщенко О. Я. Перспективи комплексного використання трави маруни дівочої для створення екстрактів з анальгетичною та протизапальною дією. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, м. Харків, 19-20 вересня 2019 р, НФаУ, С. 279-280.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКИ, ВИКОРИСТАНІ В ДОСЛІДЖЕННЯХ

2.1 Об'єкти дослідження

Об'єктами досліджень були зразки трави маруни дівочої та її сортів *Phlora Pleno* і *White Gem*, заготовлені у 2017-2020 рр., а також густий хлороформний екстракт та густий водно-спиртовий екстракт, отримані з трави маруни дівочої. Зразки сировини було заготовлено на території 7 областей України (рис. 2.1, табл. 2.1). Згідно із загальноприйнятими рекомендаціями щодо збирання лікарської рослинної сировини, траву маруни дівочої та її сорти заготовляли в період масового цвітіння (червень-серпень). Заготовлені зразки сушили повітряно-тіньовим методом за температури не вище 35 °С [132, 133]. Серії ЛРС зареєстровано в ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів».



Рис. 2.1 Місця заготівлі трави маруни дівочої та її сортів

Таблиця 2.1

Зразки трави маруни дівочої та її сортів

№ з/п	№ зразка	Місце заготівлі	Географічні координати	Дата заготівлі
1	864*	Житомирська обл., м. Житомир	50.1509, 28.4200	15.07.2017
				20.07.2018
				03.08.2019
2	865*	Черкаська обл, м. Черкаси	49.2540, 32.0326	12.07.2017
				08.08.2018
				13.07.2019
3	866*	Сумська обл., м. Суми	50.8969, 34.7759	14.07.2017
				30.07.2018
				28.07.2019
4	867*	Дніпропетровська обл., м. Дніпро	48.2610, 35.0231	02.08.2017
				29.07.2018
				15.07.2019
				24.07.2020
5	868*	Харківська обл., м. Харків	49.5935, 36.1428	02.08.2017
				29.07.2018
				15.07.2019
				24.07.2020
6	869*	Полтавська обл., м. Полтава	49.5954, 34.5638	03.08.2017
				20.07.2018
				25.07.2019
				28.07.2020
7	870*	Київська обл., м. Київ	50.2455, 30.3345	20.07.2017
				22.07.2018
				05.08.2019
				29.07.2020
	Сорт Phlora Pleno	Київська обл., м. Київ	50.2455, 30.3345	09.08.2017
				23.07.2018
				05.08.2019
	Сорт White Gem	Київська обл., м. Київ	50.2455, 30.3345	26.07.2017
				23.07.2018
				10.08.2019

Примітка. * – серії, зареєстровані в ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»

2.2 Матеріали, методи та обладнання досліджень

2.2.1 Фізичні, хімічні та фізико-хімічні методи аналізу

Для виконання експериментальної частини використовували фізичні, хімічні та фізико-хімічні методи аналізу, серед яких визначення втрати в масі під час висушування, ТШХ, ВЕТШХ, ВЕРХ, ГХ, ГХ-МС, АЕС, спектрофотометрія в ультрафіолетовій та видній ділянках.

Втрата в масі під час висушування. Визначення цього показника якості проводили відповідно до вимог ДФУ 2.2.32 «Втрата в масі під час висушування» у всіх зразках сировини [134].

Тонкошарова хроматографія. Ідентифікацію трави маруни дівочої на наявність сесквітерепенового лактону – партеноліді, фенольних речовин, а саме флавоноїдів та гідроксикоричних кислот, і деяких компонентів ефірної олії проводили з використанням ТШХ.

Для проведення досліджень використовували повітряно-суху сировину, просіяну крізь сито № 355, з якої отримували ліпофільні, метанольні та етанольні витяги [127]. Для всіх ТШХ-досліджень використовували пластинки «Merk Silica gel F₂₅₄».

Хроматографічні системи готували з використанням розчинників кваліфікації «ч.д.а.», «х.ч.» або «для ВЕРХ».

Для визначення хлорофілів використовували систему розчинників *хлороформ R – метанол R* (9:1), для визначення каротиноїдів – *гексан R – ефір діетиловий R – кислота оцтова льодяна R* (80 : 20 : 0,5).

Ідентифікацію партеноліді в усіх зазначених зразках сировини проводили методом тонкошарової хроматографії відповідно до методики ДФУ, наведеній у монографії «Маруни дівочої трава» [127].

Випробовуваний розчин. До 1 г здрібненої на порошок сировини (355) додавали 20 мл *метанолу R*, нагрівали на водяній бані за температури 60 °С

протягом 15 хв, охолоджували і фільтрували, упарювали насухо під зниженим тиском і розчиняли залишок у 2 мл *метанолу Р*.

Розчин порівняння. 5 мг *партеноліду Р* розчиняли в *метанолі Р* і доводили об'єм розчину тим самим розчинником до 5 мл. Як розчин порівняння використовували стандартний зразок *партеноліду* фірми «Sigma-Aldrich».

Як рухому фазу використовували систему *ацетон Р – толуол Р* (15:85).

Виявлення проводили після обприскування розчином 5 г/л *ваніліну Р* у суміші 20 об'ємів *етанолу Р* і 80 об'ємів *сірчаної кислоти Р*, переглядали за денного світла через 5 хв [127].

Визначення якісного складу фенольних сполук проводили методом ТШХ у таких системах:

1) *мурашина кислота безводна Р – вода очищена Р – етилацетат Р* (10 : 10 : 80);

2) *мурашина кислота безводна Р – вода очищена Р – метилетилкетон Р – етилацетат Р* (10 : 10 : 30 : 50).

Хроматографічні профілі обробляли 10 г/л *аміноетиловим ефіром дифенілборної кислоти Р* у *метанолі Р* та 50 г/л *макроголу 400 Р* у *метанолі Р*, через 30 хв визначали за забарвленням у денному світлі та за їх флуоресценцією в УФ-світлі за 365 нм [127].

Як розчин порівняння використовували розчин *кофейної та хлорогенової кислот, гіперозиду, рутину, лютеоліну, лютеолін-7-глюкозиду*. Для хроматографування використовували метанольні витяжки з досліджуваної сировини, які готували за аналогічною методикою для визначення *партеноліду*.

Для якісного визначення ліпофільного флавоноїду *сантину* було розроблено нову методику.

Випробовуваний розчин. Для методики приготовано випробовуваний розчин *трави маруни дівочої* в концентрації 0,25 г/мл. 0,5 г свіжоподрібненої на порошок (355) *трави маруни дівочої* поміщали в круглодонну колбу на 25 мл, додавали 10 мл *метанолу Р*, після чого нагрівали протягом 15 хв на водяній бані зі зворотним

холодильником за температури 60 °С, охолоджували та фільтрували крізь паперовий фільтр «синя стрічка», упарювали та розчиняли залишок у 2 мл метанолу *R*.

Як розчин порівняння використовували 1,5 мг/мл метанольний розчин стандартного зразка санину (Santin TLC) фірми «PlantMetaChem» (серія D-35394).

Для елюювання санину використовували такі рухомі фази:

- 1) *хлороформ R – метанол R – оцтова кислота R* (81,6 : 16,4 : 2);
- 2) *хлороформ R – метанол R – оцтова кислота R* (98,4 : 0,8 : 0,8).

Як проявник використовували *аміноетиловий ефір дифенілборної кислоти R* та *макроголу R*.

Виявлення зон на хроматограмі проводили без обприскування за довжини хвилі 254 нм, а також після обприскування за денного світла та за довжини хвилі 365 нм.

Спектрофотометрія. Дослідження кількісного вмісту фенольних компонентів сировини маруни дівочої та її сортів проводили за вмістом суми флавоноїдів і суми гідроксикоричних кислот на базі ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» з консультативною допомогою завідувача відділу ДФУ, д. фарм. н. А. Г. Котова та завідувача сектора «Експериментальна підтримка розробки монографій на ЛРС», к. фарм. н. Е. Е. Котової.

Дослідження кількісного вмісту суми флавоноїдів здійснювали спектрофотометричним методом у перерахунку на гіперозид згідно з уніфікованими фармакопейними методиками ДФУ 2.1, наведеними у монографіях «Глоду листя та квітки N», «Берези бруньки», та в перерахунку на лютеолін відповідно до монографії «Пижма квітки» [135].

Методики у монографіях «Пижма квітки» та «Глоду листя та квітки N» засновані на визначенні флавоноїдів після реакції із сумішшю борної і щавлевої кислот у суміші мурашиної та оцтової кислот.

Згідно з методикою «Пижма квітки» вміст суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін у сировині обчислювали у відсотках за формулою:

$$X = \frac{A_1 \times m_0 \times 20 \times 100}{A_0 \times m \times (100 - w)}, \quad (2.1)$$

де A_1 – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 410 нм;

A_0 – оптична густина розчину порівняння за довжини хвилі 410 нм;

m_0 – маса наважки *ФСЗДФУ лютеоліну*, у г;

m – маса наважки випробовуваної сировини, у г;

w – втрата в масі під час висушування сировини, у %.

Згідно з методикою «Глоду листя та квітки N» оптичну густина випробовуваного розчину вимірювали через 30 хв після приготування за довжини хвилі 410 нм [127].

Випробовуваний розчин густих екстрактів трави маруни дівочої готували таким чином: густі екстракти в кількості 0,05 г розчиняли в колбі місткістю 100 мл, доводили об'єм розчину *етанолом (70 % об/об) Р* до позначки і перемішували. Далі дослідження проводили відповідно до методики, описаної у монографії «Глоду листя та квітки N» [127].

Вміст флавоноїдів у перерахунку на гіперозид у сировині (2.2) та в екстрактах (2.3) обчислювали у відсотках за формулами:

$$x (\%) = \frac{A \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100}{m \cdot 5 \cdot 405 \cdot (100 - W)} = \frac{A \cdot 1,235 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)}, \quad (2.2)$$

$$x (\%) = \frac{A \cdot 100 \cdot 25}{m \cdot 5 \cdot 405} = \frac{A \cdot 1,235}{m}, \quad (2.3)$$

де: A – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 410 нм;

m – маса наважки випробовуваного зразка, у г;

405 – питомий показник поглинання гіперозиду за довжини хвилі 410 нм;

w – втрата в масі під час висушування сировини, у %.

Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів за методикою монографії «Берези листя» ґрунтується на реакційній здатності флавоноїдів взаємодіяти з алюміній хлоридом.

Оптичну густину випробовуваного розчину вимірювали через 30 хв і порівнювали з компенсаційним розчином за довжини хвилі 425 нм [127].

Вміст флавоноїдів у перерахунку на гіперозид у сировині обчислювали у відсотках за формулою (2.4):

$$x (\%) = \frac{A \cdot 100 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{m \cdot 20 \cdot 10 \cdot 500 \cdot (100 - W)} = \frac{A \cdot 1,25 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)}, \quad (2.4)$$

де: A – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 425 нм;

m – маса наважки випробовуваної сировини, у г;

500 – питомий показник поглинання гіперозиду за довжини хвилі 425 нм;

w – втрата в масі під час висушування сировини, у %.

Дослідження кількісного вмісту суми гідроксикоричних кислот визначали в зразках сировини маруни дівочої та її сортів спектрофотометричним методом згідно з методиками, які наведено у ДФУ, монографіях «Нирковий чай» та «Кропиви листя» [127].

Відповідно до методики «Нирковий чай» оптичну густину випробовуваних розчинів вимірювали відразу за довжини хвилі 505 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм.

Вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на розмаринову кислоту (у відсотках) у сировині обчислювали за формулою (2.5):

$$x (\%) = \frac{A \cdot 1000 \cdot 100}{m \cdot 400 \cdot (100 - W)}, \quad (2.5)$$

де: A – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 505 нм;

w – втрата в масі під час висушування сировини, у %;

m – маса наважки випробовуваного зразка, у г;

400 – питомий показник поглинання розмаринової кислоти.

Згідно з методикою «Кропиви листя» оптичну густину випробовуваних розчинів вимірювали відразу за довжини хвилі 525 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння компенсаційний розчин.

Вихідний розчин. До 0,500 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 80 мл *етанолу* (50 %, об/об) P , нагрівають у водяній бані зі зворотним холодильником протягом 30 хв, охолоджують і фільтрують. Фільтр обполіскують

10 мл *етанолу* (50 %, об/об) *P*, фільтрат і промивні води об'єднують у мірній колбі і доводять об'єм розчину *етанолом* (50%, об/об) *P* до 100,0 мл. Далі дослідження проводили відповідно до методики, описаної у монографії «Кропиви листя».

Вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на кислоту хлорогенову (у відсотках) у сировині (2.6) та екстрактах (2.7) обчислювали за формулами:

$$x (\%) = \frac{A \cdot 1000 \cdot 100}{m \cdot 188 \cdot (100 - W)}, \quad (2.6)$$

$$x (\%) = \frac{A \cdot 1000}{m \cdot 188}, \quad (2.7)$$

де: A – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 525 нм;
188 – питомий показник поглинання хлорогенової кислоти за довжини хвилі 525 нм;

w – втрата в масі під час висушування сировини, у %;

m – маса наважки випробовуваного зразка, у г.

Спектрофотометричне визначення антирадикальної активності в серіях трави маруни дівочої та її сортів проводили відповідно до методики Raudone L. et al. [136].

Випробовуваний розчин. 0,5 г (точна наважка) подрібненої на порошок (355) сировини поміщали в мірну колбу місткістю 25,0 мл, додавали 20 мл метанолу і витримували на ультразвуковій бані протягом 15 хв, після чого доводили до позначки тим самим розчинником, перемішували і фільтрували крізь паперовий фільтр «синя стрічка».

Катіонний радикал $ABTS^+$ отримували шляхом реакції між 7мМ водного розчину $ABTS$ (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) і 2,4 мМ розчину персульфату калію, змішаних у рівних кількостях, що їх зберігали в темряві за кімнатної температури протягом 16 годин перед використанням. Після чого отриманий розчин розбавляли водою, допоки оптичне поглинання не сягало рівня 0,900 AU за довжини хвилі 734 нм, і в подальшому використовували як робочий розчин.

До 100 мкл досліджуваного розчину додавали 4,9 мл робочого розчину $ABTS$ і через 30 хв вимірювали оптичне поглинання.

Для розрахування антирадикальної активності за допомогою стандартного розчину Trolox було побудовано калібрувальний графік. Визначення проводили в перерахунку на Trolox-еквівалент та суху сировину за формулою:

$$TE_{ABTS} = \frac{C \cdot V \cdot 100}{m \cdot (W - 100)}, \quad (2.8)$$

де: C – Trolox-концентрація в мкг/л із калібрувального графіка;

V – об'єм досліджуваного розчину, у л;

m – маса наважки сировини, у г;

W – втрата в масі під час висушування, у %.

Атомно-емісійна спектроскопія. Макро- та мікроелементний склад серій трави маруни дівочої та її сортів визначали АЕС на базі Інституту монокристалів НАН України. Стандартні розчини солей металів (ICORM-23-27) в інтервалі вимірюваних концентрацій використовували для будування калібрувальних графіків. Випарювання проб проводили у розряді дуги змінного струму силою 16 А та часу експозиції 60 с. Атомізатор ІВС-28 використовували як джерело збудження спектрів. Спектри реєстрували на фотоплівці за допомогою спектрографа ДФС-8-3 із фракційною решіткою 600 штр/мм із використанням трилінзової системи освітлення щілини. Фотометрували лінії спектрів за довжини хвилі 230–347 нм у пробах і порівнювали з державними зразками суміші мінеральних елементів, що відповідають складу різнотрав'я. Відносне стандартне відхилення не перевищувало 3 % ($n = 5$) під час визначення числових величин концентрацій елементів [137].

Високоєфективна рідинна хроматографія. Визначення кількісного вмісту сесквітерпенового лактону – партеноліді проводили відповідно до специфічної методики, наведеної у монографії «Маруни дівочої трава» ДФУ 2.0 [127], в усіх серіях трави маруни дівочої та її сортів. Для цього використовували високоєфективний рідинний хроматограф ProStar, укомплектований діодно-матричним детектором PDA model 330 (фірми «Varian», США), на базі Державної науково-дослідної лабораторії з контролю якості лікарських засобів НФаУ за консультації к. фарм. н. С. М. Губарь. Для визначення кількісного вмісту

партеноліду використовували колонку Purospher® STAR RT фірми Hibar розміром 250 x 4 мм, заповнену силікагелем октадецилсилільним для хроматографії Р діаметром 5 μm, фірми «Merck». Як стандарт використовували зразок паретноліду виробництва фірми «Sigma-Aldrich».

Випробовуваний розчин. 1,00 г здрібненої на порошок сировини після гомогенізації поміщали в колбу, додавали 40 мл метанолу Р, нагрівали у водяній бані за температури 60 °С протягом 10 хв, охолоджували і фільтрували. Фільтр промивали 15 мл метанолу Р. До залишку додавали 40 мл метанолу Р, повторювали процедуру, фільтрати і промивні води об'єднували й упарювали насухо під зниженим тиском. Залишок розчиняли в метанолі Р і доводили об'єм розчину тим самим розчинником до 20,0 мл. 10,0 мл одержаного розчину доводили рухомою фазою до 50,0 мл, фільтрували (0.45 мкм).

Розчин порівняння. 5,0 мг партеноліду Р розчиняли у метанолі Р і доводили об'єм розчину тим самим розчинником до 10,0 мл. 2,0 мл одержаного розчину доводили рухомою фазою до 50,0 мл. Далі дослідження проводили відповідно до методики, описаної у монографії «Маруни дівочої трава».

Вміст партеноліду обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot m_2 \cdot 40}{A_2 \cdot m_1}, \quad (2.9)$$

де: A_1 – площа піку партеноліду на хроматограмі випробовуваного розчину;

A_2 – площа піку партеноліду на хроматограмі розчину порівняння;

m_1 – маса наважки сировини, використаної для приготування випробовуваного розчину, у грамах;

m_2 – маса партеноліду в розчині порівняння, у грамах.

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту фенольних сполук трави маруни та її сортів проводили на базі кафедри фармакогнозії Литовського університету наук про здоров'я (Lietuvos sveikatos mokslų univeRSitetas). Для цього використовували вискоєфективний рідинний хроматограф WateRS e2695 Alliance system (фірми «WateRS», США) із спектрофотометричним детектором WateRS 2998. Аналіз проводили, використовуючи октадецилсилільну хроматографічну

колонку ACE C18 150 мм x 4,6 мм (фірми «АСТ», Великобританія), із розміром сорбенту 3 мкм.

Хроматографування проводили в градієнтному режимі, використовуючи як рухому фазу А 0,05% розчин *трифтороцтової кислоти Р* та *ацетонітрил Р* як рухому фазу Б. Швидкість рухомої фази – 0,5 мл/хв; об'єм інжекції – 10 мкл. Градієнтний режим наведено в таблиці 2.2.

Таблиця 2.2

Програма для градієнта хроматографування

Час, хв	Рухома фаза А (% , об/об)	Рухома фаза В (% , об/об)
0	88	12
5	88	12
50	70	30
51	10	90
56	10	90
57	88	12

Ідентифікацію індивідуальних речовин проводили за часом утримання та характерними максимумами поглинання і порівнювали з хроматограмами стандартних розчинів. Визначення кількісного вмісту сполук фенольної природи розраховували за допомогою калібрувальних графіків, побудованих з використанням розчинів стандартних зразків сполук фенольної природи [138].

Визначення антирадикальної активності сполук фенольної природи методом ВЕРХ проводили за такою методикою [138]: після дослідження якісного складу та кількісного вмісту сполук фенольної природи методом ВЕРХ рухому фазу, що містила аналіти, вводили в реакційну котушку WateRS PCR module (фірми «WateRS», США) через змішувальний трійник, куди одночасно подавали реагент ABTS (розділене співвідношення, 1 : 1) насосом Гілсона 305 (фірми «WateRS», США). Налаштування системи: діапазон температур за 50 °С, а витрата реагенту – 0,5 мл/хв.

Розчин ABTS готували за методами, описаними Раудонісом та ін. [139, 140].

Реакція антиоксидантних сполук з реагентом ABTS призвела до зміни кольору, що виявляли за допомогою додаткового WateRS 2487 UV/VIS детектора (фірми «WateRS», США). Виявлення ABTS у розчині реєстрували за довжини хвилі 650 нм. Як показник для вибору умов аналізу було обрано висоту негативних піків активних сполук. Антиоксидантну активність екстрактів оцінювали шляхом порівняння зі стандартом Trolox. Калібрувальні криві готували зі стандартного розчину Trolox у восьми розведеннях у межах 0,625 – 80 мг/мл [141].

Хромато-мас-спектрофотометричний аналіз карбонових кислот. Вивчення складу жирних та органічних кислот у траві маруни дівочої та її сортах проводили за допомогою загальноприйнятої методики [142].

Метилування використовували під час пробопідготовки для отримання метилових естерів карбонових кислот. Швидкість введення проби – 1 мл/хв. Хроматографічне дослідження проводили в таких умовах: нерухома фаза – INNOWAX, рухома фаза – гелій, швидкість потоку газу – 1 мл/хв. Температура нагрівача введення проб склала 250 °С. Для виявлення метилових естерів кислот використовували бібліотеку мас-спектрів NIST 05 та WILEY 2007 [142].

Хромато-мас-спектрофотометричний аналіз ефірної олії.

Методика. Кількісний вміст речовин у ефірній олії маруни дівочої та її сортів визначали методом внутрішнього стандарту. Дослідження здійснювали, використовуючи хроматограф Agilent Technologies 6890N із мас-спектрометричним детектором 5973. Ідентифікацію речовин проводили з використанням баз даних мас-спектрів NIST05 і WILEY 2007 разом зі спеціалізованими програмами для ідентифікації AMDIS і NIST [143].

2.2.2 Фармакогностичні методи аналізу

Фармакогностичні дослідження проводили згідно з методами аналізу ДФУ 2.8 «Методи фармакогнозії» [134].

Відбір проб і пробопідготовку трави маруни дівочої та її сортів проводили відповідно до вимог ДФУ монографії 2.8.20 «Лікарська рослинна сировина: відбір проб і пробопідготовка» [134].

Визначення вмісту сторонніх домішок проводили відповідно до вимог ДФУ 2.8.2 «Сторонні домішки у лікарській рослинній сировині» [134].

Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті. Визначення проводили відповідно до вимог ДФУ 2.8.1 «Зола, не розчинна в хлористоводневій кислоті» [134].

Макро- і мікроскопічне дослідження заготовленої трави маруни дівочої та її сортів проводили згідно з методикою ДФУ 2.8.23 «Мікроскопічне дослідження лікарської рослинної сировини». Для дослідження використовували цільну, різану, подрібнену на порошок траву. Порошковану сировину подрібнювали згідно з вимогами ДФУ монографії 2.9.12 «Ситовий аналіз», просіювали крізь сито 355 і просвітлювали за допомогою *хлоралгідрату Р* [134]. Дослідження поперечних і поздовжніх зрізів, епідерми та препаратів з поверхні проводили за допомогою мікроскопів МБС 9, МС 10 (окуляри x5, X10, 15, об'єктиви x10, X40), Micromed XS-4130 (окуляр WF15X, об'єктиви x40/0,65, x10/0,25) із мікрофотонасадкою (КНР). Фіксували результати дослідження за допомогою фотокамери Canon IXUS 220 HS.

Вміст екстрактивних речовин досліджуваної сировини визначали за методикою монографії «Полин гіркий^N» [127]. Як екстрагенти використовували *воду Р* та *етанол Р* різної концентрації: 30, 50, 70 та 96 %.

Визначення сухого залишку екстрактів проводили відповідно до вимог ДФУ, зазначених у монографії 2.8.16 «Визначення сухого залишку екстрактів» [134].

Кількісне визначення ефірної олії у сировині. Визначення проводили методом перегонки з водяною парою за вимогами ДФУ 2.8.12 «Визначення вмісту ефірних олій в лікарській рослинній сировині» у серіях трави маруни дівочої [134].

Загальна зола. Визначали відповідно до вимог ДФУ 2.4.16 «Загальна зола» [134].

Визначення важких металів проводили згідно з вимогами ДФУ, монографія 2.4.8 «Важкі метали», з використанням методу А на базі ДНУ НКТ «Інститут монокристалів» НАН України [134].

2.2.3 Фармакологічні методи аналізу

Дослідження проводили на базі Навчально-наукового тренінгового центру медико-біологічних досліджень Навчально-наукового інституту прикладної фармації Національного фармацевтичного університету (НФаУ) з консультативною допомогою д. мед. н., проф. О. Я. Міщенко.

Під час експерименту тварини перебували у віварії тренінгового центру НФаУ за температури повітря 20-22 °С, природного світлового режиму «день-ніч», у стандартних клітках, на стандартному харчовому раціоні. Усі експерименти на тваринах проводили відповідно до керівних принципів Директиви ЄС 2010/63/EU про захист тварин, використовуваних для наукових цілей. Групували тварин в експерименті за принципом рандомізації.

Протизапальну активність отриманого водно-спиртового екстракту трави маруни дівочої «Тапацетіл» вивчали на моделях карагенінового та гістамінового набряку [146, 147].

Тварин було об'єднано в групи по 6 щурів: 1 – контрольна патологія (тварини з карагеніновим набряком, які отримували дистильовану воду); 2 – тварини з набряком, які отримували досліджуваний екстракт у дозі 50 мг/кг; 3 – тварини з набряком, які отримували досліджуваний екстракт у дозі 25 мг/кг; 4 – тварини з набряком, які отримували препарат порівняння диклофенак натрію (таб. по 50 мг

виробництва «Червона зірка») у його ефективній дозі 8 мг/кг; 5 – тварини з набряком, які отримували препарат порівняння кверцетин у дозі 11 мг/кг (гран. по 2 г виробництва НВЦ «БХФЗ»). Досліджуваний екстракт та препарати порівняння вводили за 1 годину до введення флогогенного агента карагеніну. За розвитком набряку спостерігали в динаміці через 30 хв, 1; 1,5; 2; 4 та 24 години, для чого вимірювали об'єм лап у см^3 за допомогою плетизмометра Panlab V29/10/2014 (Spain). Екстракт вводили внутрішньошлунково в дозах 25 та 50 мг/кг.

Протизапальну активність (ПЗА) оцінювали як здатність зменшувати об'єм набряку ураженої кінцівки, порівнюючи з такою в контрольній патології, за формулою [146]:

$$\text{ПЗА} = \frac{(V_{\text{КП}} - V_{\text{Д}})}{V_{\text{КП}}} * 100, \quad (2.10)$$

де: ПЗА – протизапальна активність, %;

$V_{\text{КП}}$ (см^3) – об'єм стопи у тварин з групи контрольної патології;

$V_{\text{Д}}$ (см^3) – об'єм стопи у тварин з дослідної групи.

Вплив екстракту «Тапацетіл» на розвиток запалення оцінювали також на моделі гістамінового набряку. Тварин було згруповано по 6 щурів: 1 – контрольна патологія (тварини з гістаміновим набряком (ГН) отримували дистильовану воду); 2 – тварини з ГН отримували досліджуваний екстракт у дозі 50 мг/кг; 3 – тварини з ГН отримували препарат порівняння диклофенак натрію у його ефективній дозі 8 мг/кг; 4 – тварини з ГН отримували препарат порівняння кверцетин у дозі 11 мг/кг; 5 – тварини з ГН отримували препарат порівняння лоратадин у дозі 1 мг/кг. Досліджуваний екстракт та препарати порівняння вводили за 1 годину до введення флогогенного агента гістаміну (0,1% розчин в об'ємі 0,1 мл вводили субплантарно в задню стопу щура). За розвитком набряку спостерігали в динаміці через 30 хв, 1 та 1,5 години, для чого вимірювали об'єм лап у см^3 .

Протизапальну активність екстракту оцінювали за здатністю зменшувати об'єм набряку ураженої кінцівки проти показників контрольної патології.

Аналгетичну активність густого ліпофільного екстракту трави маруни дівочої «Танапарт» досліджували на моделі термічного пошкодження кінцівок

«гаряча пластинка» у щурів та на моделі хімічного подразнення «оцтовокислі корчі» у мишей.

Тварин було згруповано: I - щури, які отримували екстракт трави маруни дівочої в дозі 50 мг/кг; II - тварини, яким вводили препарат порівняння диклофенак натрію в дозі 8 мг/кг [146]; III - щури, які отримували препарат порівняння метамізол натрію («Аналгін» таб. 500 мг. «Дарниця») у дозі 8 мг/кг [146]. Екстракт маруни дівочої та препарати порівняння застосовували одноразово внутрішньошлунково через 1 годину після тестування вихідних показників латентного періоду реакції на ноцицептивну стимуляцію та за 1 годину до наступного тестування. Тварин розміщували на нагріту до 54,6 °C металічну пластинку приладу компанії Bioseb «Cold and hot plate CNP». Показником гострої больової чутливості була тривалість перебування тварини (с) на пластинці (латентний період) до появи характерної поведінкової відповіді на ноцицептивне подразнення - облизування лапок. Цей показник реєстрували до введення досліджуваного екстракту та препаратів порівняння і в динаміці через 1, 2 та 3 години після.

Аналгетичну активність густого ліпофільного екстракту маруни дівочої та препаратів порівняння оцінювали за збільшенням часу перебування тварин на гарячій пластинці до появи реакції, порівнюючи з вихідними даними, за формулою [146]:

$$AA = ((T_{п} - T_{вих}) / T_{вих}) \times 100\%, \quad (2.11)$$

де: AA – аналгетична активність, %;

$T_{п}$ – час, проведений твариною на пластинці до появи реакції на ноцицептивну стимуляцію після введення досліджуваної речовини;

$T_{вих}$ – час, проведений твариною на пластинці до появи реакції на ноцицептивну стимуляцію до введення досліджуваної речовини.

Для моделі хімічного подразнення «оцтовокислі корчі» характерний периферичний механізм формування болю [148]. Тварин було об'єднано в групи: I - контрольні миші (отримували дистильовану воду); II - тварини, яким вводили

екстракт маруни дівочої в дозі 50 мг/кг; III – миші, яким вводили препарат порівняння диклофенак натрію в дозі 8 мг/кг. Досліджувані препарати вводили тваринам внутрішньошлунково в лікувально-профілактичному режимі одноразово за 1 годину до відтворення патології. Мишам внутрішньоочеревинно вводили 0,6% розчин оцтової кислоти з розрахунку 0,1 мл на 10 г маси тіла, що призводило до скорочення черевних м'язів, вигинання спини та витягання задніх кінцівок [146].

Кількість характерних «корчів» реєстрували протягом 15 хвилин після введення оцтової кислоти. Аналгетичну активність досліджуваних об'єктів розраховували за формулою [146]:

$$AA = ((C_k - C_d) / C_k) \times 100\%, \quad (2.12)$$

де: AA – аналгетична активність, %;

C_к – середня кількість «корчів» у контрольній групі;

C_д – середня кількість «корчів» у дослідній групі.

Визначення антимікробної активності досліджуваних екстрактів «Танапарт» і «Тапацетіл» проводили методом дифузії в агар на базі Інституту мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова АМН України з консультативною допомогою завідувача лабораторії біохімії та біотехнології, к. біол. н., ст. н. с. Т. П. Осолодченко.

Для дослідження екстрактів було використано еталонні тест-культури грам-позитивних і грам-негативних бактерій, які належать до різних таксономічних груп: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636. Протигрибкову дію зразка досліджено на референтному штамі *Candida albicans* ATCC 885-653. Приготування суспензій мікроорганізмів із визначеною концентрацією мікробних клітин проводили за допомогою стандарту каламутності (0,5 од. за шкалою McFarland). Використовували прилад Densi-La-Meter (виробництва PLIVA-Lachema, Чехія; довжина хвилі 540 нм). Синхронізацію культур проводили за допомогою низької температури (4 °C) [149].

Визначення чутливості штамів мікроорганізмів до антибактеріальних лікарських засобів проводили методом «колодязів» на середовищі Мюллера-Хінтона («HimediaLaboratories Pvt. Ltd India»). Чутливість грибів визначали на середовищі Сабуро-декстрозний агар [149].

2.2.4 Технологічні випробування

Подрібнення всіх досліджуваних зразків ЛРС визначали за ДФУ 2.9.12 «Ситовий аналіз». Середньоподрібнений порошок: не менше 95 % від маси порошку має проходити через сито номер 355 і не більше 40 % від маси порошку – крізь сито номер 180 [134].

Визначення таких технологічних параметрів, як *питома, об'ємна та насипна маси і середній розмір частинок, пористість сировини, порізність шару, вільний об'єм та питома поверхня частинок* проводили за методиками, наведеними в наукових джерелах [150].

Ваги аналітичні Kern ABJ 220-4M, водяна баня HWS 12, мірний посуд. Усі реактиви готували відповідно до вимог ДФУ і використовували свіжоприготованими.

2.2.5 Статистична обробка результатів

Статистичну обробку отриманих результатів проводили відповідно до вимог ДФУ, монографії 5.3 «Статистичний аналіз результатів біологічних випробувань та тестів» і 5.3.N.1 «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту^N» з використанням програми «SPSS Statistics 26.0». Використовували непараметричний критерій Манна–Вітні, для порівняння статистичних показників було прийнято рівень значущості $p < 0,05$. Для побудови структурних формул сполук використовували програмне забезпечення ACD/ChemSketch [134].

Статистичну обробку отриманих фармакологічних результатів проводили за допомогою програми Statistica 6,0 (StatSoft, Inc., США), перевіряли нормальність розподілу з використанням критерію W-Шاپіро-Вілка. Було виявлено, що дані підлягають ненормальному розподілу, тому використовували непараметричний U-критерій Манна-Вітні, результати подавали як медіана та інтерквартильний розмах. Прийнятий рівень значущості $p < 0,05$. Для отримання статистичних висновків використовували стандартний пакет програм «Statistica» [151].

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БАР У ТРАВІ МАРУНИ ДІВОЧОЇ ТА ЇЇ СОРТАХ Phlora Pleno I White Gem

3.1 Порівняльне дослідження якісного складу та кількісного вмісту БАР у траві маруни дівочої та її сортах Phlora Pleno i White Gem

Аналіз наукових джерел засвідчив, що хімічний склад трави маруни дівочої представлений сесквітерпеновими лактонами, фенольними речовинами, ефірною олією, кумаринами (розд. 1). Більшість літературних джерел описують сесквітерпені лактони маруни дівочої, з якими пов'язують фармакологічні ефекти сировини. Дослідження трави маруни дівочої, заготовленої в Україні, раніше не проводили, тому вивчення фітохімічного профілю цього виду є актуальним.

Також з метою розширення сировинної бази перспективним є вивчення сортів маруни дівочої Phlora Pleno та White Gem, що культивують на території України.

3.1.1 Ліпофільні речовини

Ліпофільні комплекси (ЛК) отримували із зразків трави маруни дівочої та її сортів вичерпним екстрагуванням хлороформом в апараті Сокслета, які у подальшому концентрували до 6 г (вологість 8 %). Вихід ЛК розраховували за формулою:

$$X = \frac{(A-B) \times 100}{B}, \quad (3.1)$$

де А – вага приймача з ліпофільною фракцією, г;

Б – вага порожнього приймача, г;

В – наважка зразка сировини, г.

Вихід ліпофільної фракції з трави маруни дівочої склав $5,7 \pm 0,15$ %, з трави маруни сорту Phlora Pleno – $4,1 \pm 0,19$ %, сорту White Gem – $3,9 \pm 0,17$ %.

Ліпофільні фракції із зазначених зразків мали зелену смолисту консистенцію, специфічний запах, добре розчинялися у хлороформі, гексані, 96 % етанолі, були не розчинні у воді очищеній.

Для визначення хлорофілів використовували систему розчинників *хлороформ Р – метанол Р* (9:1). Хроматограму ліпофільних витягів із зразків трави маруни дівочої та її сортів подано на рис. 3.1

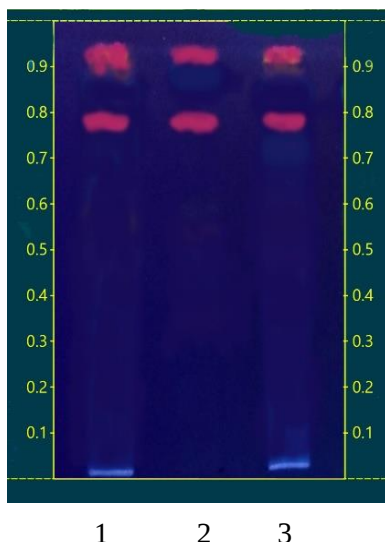


Рис. 3.1 Хроматограма ліпофільних витягів трави маруни дівочої та її сортів:
1 – маруна дівоча, 2 – сорт Phlora Pleno, 3 – сорт White Gem

Проведене дослідження засвідчило, що в зразках трави маруни дівочої та її сортах уперше ідентифіковано по два хлорофіли.

Ідентифікацію каротиноїдів проводили у ліпофільних витяжках із зразків трави маруни дівочої та її сортів у видному світлі. Для визначення каротиноїдів використовували систему розчинників *гексан Р – ефір діетиловий Р – кислота оцтова льодяна Р* (80 : 20 : 0,5).

Отримані результати наведено на рис. 3.2.

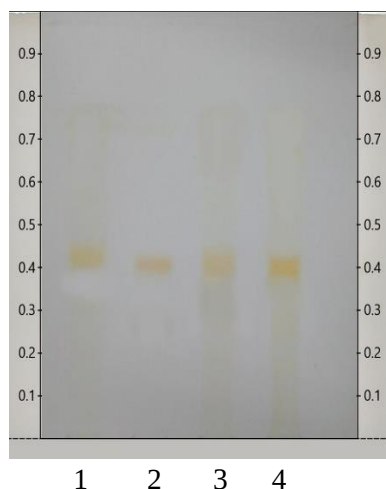


Рис. 3.2 Хроматограма ліпофільних витяжок із зразків трави маруни дівочої та її сортів: 1 – маруна дівоча, 2 – сорт Phlora Pleno, 3 – сорт White Gem, 4 – β -каротин

Уперше підтверджено наявність β -каротину в зразках трави маруни дівочої та досліджуваних сортах за виявленням жовто-помаранчевих зон на хроматографічному профілі з $R_f = 0,43$.

3.1.2 Карбонові кислоти

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту карбонових кислот у зразках трави маруни дівочої, сортах Phlora Pleno та White Gem проводили методом газорідинної хроматографії з використанням мас-детектора (розд. 2). У досліджуваних зразках виявлено та ідентифіковано 35 карбонових кислот. 9 кислот віднесено до низькомолекулярних аліфатичних кислот, 17 до жирних та 9 до ароматичних. Загальний вміст карбонових кислот у траві маруни дівочої склав 26540,13 мг/кг, у сортах Phlora Pleno та White Gem – 22960,52 мг/кг і 24312,51 мг/кг відповідно.

Порівняльний аналіз якісного складу та кількісного вмісту карбонових кислот у траві маруни дівочої та її сортах подано в табл. 3.1

Таблиця 3.1

Вивчення карбонових кислот трави маруни дівочої та сортів

Phlora Pleno і White Gem

Кислота	Час утримання, хв	Вміст у траві, мг/кг		
		Маруни дівочої	Сорту Phlora Pleno	Сорту White Gem
1	2	3	4	5
Низькомолекулярні аліфатичні кислоти				
Щавлева	9.44	1531,77 ± 38,29	1533,77 ± 38,34	3293,56 ± 82,34
Малонова	11.99	472,46 ± 11,81	989,76 ± 25,73	2368,22 ± 63,94
Фумарова	12.47	289,34 ±7,23	236,97 ± 8,29	165,15 ± 4,13
Левулінова	13.46	4344,13 ± 108,60	352,64 ± 12,34	1725,00 ± 43,12
Бурштинова	14.23	4889,45 ± 122,24	871,35 ± 21,78	1412,29 ± 35,31
Яблучна	21.94	931,81 ± 23,29	1087,30 ± 27,18	1367,10 ± 34,18
2-Гідрокси-3- метилглутарова	21.19	79,75 ± 1,99	27,15 ± 0,89	47,24 ± 1,32
Азелаїнова	25.50	261,63 ± 6,54	167,16 ± 4,18	153,98 ± 3,85
Лимонна	28.87	2734,22 ± 73,82	3645,67 ± 98,43	7103,71 ± 184,69
Жирні кислоти				
Капронова	4.43	50,99 ± 1,27	46,04 ± 1,61	57,34 ± 2,01
Лауринова	19.91	297,38 ± 7,73	12,51 ± 0,35	95,10 ± 3,33
Міристинова	22.61	600,38 ± 15,01	211,73 ± 5,29	619,20 ± 15,48
Пентадеканова	24.82	170,18 ± 4,59	102,93 ± 3,60	157,85 ± 3,94
Пальмітинова	26.25	2154,42 ± 53,86	2239,84 ± 55,99	1131,49 ± 28,29
Пальмітоолеїнова	27.06	342,06 ± 8,55	127,08 ± 3,68	85,54 ± 2,99

Продовж. табл. 3.1

1	2	3	4	5
Гептадеканова	28.14	62,31 ± 1,56	104,66 ± 2,61	32,96 ± 0,82
Стеаринова	29.60	255,12 ± 6,63	538,57 ± 13,46	203,21 ± 5,08
Олеїнова	29.86	486,76 ± 12,17	2385,11 ± 59,63	320,62 ± 8,01
Лінолева	30.61	1704,98 ± 42,62	4016,36 ± 104,42	778,19 ± 19,45
Ліноленова	31.65	1074,10 ± 29,00	1758,27 ± 43,96	445,55 ± 11,14
2-Гідроксипальмітинова	32.82	137,85 ± 3,45	150,56 ± 3,76	81,83 ± 2,05
Арахінова	32.98	256,87 ± 6,42	304,63 ± 7,62	104,01 ± 2,60
Хенейкозанова	34.64	56,60 ± 1,42	57,12 ± 1,43	43,58 ± 1,09
Бегенова	35.84	230,10 ± 5,75	286,59 ± 7,16	107,37 ± 2,68
Трикозанова	36.73	213,71 ± 5,34	93,18 ± 2,32	334,48 ± 8,36
Тетракозанова	38.50	272,84 ± 7,09	339,93 ± 8,49	228,39 ± 5,71
Ароматичні кислоти				
Бензойна	16.57	502,42 ± 12,56	225,90 ± 6,09	223,78 ± 6,26
Фенілоцтова	17.57	159,37 ± 3,98	14,45 ± 0,51	130,98 ± 3,27
Саліцилова	18.19	298,45 ± 7,46	8,89 ± 0,29	136,12 ± 3,40
Ванілінова	32.08	300,60 ± 8,42	261,45 ± 6,54	209,41 ± 5,23
<i>n</i> -Кумарова	33.83	637,10 ± 15,93	301,37 ± 7,53	218,82 ± 5,47
<i>n</i> -Гідроксибензойна	37.30	148,83 ± 3,72	82,09 ± 2,05	249,52 ± 6,24

Продовж. табл. 3.1

1	2	3	4	5
Бузкова	37.36	125,72 ± 3,14	163,20 ± 4,08	154,14 ± 3,85
Гентизинова	37.89	93,90 ± 2,35	125,77 ± 3,14	261,77 ± 6,54
Ферулова	39.92	372,53 ± 9,31	90,52 ± 2,26	265,01 ± 6,62
Загальний ідентифікованих кислот	вміст карбонових	26540,13	22960,52	24312,51

Серед ідентифікованих сполук у досліджуваних зразках вміст насичених кислот був найбільшим у траві сорту White Gem і склав 80,7 % (від суми кислот), дещо менший у траві маруни дівочої – 77,3 % та сорту Phlora Pleno – 57,3 %. У всіх зразках з-поміж насичених кислот переважали одноосновні – 46,9 % (від суми кислот), вміст двоосновних кислот був у 1,2-1,4 раза меншим, триосновні кислоти представлені лише лимонною кислотою. Лимонна кислота, що має виражену антимікробну дію, у найбільшій кількості містилась у траві сорту White Gem і склала 7103,71 мг/кг (29,2 % від усіх ідентифікованих сполук), що у 2-2,5 рази більше, ніж у траві маруни дівочої (2734,22 мг/кг) та сорту Phlora Pleno (3645,67 мг/кг).

Найбільший вміст ненасичених кислот спостерігали в траві маруни сорту Phlora Pleno – 37,1 % (від суми кислот), що є вагомою перевагою, а в траві маруни дівочої та сорту White Gem він був майже у 3,4 раза менший і варіював від 11,7 до 14,7 %.

Серед визначених карбонових кислот у всіх зразках у домінантних кількостях накопичувались бурштинова, левулінова, лимонна, пальмітинова, лінолева та ліноленова кислоти. Значний вміст бурштинової кислоти спостерігали в досліджених зразках – 3,8 – 18 % (від суми кислот). Найбільший вміст цієї сполуки був у траві маруни дівочої – 4889,45 мг/кг, у траві сорту White Gem у 3,5 рази менший, Phlora Pleno – у 5,7 раза менший.

Трава маруни дівочої містила 2638,9 мг/кг ароматичних кислот (0,26 % від загальної кількості кислот), а її сорти удвічі менше – 1273,6 та 1849,6 мг/кг. Домінантними сполуками серед ароматичних кислот у траві маруни дівочої були *n*-кумарова та бензойна, у Phlora Pleno – *n*-кумарова та ванілінова, у White Gem – ферулова, гентизинова та *n*-гідроксибензойна. У траві маруни дівочої вміст саліцилової кислоти, яка має виражену антимікробну дію, склав 298,45 мг/кг, що у 33 рази більше, а ніж у траві сорту Phlora Pleno, та у 2,2 рази більше, ніж у траві сорту White Gem.

Отримані результати свідчать про значні переваги кількісного вмісту карбонових кислот вітчизняної сировини проти закордонної [43].

3.1.3 Ефірні олії

Першим етапом дослідження летких сполук було визначення вмісту ефірної олії у 7 вітчизняних зразках трави маруни дівочої та сортах Phlora Pleno і White Gem. Результати дослідження наведено в табл. 3.2

Таблиця 3.2

Кількісний вміст ефірної олії у траві маруни дівочої та сортах Phlora Pleno і White Gem

Об'єкт дослідження	Зразок	Вміст ефірної олії, %
Маруна дівоча	RS 864	0,63 ± 0,03
	RS 865	0,59 ± 0,01
	RS 866	0,48 ± 0,02
	RS 867	1,06 ± 0,02
	RS 868	0,74 ± 0,03
	RS 869	0,39 ± 0,02
	RS 870	0,46 ± 0,03
Сорт White Gem		1,24 ± 0,04
Сорт Phlora Pleno		1,33 ± 0,03

За отриманими результатами, вміст ефірної олії варіював від 0,39 до 1,06 %.

Для вивчення компонентного складу ефірної олії маруни дівочої досліджували зразок RS 867, що мав найбільший вміст ефірної олії. Застосовували

газорідинну хроматографію з використанням мас-детектора. Результати дослідження наведено в табл. 3.3

Таблиця 3.3

Компонентний склад ефірної олії трави маруни дівочої та сортів Phlora Pleno і White Gem

Речовина	Час утрим., хв	Кількісний вміст компонентів ефірної олії, мг/кг		
		Маруни дівочої	Сорту Phlora Pleno	Сорту White Gem
1	2	3	4	5
Трициклен	4.89	1,62	1,01	1,35
α -Пінен	5.08	0,91	1,22	5,83
Камфен	5.39	19,62	9,48	14,88
β -Пінен	6.13	1,61	0,71	2,64
p-Цимен	7.39	12,53	1,70	3,58
γ -Терпінен	8.49	5,02	-	-
Камфора	11.91	477,24	552,80	1839,14
Пінен-3-он	11.96	3,29	7,46	25,59
Не ідентифіковано	12.02	2,60	-	-
Борнеол	12.13	7,51	108,18	42,95
Терпен-4-ол	12.40	11,37	61,15	81,46
Ізоборнеол	12.65	31,52	-	33,67
p-Кумен-8-ол	13.45	4,88	15,77	-
Терпінеол	13.59	6,54	12,63	-
Транс-хризантенілацетат	14.82	320,43	439,37	1083,50
Фенхілацетат	15.86	102,29	139,84	39,86
Тимол	16.04	6,06	17,79	11,36
Карвакрол	16.31	5,51	5,52	-
Не ідентифіковано	17.25	11,18	-	-
Евгенол	17.75	16,71	33,97	33,24
Не ідентифіковано	17.89	4,60	24,83	-
Мууролен	18.39	6,23	-	20,83
Метил евгенол	19.00	4,16	10,48	12,40
Транс-каріофілен	19.96	32,41	38,17	43,56
Гумелен	20.89	4,13	7,09	11,47
β -Фарнезен	21.19	24,49	32,05	15,62
Гермакрен D	21.69	14,48	22,06	42,32
β -Селінен	21.86	10,80	8,68	31,30
Лімонен-6-ол півалат	22.43	8,02	43,28	-

Продовж. табл. 3.3

1	2	3	4	5
Ізоборніл 3-метилбутаноат	22.66	14,13	82,50	45,20
δ-Кадинен	22.94	2,90	-	-
Борніл пентаноат	23.98	32,23	184,47	43,66
Не ідентифіковано	24.13	12,17	36,61	122,41
Каріофіленоксид	24.56	74,52	162,48	219,75
Глобулол	25.39	25,44	46,10	29,97
Епіглобулол	26.49	25,38	-	-
Фітол	34.02	9,37	24,11	35,60
Трикозан	36.09	2,99	4,92	8,29
Тетракозан	36.83	0,66	1,76	9,49
Пентакозан	37.12	1,31	4,04	17,41
Гексакозан	38.14	6,69	11,59	11,65
Гептакозан	39.99	1,76	6,46	28,36
Сквален	40.98	6,13	25,15	411,31
Нонакозан	41.73	1,58	9,38	10,99
Загальний вміст компонентів ефірної олії		1375,02	2194,81	4390,64

Примітка. (-) – не виявлено.

Компонентний склад ефірної олії трави маруни дівочої представлений 44 речовинами, з яких ідентифіковано 40, сорту Phlora Pleno – 37 сполуками, з яких ідентифіковано 35; сорту White Gem – 34 сполуками, з яких ідентифіковано 32. З цим 32 речовини виявлено у всіх досліджуваних об'єктах. Переважна більшість компонентів ефірної олії представлена кетонами, спиртами, ефірами та ненасиченими вуглеводнями. За відсотковим вмістом від загальної суми сполук у всіх проаналізованих зразках переважали біциклічні монотерпеноїди.

Найбільшу кількість компонентів ефірної олії виявлено в траві маруни дівочої сорту White Gem (4390,64 мг/кг), у 2 рази менше в траві сорту Phlora Pleno (2194,81 мг/кг) і у 3,2 рази менше в траві маруни дівочої (1375,02 мг/кг).

Серед терпеноїдів домінантними сполуками були: камфора, *транс*-хризантілацетат, фенхілацетат. Вміст камфори, сполуки, яка зумовлює запах сировини та високу антимікробну активність, варіював від 477,24 до 1839,14 мг/кг,

проте найбільший вміст спостерігали в траві сорту White Gem – 1839,14 мг/кг. У проаналізованих зразках ідентифіковано *транс*-хризантенілацетат – речовину, типову для представників роду *Tanacetum*. Вміст цієї сполуки виявлено в більшій кількості в ефірній олії White Gem – 1083,50 мг/кг.

Уперше в ефірній олії маруни дівочої та її сортах ідентифіковано фенхілацетат. У ефірній олії маруни дівочої та сорту Phlora Pleno ця речовина містилась у більшій кількості (102,29 мг/кг і 139,84 мг/кг відповідно).

Біциклічні сполуки домінували за кількісним вмістом серед сесквітерпенів. У значній кількості накопичувались каріофіленоксид і *транс*-каріофілен. Вміст каріофіленоксиду був більшим у сортах White Gem (219,75 мг/кг) та Phlora Pleno (162,48 мг/кг), ніж у траві маруни дівочої (74,52 мг/кг). Вміст *транс*-каріофілену в зразках коливався в межах від 32,41 до 43,56 мг/кг.

Уперше у виді та сортах маруни дівочої ідентифіковано дитерпен фітол, тритерпен сквален та насичені алкани. γ -Терпінен, δ -Кадинен та епіглобулол виявлено тільки в траві маруни дівочої. Сорт White Gem відрізнявся від інших значним вмістом сквалену (411,31 мг/кг), який має протипухлинну активність.

Серед ароматичних терпеноїдів у найбільшій кількості містились евгенол та *p*-цимен. В ефірній олії сортів White Gem та Phlora Pleno вміст евгенолу був майже на одному рівні (33,24 – 33,97 мг/кг), а в зразку маруни дівочої у 2 рази менший (16,71 мг/кг). Вміст *p*-цимену значно перевищував у ефірній олії маруни дівочої (12,53 мг/кг), ніж у ефірній олії сортів White Gem та Phlora Pleno (від 1,70 до 3,58 мг/кг відповідно).

3.1.4 Сполуки фенольної природи

Аналіз літературних джерел свідчить, що в траві маруни дівочої фенольні сполуки представлені флавоноїдами та гідроксикоричними кислотами [48, 49, 51, 52].

Ідентифікацію фенольних сполук проводили методом ТШХ за методикою ДФУ (розд. 2). Дослідження проводили на 7 зразках трави маруни дівочої та сортах White Gem і Phlora Pleno. Результати аналізу подано на рис 3.3.

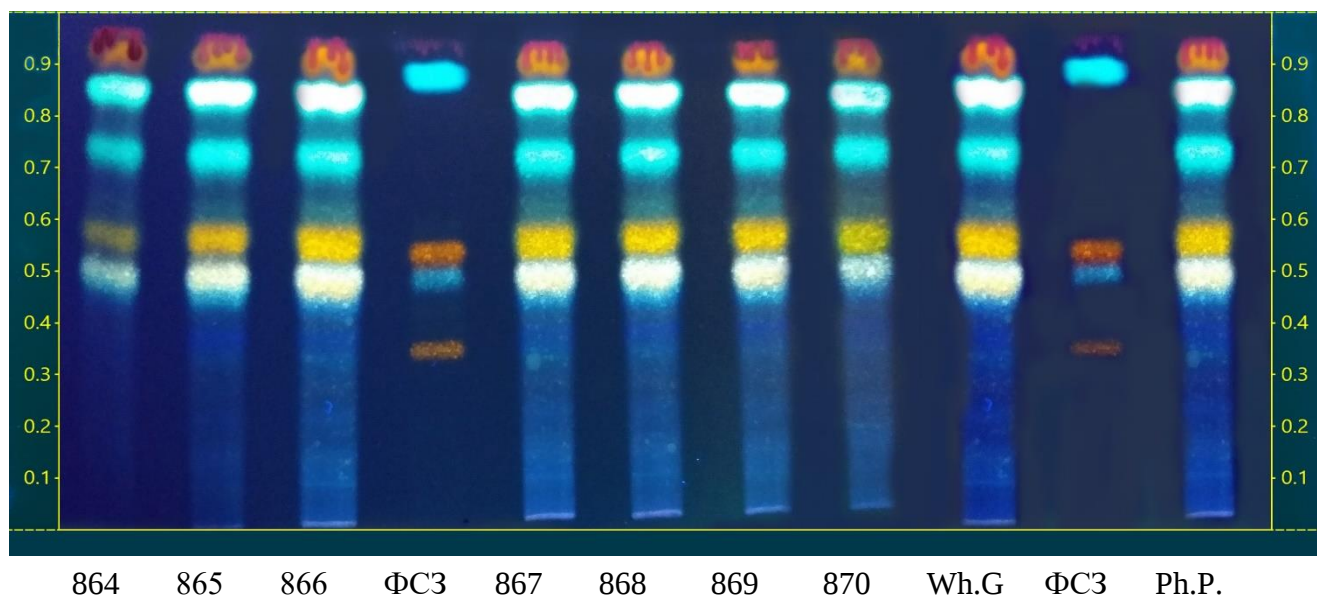


Рис. 3.3 Хроматограма випробовуваних розчинів трави маруни дівочої (RS 864-870), сортів White Gem і Phlora Pleno та ФСЗ ДФУ: рутин ($R_f = 0,35$), хлорогенова кислота ($R_f = 0,45$), гіперозид ($R_f = 0,55$), кофейна кислота ($R_f = 0,87$)

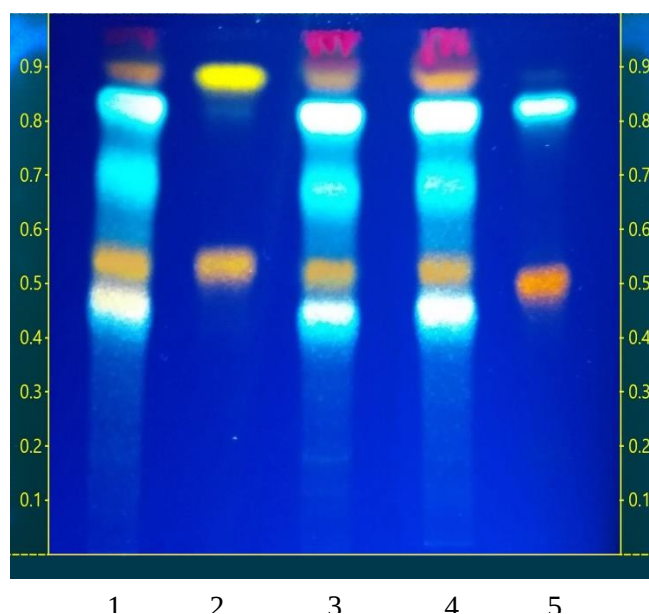


Рис 3.4. Хроматограма випробовуваних розчинів трави маруни дівочої (1), сортів White Gem (3) і Phlora Pleno (4) та розчинів ФСЗ ДФУ (2, 5) (лютеолін $R_f = 0,9$, лютеолін-7-глюкозид $R_f = 0,55$, гіперозид $R_f = 0,52$, кофейна кислота $R_f = 0,82$)

Як видно з хроматограм, усі серії трави маруни дівочої та її сортів містили хлорогенову і кофейну кислоти, лютеолін, лютеолін-7-глюкозид.

У результаті аналізу хроматографічних профілей, отриманих із зразків сировини маруни дівочої та її сортів, виявлено 7 сполук фенольної природи, з яких ідентифіковано 5: хлорогенова і кофейна кислоти, лютеолін, лютеолін-7-глюкозид, сантин. Інтенсивність забарвлення зон ідентифікованих сполук була приблизно однакова.

3.1.4.1 Розробка методики ідентифікації сировини маруни дівочої за наявністю сантину методом ТШХ

За літературними даними, трава маруни дівочої містить у своєму складі флавоноїд сантин, який є специфічним для цього виду [40]. Оскільки головний маркер виду – партенолід, також виявлено у квітках пижма звичайного (*Tanacetum vulgare* L.) та ромашки лікарської (*Matricaria recutita* (L.) Rausch.) [40], підтвердження наявності сантину в траві маруни дівочої можна запропонувати як додатковий маркер для визначення тотожності цієї сировини. Для ідентифікації сантину розроблено власну методику.

Методика 1. Готували випробовуваний розчин трави маруни дівочої в концентрації 0,25 г/мл. 0,5 г свіжоподрібненої на порошок (355) сировини поміщали в круглодонну колбу на 25 мл, додавали 10 мл метанолу *P*, після чого нагрівали протягом 15 хв на водяній бані зі зворотним холодильником за температури 60 °С, охолоджували та фільтрували крізь паперовий фільтр «синя стрічка», упарювали та розчиняли залишок у 2 мл метанолу *P*. Як розчин порівняння використовували 1,5 мг/мл метанольного розчину стандартного зразка сантину (Santin TLC) фірми «PlantMetaChem» (серія D-35394). Хроматографування проводили з використанням пластинок «Merck Silica gel F₂₅₄».

На хроматографічну пластинку наносили випробовуваний розчин аліквотою 10 мкл та розчин порівняння аліквотою 20 мкл. Досліджувані зразки наносили

смугами по 1,0 см. Після чого пластинку занурювали в насичену хроматографічну камеру з рухомою фазою (№ 1) *хлороформ R – метанол R – оцтова кислота R* (81,6 : 16,4 : 2). Після елюювання пластинку сушили на повітрі, обприскували розчином *аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти R* та *макроголу R*, нагрівали в сушильній шафі протягом 5-10 хв за температури 105 °С.

Виявлення зон на хроматограмі проводили без обприскування за довжини хвилі 254 нм (1), а також після обприскування за денного світла (2) та за довжини хвилі 365 нм (3). Результати наведено на рис. 3.5.

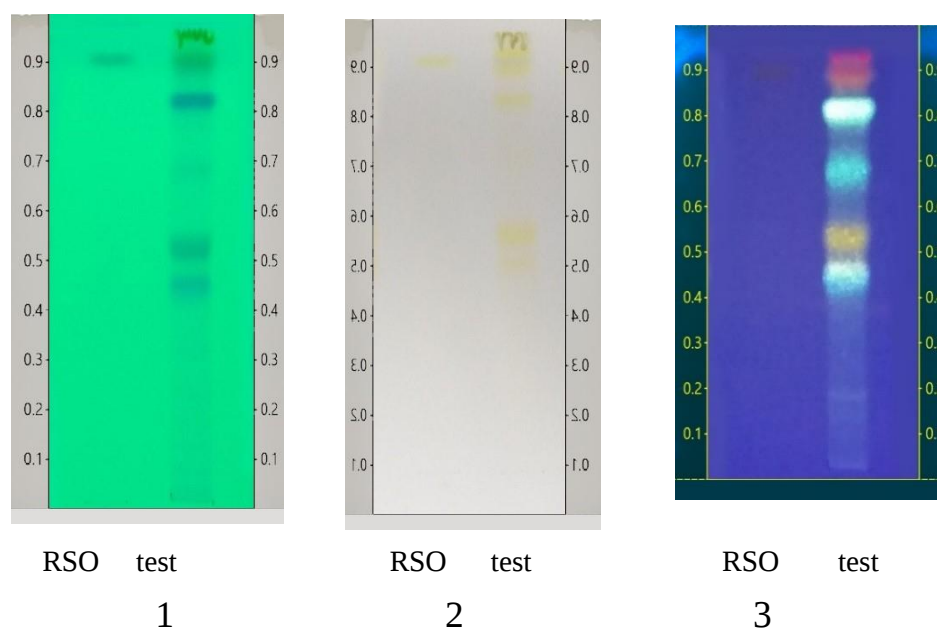


Рис. 3.5 Хроматограми метанольних витягів трави маруни дівочої (test) та стандартного зразка сантину – $R_f = 0,91$ (RSO) без обприскування за довжини хвилі 254 нм (1), після обприскування: за денного світла (2), за довжини хвилі 365 нм (3)

За результатами хроматографічного аналізу, сантин, на відміну від зони розчину стандартного зразка сантину, виявляється у вигляді сірувато-фіолетових зон в умовах без обприскування за довжини хвилі 254 нм. Після обробки хроматограм розчином проявника проти зони розчину стандартного зразка сантину випробовувані розчини за денного світла мають слабко-жовтий колір, а за довжини хвилі 365 нм не виявляються зовсім. Отже, вирішено виявляти сантин без

обприскування за довжини хвилі 254 нм, проте змінити аліквоту стандартного зразка сантину, фазу для кращого розділення та виходу цієї сполуки.

Методика 2. Випробовуваний розчин готували аналогічно методики 1. На хроматографічну пластинку наносили випробовуваний розчин аліквотою 10 мкл та розчин порівняння аліквотою 10 мкл. Досліджувані зразки наносили смугами по 1,0 см. Після чого пластинку занурювали в насичену хроматографічну камеру з рухомою фазою (№ 2) *хлороформ R – метанол R – оцтова кислота R* (98,4 : 0,8 : 0,8). Після елюювання пластинку сушили на повітрі, виявлення проводили за довжини хвилі 254 нм (рис. 3.6).

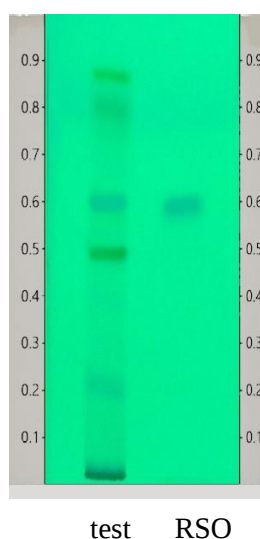


Рис. 3.6 Хроматограма метанольного витягу трави маруни дівочої (test) та стандартного зразка сантину – $R_f = 0,61$ (RSO) за довжини хвилі 254 нм

Як видно з наведеної хроматографи, санин ідентифікується у вигляді чітких сірувато-фіолетових зон, що свідчить про перевагу цієї методики над попередньою.

На наступному етапі досліджували зразки трави маруни дівочої, заготовлені в 7 областях України, та зразки трави маруни дівочої сортів Phlora Pleno та White Gem на наявність сантину (рис. 3.7). Приготування досліджуваних розчинів та розчину порівняння відбувалося за вищеписаною методикою. Випробовувані розчини наносили в аліквоті 10 мкл.

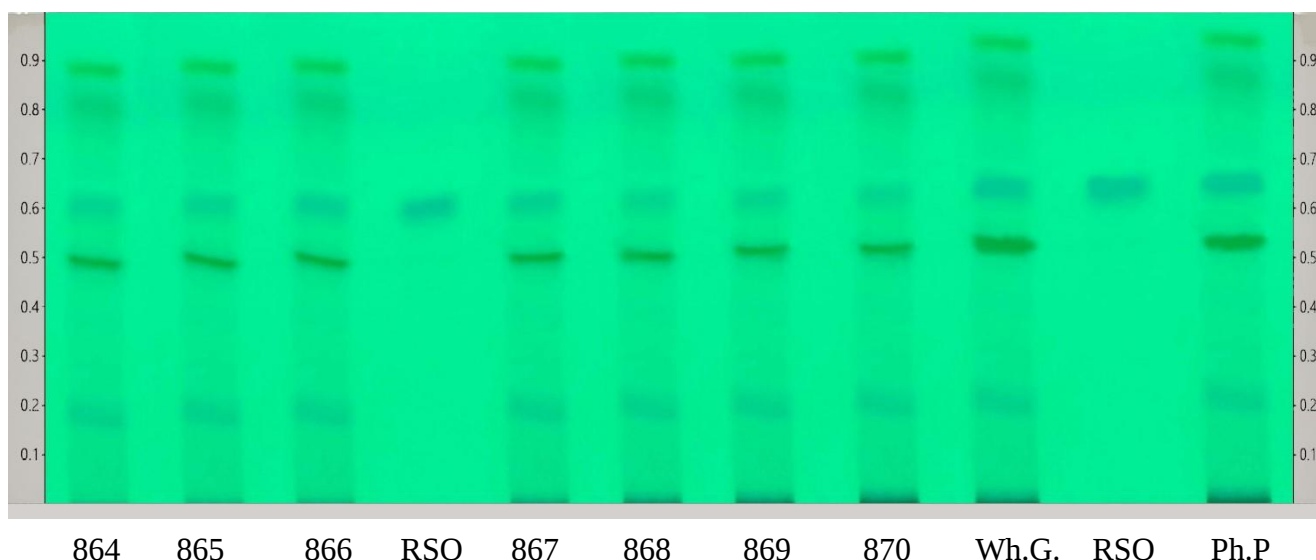


Рис. 3.7 Хроматограма випробовуваних розчинів трави маруни дівочої (RS 864-870), сортів White Gem і Phlora Pleno та стандартного зразка сантину – $R_f = 0,61$ (RSO)

Як видно з хроматограми, усі серії трави маруни дівочої та її сорти містять санин. Досліджувана речовина чітко ідентифікується у вигляді сірувато-фіолетових зон, що є підставою стверджувати про працездатність цієї методики.

3.1.4.2. Кількісне визначення суми гідроксикоричних кислот

У подальшому вивчено кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот за двома методиками ДФУ монографій «Нирковий чай» та «Кропиви листя» [127]. За результатами апробації методики, описаної у монографії «Нирковий чай», максимум поглинання досліджуваного розчину трави маруни дівочої не відповідав максимуму поглинання розмаринової кислоти, отже, ця методика не придатна для досліджуваної сировини. Вміст суми гідроксикоричних кислот відповідно до цієї методики в перерахунку на розмаринову кислоту склав $2,67 \pm 0,02$ %. Використовуючи методику монографії «Кропиви листя», змінили приготування вихідного розчину (розд. 2). Максимум поглинання досліджуваного розчину відповідав максимуму поглинання хлорогенової кислоти. Вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту склав $4,54 \pm 0,01$.

На рис. 3.11 та 3.12 наведено типові спектри поглинання досліджуваних розчинів трави маруни дівочої та її сортів.

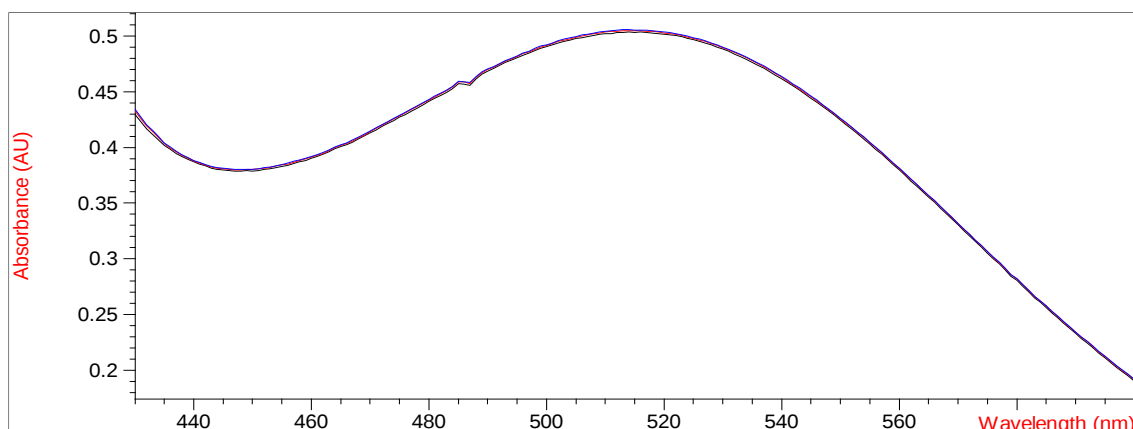


Рис. 3.11 Типовий спектр поглинання випробовуваного розчину зразків трави маруни дівочої та її сортів при визначенні суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на розмаринову кислоту

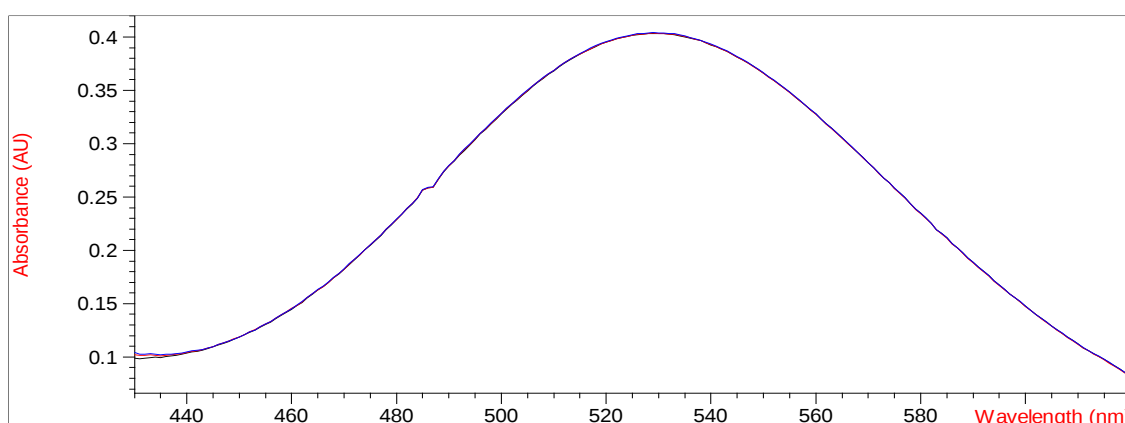


Рис. 3.12 Типовий спектр поглинання випробовуваного розчину зразків трави маруни дівочої та її сортів при визначенні суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту

Отже, для подальшого дослідження серій трави маруни дівочої та її сортів використовували модифіковану методику «Кропиви листя». Результати кількісного вмісту суми гідроксикоричних кислот подано в табл. 3.5.

Таблиця 3.5

Вміст суми гідроксикоричних кислот у серіях трави маруни дівочої та її сортах

Зразки	Вміст, %
RS 864	$3,34 \pm 0,01$
RS 865	$3,56 \pm 0,02$
RS 866	$5,10 \pm 0,07$
RS 867	$4,64 \pm 0,03$
RS 868	$4,54 \pm 0,01$
RS 869	$6,47 \pm 0,03$
RS 870	$4,46 \pm 0,02$
Сорт White Gem	$4,38 \pm 0,03$
Сорт Phlora Pleno	$5,08 \pm 0,02$

Примітка. n = 5.

У результаті проведеного дослідження зразків трави маруни дівочої, заготовленої у різних областях, було з'ясовано, що вміст суми гідроксикоричних кислот варіював від 3,34 % до 6,47 %, що перевищувало вміст суми флавоноїдів у 2 рази. Найбільший вміст суми гідроксикоричних кислот виявлено в зразку із Полтавської області – $6,47 \pm 0,04$ %, у 1,3 раза менше в зразку із Сумської області. Майже в однакових кількостях гідроксикоричні кислоти накопичувались у зразках зі східних регіонів – $4,54 \pm 0,01$ % та $4,64 \pm 0,03$ % (Харківська та Дніпропетровська області відповідно). У зразках із Черкаської та Житомирської областей вміст суми гідроксикоричних кислот був найменший.

У сортах маруни дівочої вміст суми гідроксикоричних кислот також був значним і склав $5,08 \pm 0,02$ % у сорті Phlora Pleno і $4,38 \pm 0,03$ % у сорті White Gem.

3.1.4.3. Кількісне визначення суми флавоноїдів

На наступному етапі визначали кількісний вміст суми флавоноїдів. Для цього використовували три уніфіковані фармакопейні методики, наведені у монографіях ДФУ «Пижма квітки», «Глоду листя та квітки N» та «Берези бруньки» [127]. На рис. 3.8, 3.9 та 3.10 подано типові спектри поглинання досліджуваних розчинів трави маруни дівочої та її сортів.

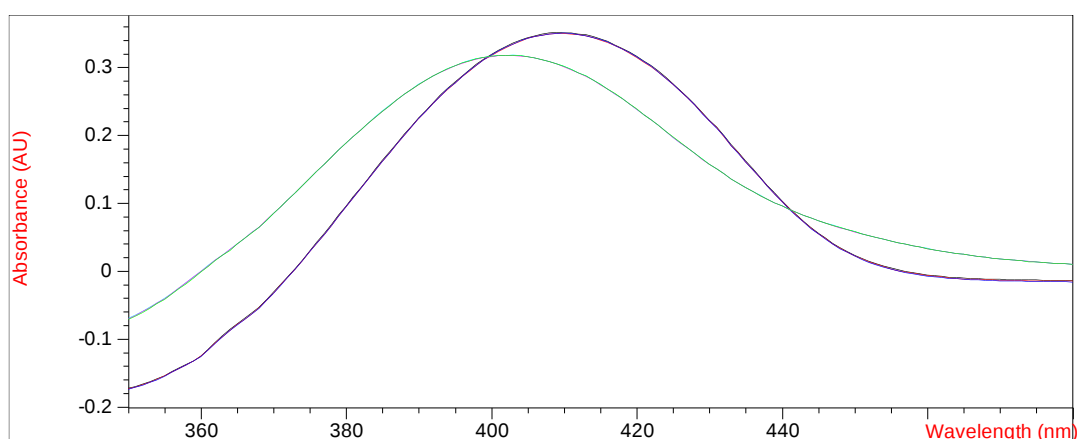


Рис. 3.8 Типовий спектр поглинання випробовуваного розчину зразків трави маруни дівочої при визначенні суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін

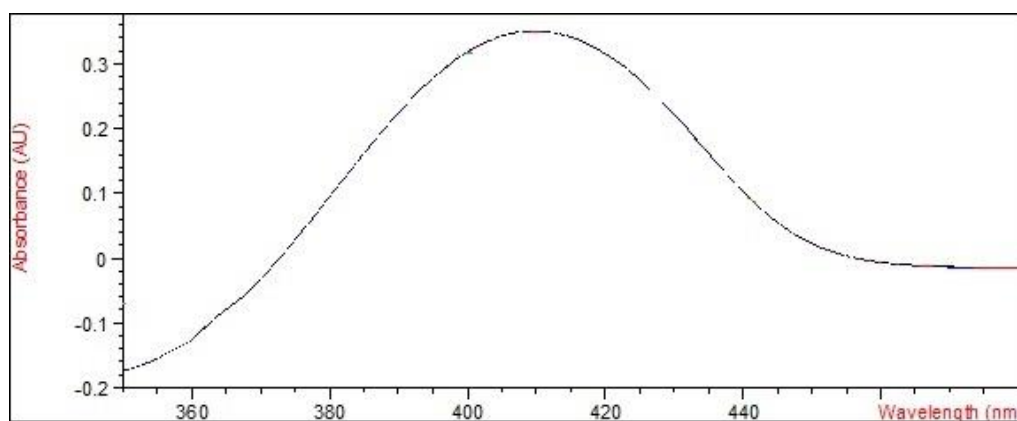


Рис. 3.9 Типовий спектр поглинання випробовуваного розчину зразків трави маруни дівочої та її сортів при визначенні суми флавоноїдів у перерахунку на гіперозид

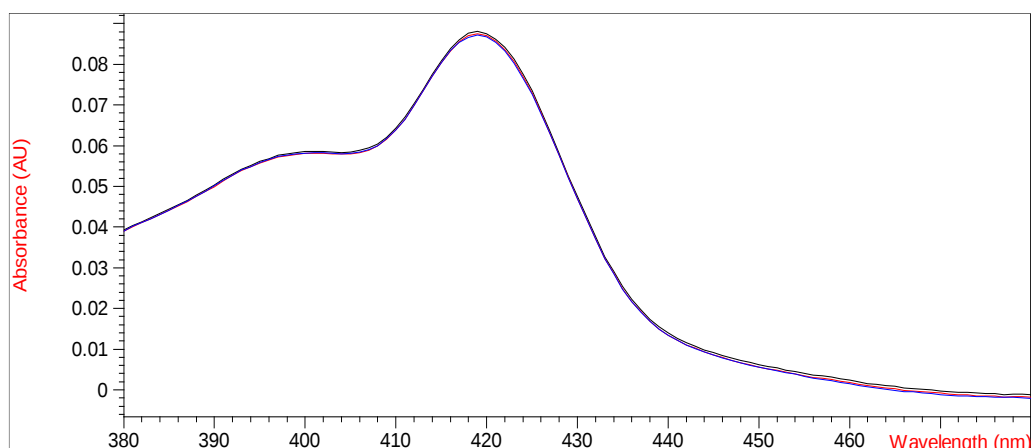


Рис. 3.10 Типовий спектр поглинання випробовуваного розчину зразків трави маруни дівочої під час визначення суми флавоноїдів після взаємодії з алюміній хлоридом

За результатами апробації методики «Пижма квітки», максимум поглинання досліджуваного розчину трави маруни дівочої не відповідав максимуму поглинання лютеоліну. Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін склав $1,28 \pm 0,01$ %. За використання методики «Глоду листя та квітки N» максимум поглинання досліджуваного розчину трави маруни дівочої відповідав необхідній довжині хвилі 410 нм. У результаті апробації цієї методики вміст суми флавоноїдів у перерахунку на гіперозид склав $1,58 \pm 0,03$ %. За результатами апробації методики «Берези бруньки» вміст суми флавоноїдів склав $0,17 \pm 0,02$ %. Значна відмінність у результатах визначення кількісного вмісту пояснюється тим, що в траві маруни дівочої накопичуються переважно флавони, які мають слабкі комплексоутворювальні властивості з алюміній хлоридом.

Отже, для подальшого дослідження серій трави маруни дівочої та її сортів обрано методику «Глоду листя та квітки N».

Результати кількісного визначення вмісту суми флавоноїдів серій трави маруни дівочої та її сортів подано в табл 3.4.

Таблиця 3.4

Вміст суми флавоноїдів у серіях трави маруни дівочої та її сортах (n =5)

Серії сировини	Вміст, %
RS 864	$0,79 \pm 0,04$
RS 865	$0,87 \pm 0,02$
RS 866	$1,92 \pm 0,03$
RS 867	$1,84 \pm 0,02$
RS 868	$1,58 \pm 0,03$
RS 869	$1,87 \pm 0,03$
RS 870	$2,65 \pm 0,03$
Сорт White Gem	$3,03 \pm 0,02$
Сорт Phlora Pleno	$1,92 \pm 0,01$

У результаті проведеного аналізу в зразках трави маруни дівочої, заготовленої у різних областях, виявлено, що вміст суми флавоноїдів варіював від 0,79 % до 2,65 % у перерахунку на гіперозид. Найбільша кількість флавоноїдів містилась у зразку з Київської області – $2,65 \pm 0,04$ %. У зразку з Сумської області вміст суми флавоноїдів був у 1,4 раза меншим і склав $1,92 \pm 0,03$ %. Практично однаковий вміст спостерігали в зразках, заготовлених у Полтавській та Дніпропетровській областях ($1,87 \pm 0,03$ % та $1,84 \pm 0,02$ % відповідно). Найменший вміст суми флавоноїдів визначено в досліджуваних зразках із Черкаської та Житомирської областей ($0,87 \pm 0,03$ % та $0,79 \pm 0,05$ % відповідно).

Вміст суми флавоноїдів був вищим у траві сортів. Сорт White Gem відрізнявся найбільшим вмістом суми флавоноїдів ($3,03 \pm 0,02$ %). Цей показник у 1,6 раза більший, ніж у сорті Phlora Pleno ($1,92 \pm 0,01$ %).

3.1.4.4. Дослідження фенольних сполук методом ВЕРХ

Додатково визначення якісного складу та кількісного вмісту сполук фенольної природи проводили методом вискоєфективної рідинної хроматографії. У серіях трави маруни дівочої (RS 864-870) та її сортів ідентифіковано 11 сполук. Результати наведено в табл. 3.6.

Таблиця 3.6

Фенольні сполуки трави маруни дівочої та сортів White Gem і Phlora Pleno

Сполуки	Вміст, мкг/г*								
	Серії трави маруни дівочої							Сорти	
	864	865	866	867	868	869	870	White Gem	Phlora Pleno
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Апігенін	140,45 ± 1,90	76,71 ± 0,49	136,88 ± 1,68	162,33 ± 0,83	160,76 ± 0,67	69,16 ± 3,92	286,87 ± 1,83	508,51 ± 2,61	226,30 ± 6,29
Кверцетин	48,23 ± 0,44	46,50 ± 0,32	47,90 ± 0,28	44,89 ± 0,15	46,87 ± 0,24	58,22 ± 0,26	44,24 ± 0,29	56,73 ± 6,01	<LoQ
Хлорогенова кислота	2681,04 ± 24,12	3511,85 ± 31,10	6993,44 ± 86,57	5186,79 ± 45,21	4225,90 ± 21,25	6149,99 ± 16,97	4144,12 ± 2,59	6824,19 ± 26,84	8356,26 ± 65,14
Сантин	488,24 ± 4,03	317,56 ± 3,68	535,89 ± 6,66	468,15 ± 2,12	382,65 ± 1,35	581,96 ± 2,43	<LoQ	799,40 ± 3,71	1250,91 ± 1,09
4-О-кофеїлхінна кислота	115,91 ± 0,68	129,33 ± 0,86	174,24 ± 2,06	176,49 ± 1,59	134,89 ± 2,94	168,70 ± 0,38	209,49 ± 3,28	<LoQ	<LoQ
3,4-дикофеїлхінна кислота	1907,42 ± 31,43	2001,53 ± 43,08	2888,31 ± 42,31	3089,87 ± 18,11	2225,71 ± 33,05	2436,97 ± 39,89	3873,51 ± 23,55	554,00 ± 4,74	1032,03 ± 5,40
3,5-дикофеїлхінна кислота	5402,57 ± 45,70	6077,21 ± 52,49	10159,95 ± 109,96	9423,89 ± 61,76	6853,07 ± 41,35	10799,61 ± 26,15	11276,17 ± 16,74	9590,91 ± 22,75	8898,77 ± 14,74

Продовж. табл. 3.6

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
4,5- дикофеїлінна кислота	559,63 ± 4,82	459,90 ± 3,36	650,53 ± 6,03	891,59 ± 4,36	447,42 ± 5,47	715,16 ± 1,56	1324,93 ± 6,85	3355,80 ± 13,65	2839,45 ± 8,51
Неохлорогенова кислота	234,15 ± 1,94	256,80 ± 1,77	451,24 ± 5,94	359,96 ± 2,74	286,20 ± 0,79	445,28 ± 0,72	345,74 ± 1,08	338,32 ± 1,44	305,52 ± 2,15
Кемпферол-3- рутинозид	493,32 ± 7,42	783,22 ± 9,16	1663,24 ± 23,79	1285,69 ± 9,52	884,42 ± 6,74	2065,29 ± 14,40	840,52 ± 8,55	-	-
Елагова кислота	113,82 ± 0,85	125,27 ± 1,28	<LoQ	<LoQ	117,31 ± 0,22	165,60 ± 0,62	118,96 ± 0,38	<LoQ	<LoQ
Загальна сума сполук	12184,79	13785,89	23701,62	21089,64	15765,20	23655,93	22464,56	22027,86	22909,25

Примітки. * – у перерахунку на суху речовину

<LoQ – ліміт кількісного визначення

За результатами, поданими в табл. 3.6, у зразках трави маруни дівочої та її сортах Phlora Pleno і White Gem, заготовлених у різних регіонах України, виявлено 3 флавоноли (кверцетин, кемпферол-3-рутинозид та сантин), флавон (апигенін) та 6 гідроксикоричних кислот (хлорогенова, 4-О-кофеїлхінна, 3,4-дикофеїлхінна, 3,5-дикофеїлхінна, 4,5- дикофеїлхінна та неохлорогенова). Флавоноїд сантин, який вважають специфічним маркером для маруни дівочої, виявлено та обраховано в усіх зразках, крім серії, заготовленої в Київській області [40]. Елагову кислоту також виявлено в 5 серіях (№ 864, 865, 868, 869, 870).

Відповідно до результатів аналізу вміст виявлених компонентів у серіях трави маруни дівочої варіював залежно від місця вирощування. Загальний вміст ідентифікованих сполук коливався від 12184,79 до 23701,62 мкг/г. Результати дослідження свідчили про те, що загальний вміст гідроксикоричних кислот у досліджуваних зразках значно перевищував вміст флавоноїдів.

Серед гідроксикоричних кислот домінантними компонентами в усіх зразках були 3,5-дикофеїлхінна, хлорогенова та 3,4-дикофеїлхінна кислоти. Так, на 3,5-дикафеїлхінну кислоту припадало від 43 % до 50 % від усіх обрахованих речовин, що є досить значним. Вміст хлорогенової кислоти (5-кафеїлхінної кислоти) був достатньо високим – від $28,07 \pm 0,16$ мкг/мл (RS 864) до $73,56 \pm 0,82$ мкг/мл (RS 866).

Серед флавоноїдів у найбільшій кількості накопичувались кемпферол-3-рутинозид та сантин. Вміст кемпферол-3-рутинозиду коливався від 4 до 9%, а сантину від 2 до 4 % від загального вмісту виявлених речовин. Кемпферол-3-рутинозид ідентифіковано вперше в траві маруни дівочої. Флавоноїд сантин є специфічним для роду *Tanacetum*. Ця сполука зумовлює протизапальну активність завдяки зниженню вмісту ліпополісахариду (LPS), оксиду азоту (NO) та простагландину (PGE). Сантин виявляє селективність, на відміну від інших флавоноїдів, щодо ЦОГ-2 у LPS-стимульованих макрофагах, що дає значні переваги під час лікування запальних станів [152].

Серед досліджуваних сполук у сортах маруни дівочої також кількісно переважали гідроксикоричні кислоти – хлорогенова та 3,5-дикофеїлхінна. Вміст хлорогенової кислоти в сорті Phlora Pleno склав 8356,26 мкг/г, що було у 1,2 раза

більше, ніж у сорті White Gem. Вміст 3,5-дикафеойлхіної кислоти в сорті White Gem був вищий у 1,1 раза, ніж у сорті Phlora Pleno, і склав 9590,91 мкг/г. Кверцетин визначено в сорті White Gem у кількості 56,73 мкг/г, а в сорті Phlora Pleno цю сполуку не виявлено. Кемпферол-3-рутинозид у сортах не визначено.

3.1.5 Дослідження впливу фенольних сполук на рівень антирадикальної активності

З огляду на різноманіття ідентифікованих фенольних сполук та їх високий вміст наступним кроком роботи було дослідження антирадикальної активності. Результати наведено в табл. 3.7.

Таблиця 3.7

Антирадикальна активність серій трави маруни дівочої

Серії сировини	Значення ТЕАЄ*, мкмоль/г
RS 864	103,19 ± 1,07
RS 865	86,49 ± 6,91
RS 866	124,97 ± 3,21
RS 867	126,67 ± 6,65
RS 868	89,27 ± 1,74
RS 869	123,53 ± 4,50
RS 870	127,89 ± 1,04
сорт Phlora Pleno	152,14 ± 7,64
сорт White Gem	139,26 ± 2,19

Примітка. * – ТЕАЄ – Тролокс–еквівалент антирадикальної ємності (мкмоль) у зразках (г) сухої маси.

Антирадикальна активність серій трави маруни дівочої коливалась у межах від 86,49 до 127,89 мкмоль/г. Середнє значення зв'язування вільних радикалів у зразках з різних областей становило 111,72 мкмоль/г. Отримані результати засвідчили, що найвищу активність проявляли зразки RS 867 (126,67 ± 6,65 мкмоль/г) та RS 870 (127,89 ± 1,04 мкмоль/г). Суттєвих відмінностей між

зразками RS 866 та 869 не виявлено. Незначну антирадикальну активність спостерігали в зразку RS 865 ($86,49 \pm 6,91$ мкмоль/г).

Кореляційний аналіз проводили для виявлення взаємозв'язку між вмістом фенольних сполук та визначеною антирадикальною активністю. Аналіз засвідчив, що вміст суми флавоноїдів корелював з антирадикальною активністю досліджуваних зразків ($r = 0,7564$, $p < 0,05$, $n = 3$) і спостерігалась незначна кореляція вмісту суми гідроксикоричних кислот ($r = 0,5741$, $p < 0,05$, $n = 3$). Найвищий коефіцієнт Пірсона отримано шляхом аналізу кореляції між загальною антирадикальною активністю та загальним вмістом усіх виявлених та розрахованих сполук ($r = 0,8663$, $p < 0,05$, $n = 3$), що свідчить про значну позитивну взаємодію.

Зразки сортів маруни дівочої Phlora Pleno і White Gem продемонстрували найбільшу антирадикальну активність (див. табл. 3.6). Отримані дані свідчать про перспективність розробки лікарського рослинного засобу на основі сортів маруни дівочої з антиоксидантною активністю.

На наступному етапі визначали індивідуальні речовини фенольної природи, що виявляли антирадикальні властивості.

У результаті дослідження серії RS 870 трави маруни дівочої виявлено 7 сполук з антирадикальною активністю, з них ідентифіковано хлорогенову кислоту (табл. 3.8). Сумарне значення ТЕАЄ дорівнювало 3010,94 мкг/г сухої сировини. Серед визначених сполук антирадикальну активність більшою мірою проявляла хлорогенова кислота (880,00 мкг/г). У траві маруни дівочої сортів White Gem та Phlora Pleno виявлено 12 сполук з антирадикальною активністю. Серед них ідентифіковано хлорогенову кислоту та рутин. Хлорогенова кислота в обох сортах мала більш значний внесок, ніж рутин, у сорті White Gem її вміст склав 20,9 %, а в сорті Phlora Pleno – 23,88 %. Сумарне значення ТЕАЄ для трави маруни дівочої (3010,94 мкг/г) у 2,7 раза менше, ніж у сорті White Gem (8197,59 мкг/г), та в 3,2 раза менше, ніж у сорті Phlora Pleno (9521,57 мкг/г).

Таблиця 3.8

Дослідження фенольних сполук трави маруни дівочої та сортів White Gem і White Gem з антирадикальними властивостями

Об'єкти дослідження	Сполука	t _R , хв	ТЕАС*, мкг/г	Сума ТЕАС*, мкг/г
Серія RS 870	Хлорогенова к-та	11,75	880,00	3010,94
Сорт White Gem	Хлорогенова к-та	11,76	1713,57	8197,59
	Рутин	22,68	164,19	
Сорт Phlora Pleno	Хлорогенова к-та	11,74	2274,00	9521,57
	Рутин	22,56	297,41	

Примітки. t_R – час утримування; ТЕАС* – Тролокс-еквівалент антирадикальної ємності (мкг) у зразках (г) сухої маси.; н/і – не ідентифіковано

Отримані дані свідчать про високий вміст сполук з антирадикальною активністю в траві маруни дівочої сорту Phlora Pleno, що є безумовною перевагою, тому цей сорт постає перспективним для створення лікарського рослинного препарату зазначеної спрямованості дії.

3.1.6 Дослідження макро- та мікроелементного складу

Дослідження макро- та мікроелементів у лікарській рослинній сировині є неодмінним етапом фармакогностичного аналізу. Мінливість цих сполук пов'язана з такими чинниками, як тип ґрунту, кліматичні умови під час вирощування сировини, інсоляція, інтенсивність поливу та екологічна ситуація певної місцевості загалом. З огляду на сучасний стан навколишнього середовища дослідження вмісту важких металів є обов'язковим параметром дослідження ЛРС.

Аналіз макро- та мікроелементів визначали методом АЕС (розд. 2). Визначено якісний склад та кількісний вміст цих сполук, а також вміст важких металів у досліджуваних зразках. Отримані результати наведено в табл. 3.9.

Таблиця 3.9

Елементний склад серій трави маруни дівочої та сортів

White Gem і Phlora Pleno

Назва елемента	Вміст елементів у зразках, мг/100г								
	RS 864	RS 865	RS 866	RS 867	RS 868	RS 869	RS 870	Сорт White Gem	Сорт Phlora Pleno
Макроелементи									
Na	96,0	63,0	68,0	135,0	84,0	50,0	65,0	75,0	89,0
Mg	340,0	240,0	136,0	270,0	480,0	295,0	200,0	355,0	387,0
Si	360,0	315,0	68,0	335,0	480,0	150,0	120,0	131,0	215,0
P	180,0	135,0	100,0	145,0	300,0	195,0	95,0	150,0	173,0
K	3000,0	2765,0	2040,0	2145, 0	3840,0	2940,0	2430,0	2368,0	3020,0
Ca	840,0	790,0	545,0	670,0	1080,0	785,0	610,0	648,0	812,0
Мікроелементи									
Al	60,0	23,7	8,1	32,1	72,0	24,5	14,6	53,0	34,0
Mn	18,0	7,1	6,8	8,4	9,0	18,6	4,1	12,5	17,2
Fe	48,0	9,5	5,4	23,4	42,0	14,7	5,3	26,1	13,7
Ni	0,12	0,08	0,05	0,06	0,06	0,05	0,04	0,03	0,02
Cu	1,25	3,16	0,68	0,6	1,2	1,1	1,0	0,99	1,2
Zn	12,0	5,5	3,4	3,3	14,4	14,7	2,4	13,0	7,5
Pb	<0,03	0,06	0,07	<0,03	0,05	0,08	<0,03	<0,03	<0,03
Mo	0,06	0,06	0,07	0,03	0,06	0,06	0,05	0,03	0,03

Примітка. Co < 0,03 мг/100 г; Cd < 0,01 мг/100 г; As < 0,01 мг/100 г;
Hg < 0,01 мг / 100 г.

У результаті проведеного дослідження у всіх серіях ЛРС виявлено 18 елементів та визначено їх вміст. Серед макроелементів найбільший вміст припадав на калій, кальцій, силіцій і магній. Переважний вміст калію визначено в зразках з Харківської (RS 868), Житомирської (RS 864) та Полтавської областей (RS 869) (3840 мкг/100 г, 3000 мкг/100 г, 2940 мкг/100 г відповідно). Вміст калію в траві маруни дівочої сорту Phlora Pleno склав 3020,0 мкг/100г, що у 1,3 раза більше, ніж у траві сорту White Gem (2368,0 мкг/100 г). Вміст кальцію переважав у зразках трави маруни дівочої з Харківської (RS 868), Житомирської (RS 864) та Черкаської областей (RS 865). У сортах трави маруни дівочої вміст цього елемента був дещо менший і склав 812,0 мкг/100 г для сорту Phlora Pleno і 648,0 мкг/100 г для сорту White Gem. Найбільший вміст силіцію та магнію спостерігали в зразках з Харківської (RS 868) та Житомирської областей (RS 864), незначно менший у зразках з Дніпропетровської (RS 867) та Полтавської областей (RS 869). У сортах вміст магнію був майже на одному рівні 355,0 – 387 мкг/100 г, а вміст силіцію – більший у траві сорту Phlora Pleno – 173,0 мкг/100 г. Найбільший вміст заліза визначено в зразку трави маруни дівочої із Житомирської обл. (RS 864) – 48,0 мг/100г. Серед зразків сортів маруни дівочої вміст цього елемента був майже у 2 рази вищий у сировині сорту White Gem (26,1 мкг/100 г), ніж сорту Phlora Pleno (13,7 мкг/100 г).

Вміст важких металів – кобальту, кадмію, арсену та меркурію – перебував у межах гранично допустимих концентрацій.

Висновки до розділу 3

1. Уперше проведено порівняльний аналіз хімічного складу вітчизняних серій трави маруни дівочої та трави маруни дівочої сортів White Gem та Phlora Pleno.

2. Уперше отримано ліпофільні фракції з трави маруни дівочої та її сортів White Gem та Phlora Pleno. Вміст фракцій склав для трави маруни дівочої – 5,7 %,

сорту Phlora Pleno – 4,1 %, сорту White Gem – 3,9 %. В отриманих фракціях ідентифіковано хлорофіл *a*, хлорофіл *b* та β -каротин.

3. Уперше проведено порівняльний аналіз карбонових кислот трави маруни дівочої та її сортів White Gem і Phlora Pleno, заготовлених на території України. У досліджуваних зразках виявлено та ідентифіковано 35 карбонових кислот. З них 21 кислота належить до насичених, 5 до ненасичених і 9 до ароматичних. Загальний вміст карбонових кислот у траві маруни дівочої склав 26540,13 мг/кг, сорту Phlora Pleno – 22960,52 мг/кг та сорту White Gem – 24312,51 мг/кг відповідно. Серед визначених карбонових кислот у всіх зразках домінували бурштинова, левулінова, лимонна, пальмітинова, лінолева, щавлева та ліноленова кислоти.

4. Уперше з вітчизняних серій трави маруни дівочої та її сортів отримано ефірну олію, її вміст коливався в межах від 0,39 до 1,60 %. Уперше проведено порівняльний аналіз якісного складу та кількісного вмісту компонентів ефірної олії трави маруни дівочої та її сортів White Gem та Phlora Pleno. В ефірній олії маруни дівочої виявлено 44 сполуки, сорту Phlora Pleno – 37, сорту White Gem – 34. За відсотковим вмістом у всіх проаналізованих зразках переважали монотерпени (36,4 – 47,5 %), сесквітерпени (22,7 – 25,4 %) та ароматичні терпени (13,6 – 17,2 %). Найбільшу кількість компонентів ефірної олії ідентифіковано в зразку White Gem – 4390,64 мг/кг, у 2 рази менше в зразку сорту Phlora Pleno – 2194,81 мг/кг, та у 3,2 рази менше в ефірній олії трави маруни дівочої – 1375,02 мг/кг. Домінантними компонентами в усіх зразках були камфора, *транс*-хризантенілацетат, фенхілацетат, каріофіленоксид.

5. Уперше досліджено фенольний профіль вітчизняних зразків трави маруни дівочої та її сортів. Методами ТШХ та ВЕРХ ідентифіковано 14 сполук. Уперше в досліджених зразках ідентифіковано неохлорогенову кислоту, 4-О-кафеїлхінову кислоту, кемпферол-3-рутинозид, лютеолін, лютеолін-7-глюкозид.

6. Розроблено методику ідентифікації ліпофільного флавоноїду сантину методом ТШХ. Спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст суми флавоноїдів (від 0,79 до 3,03 %) та суми гідроксикоричних кислот (від 3,34 до

6,47 %). Домінантним компонентом у зразках трави маруни дівочої була 3,5-дікофеїлхінна кислота (від до 5402,57 до 11276,17 мкг/г)

7. Уперше визначено антирадикальну активність у 7 серіях трави маруни дівочої та сортів White Gem і Phlora Pleno. У серіях трави маруни дівочої антирадикальна активність варіювала від 86,49 до 127,89 мкмоль/л. У траві маруни дівочої з 7 речовин, що виявляли антирадикальну активність, ідентифіковано хлорогенову кислоту, а в траві сортів White Gem та Phlora Pleno з 12 сполук ідентифіковано рутин та хлорогенову кислоту.

8. Уперше визначено елементний склад у серіях трави маруни дівочої та сортах White Gem та Phlora Pleno. Найбільший сумарний вміст елементів визначено в зразку трави маруни дівочої з Харківської області (6402,77 мг/100г). Серед визначених елементів у всіх зразках домінантними були калій, кальцій, магній та силіцій. Відсотковий вміст калію був найбільший і варіював від 56,9 до 68,5 % серед усіх визначених елементів. Вміст важких металів перебував у межах норми.

Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. Hordiei K. R., Gontova T. M., Zolotaikina M. Yu. The study on the elemental composition of the feverfew herb (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz bip.). *Вісник фармації*. 2018. № 3 (95). С. 25–29
2. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Сербін А. Г., Котов А. Г., Котова Е. Е. Вивчення фенольних речовин у траві маруни дівочої методом тонкошарової хроматографії та високоефективної рідинної хроматографії *Український біофармацевтичний журнал* 2019. № 3 (95). С. 64–70.
3. Gordey K. R., Gontova T. M., Gaponenko V. P., Vusik D. M. Comparative study of the elemental composition of the feverfew cultivars ‘Phlora Pleno’ and ‘White Gem’ *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020. № 48. P. 34–37.

4. Гордей К. Р., Гонтова Т. М. Дослідження складу жирних та органічних кислот трави маруни дівочої (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz bip.) *Фармацевтичний журнал*. 2020. № 5. С. 61–67.
5. Гордей К. Р., Гонтова Т. Н. Исследование минерального состава травы *tanacetum parthenium*. *Студенческая медицинская наука XXI века: материалы XVII Международной конференции, 15-16 ноября 2017, г. Витебск: ВГМУ, 2017. С. 85–86.*
6. Hordiei K. R., Gontova T. M. Pigments of *Tanacetum parthenium* herb. *Topical issues of new drugs development: Abstracts of XXV International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student, April 18-20, 2018 – Kharkiv, NUPh, 2018. V. 1. – p. 38–39.*
7. Hordiei K. R., Gontova T. M., Kotova E. E. Analysis of hydroxycinnamic acids content of the feverfew herb depending on the place of cultivation: Abstracts of 9th international conference of Pharmacy *Science and practice*, November 9, 2018. Kaunas, Lithuania, 2018. p. 31.
8. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Котова Е. Е. Визначення вмісту ефірної олії у серіях маруни дівочої трави. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження: матеріали II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 11 березня 2020 р., м. Харків: НФаУ, 2020. 49 – 50 с.*
9. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Котова Е. Е., Яременко М. С. Дослідження якісного складу та кількісного вмісту фенольних речовин маруни дівочої та сорту «White gem». *Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження: мат. наук.-практ. дистанційної міжн. конф., м. Івано-Франківськ, ІФНМУ, 19-20 травня, 2020 р., С. 153–154.*

РОЗДІЛ 4. ВИВЧЕННЯ МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНИХ ДІАГНОСТИЧНИХ ОЗНАК ТРАВИ МАРУНИ ДІВОЧОЇ ТА ЇЇ СОРТІВ. СТАНДАРТИЗАЦІЯ СИРОВИНИ ВІДПОВІДНО ДО ВИМОГ ДФУ

Значна кількість наукових праць стосується питань морфології та анатомії лікарських рослин [153-155]. Дискусійними є питання систематики видів роду пижма (розд. 1). Для розв'язання цих питань важливим є виділення загальних та індивідуальних морфолого-анатомічних ознак.

Нами проведено порівняльний макро- та мікроскопічний аналіз трави маруни дівочої та її сортів *Phlora Pleno* і *White Gem*. Для макроскопічного аналізу використовували цільну свіжу та висушену сировину, для мікроскопічного – фіксовану цільну, різану та порошоквану сировину. Мікроскопічні дослідження проводили за загальноприйнятими методиками та відповідно до вимог ДФУ [134].

4.1. Морфолого-анатомічні діагностичні ознаки трави маруни дівочої та її сортів

Порівняльний аналіз зразків трави маруни дівочої (рис. 4.1) та сортів *White Gem* (рис. 4.2) і *Phlora Pleno* (рис. 4.3) виявив індивідуальні морфологічні особливості. Трава маруни дівочої за морфологічними ознаками відповідала вимогам ДФУ (табл. 4.1) [127]. Сорт *White Gem* є середньорослим, стебло завдовжки 20–35 см. Суцвіття діаметром до 2,5 см, утворені з одного ряду крайових язичкових коротких, широких квіток та серединних – трубчастих, які змінюють своє забарвлення від краю до центру з білого до жовтого. Сорт *Phlora Pleno* є високорослим, стебло завдовжки 40-60 см. Суцвіття великі густо-махрові, діаметром до 4 см з довгими квітконосними пагонами та 2-3-рядним розташуванням крайових квіток у кошиках (рис. 4.3, 4 а). Інші морфологічні ознаки сортів подібні до виду.

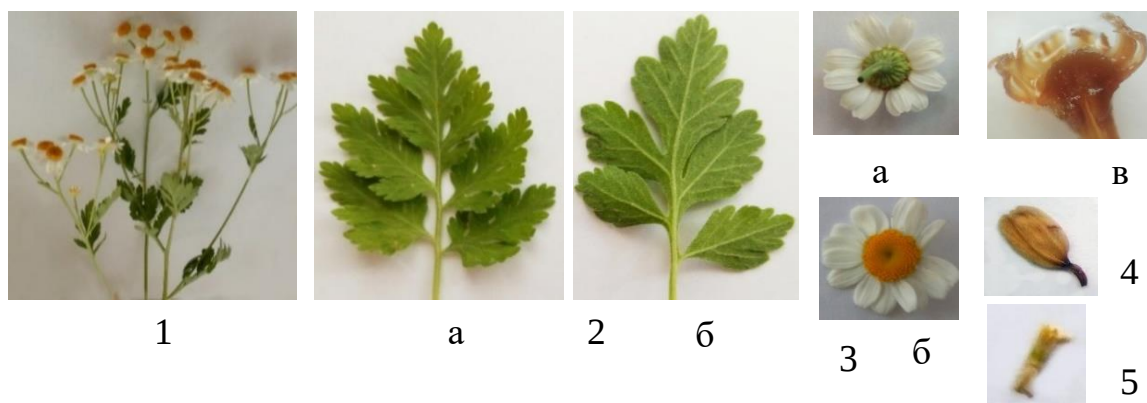


Рис. 4.1 Морфологічні ознаки трави маруни дівочої: 1 – верхівка квітконосного пагону, 2 – серединні листки: а – верхня сторона, б – нижня сторона, 3 – кошик: а – вид знизу, б – вид зверху, в – загальне ложе на продольному розрізі, 4 – несправжньоязичкова квітка, 5 – трубчаста квітка



Рис. 4.2 Морфологічні ознаки трави маруни дівочої сорту White Gem: 1 – загальний вигляд, 2 – верхівка пагона, 3 – листки верхньої та середньої формації, 4 – кошик, а – трубчасті квітки, б – несправжньоязичкові квітки



Рис. 4.3 Морфологічні ознаки трави маруни дівочої сорту Phlora Pleno: 1 – загальний вигляд, 2 – верхівка квітконоса, 3 – листок, 4 – кошик: а – вид збоку, б – несправжньоязичкові і трубчасті квітки

До загальних мікроскопічних ознак трави маруни дівочої та її сортів належить таке. На поперечному розрізі верхівка стебла ребриста, густо опушена, нижня частина – округла, або слабко ребриста, зрідка опушена (рис. 4.4, А, Б, 4.5, 1,3, 4.6, 1). Будова центрального циліндра перехідного типу. Клітини епідерми видовжені, зі звивистими оболонками, продихи аномоцитні, часті. У ребрах субепідермально розташовано 5-6 шарів кутової коленхіми (рис. 4.4, 2, 4.5, 2,б, 4.6, 1,б), між ребрами – 2-3 шари хлоренхіми. Чітко виражена ендодерма (рис. 4.4, 3, 4.5, 2,г, 4.6, 1,б). Пучки відкриті колатеральні (рис. 4.4, Б, 1, 4.5, 2,є, 4.6, 1,д). Флоема дрібноклітинна. Судини ксилеми різні за діаметром, спіральні, драбинчасті та пористі (рис. 4.4, 5, 6, 4.5, 4, а-в). Склеренхіма розташована над флоемою і між пучками (рис. 4.4, Б, 4, 4.5, 2,д, 4.6, 1,є). Серцевина рихла, складається з великих, округлих клітин.

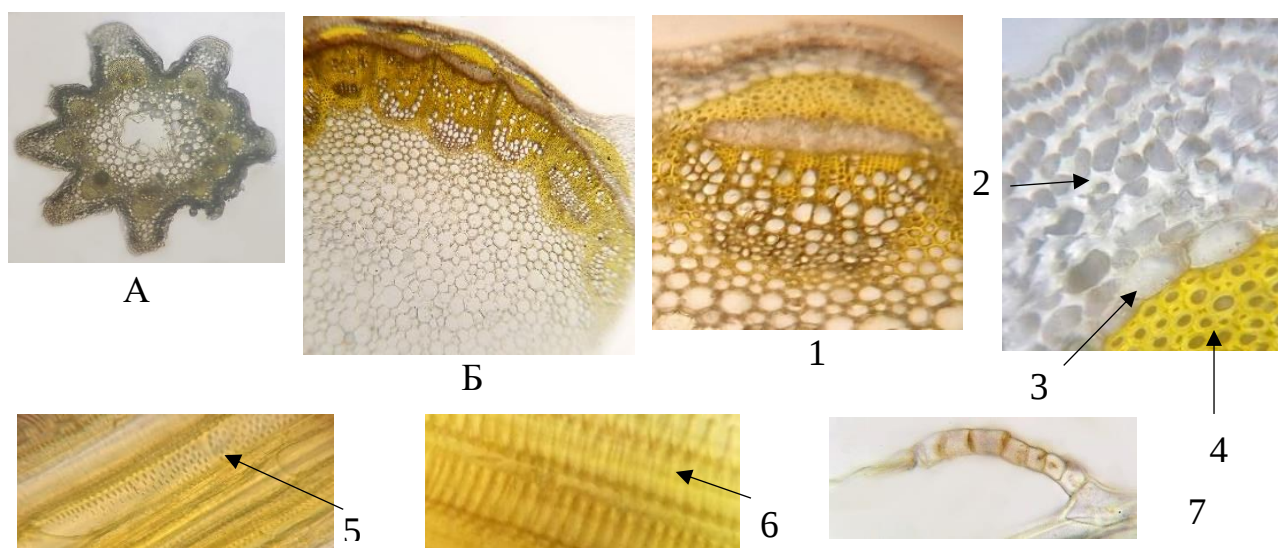


Рис. 4.4 Анатомічні ознаки стебла маруни дівочої: А – верхівка, Б – середня частина, 1 – відкритий колатеральний пучок, 2 – кутова коленхіма, 3 – ендодерма, 4 – склеренхіма, 5 – пористі судини, 6 – спіральні судини, 7 – багатоклітинний волосок з довгою термінальною клітиною

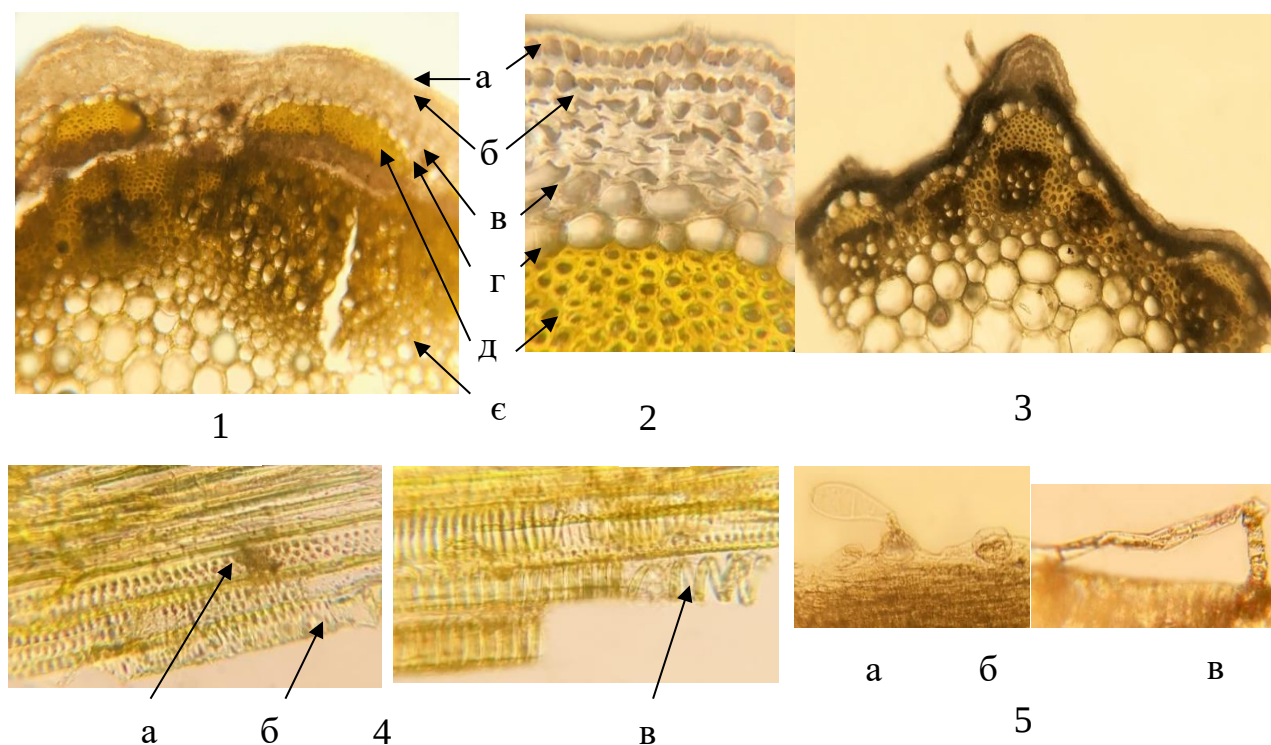


Рис 4.5 Анатомічні ознаки стебла маруни дівочої сорту White Gem

Фрагмент стебла: нижня частина – 1 – на м/з, 2 – на в/з: а – епідерма, б – коленхіма, в – корова паренхіма, г – ендодерма, д – склеренхіма, е – провідний пучок, 3 – верхня частина, 4 – судини ксилеми: а – пористі, б – спіральні, в – драбинчасті, трихоми: 5 – а – волосок з лопатевою термінальною клітиною, б – залозка, в – багатоклітинний волосок з довгою термінальною клітиною

Для епідерми стебел маруни дівочої та її сортів переважно характерні покривні довгі, багатоклітинні волоски, часто зігнуті до поверхні, з 3-8-прямокутними клітинами і довгою термінальною клітиною, яка легко обламується (рис. 4.4, 7, 4.5, 5,в, 4.6, 2).

На епідермі стебла маруни дівочої сорту White Gem є волоски з лопатевою термінальною клітиною (рис. 4.5, 5.а).

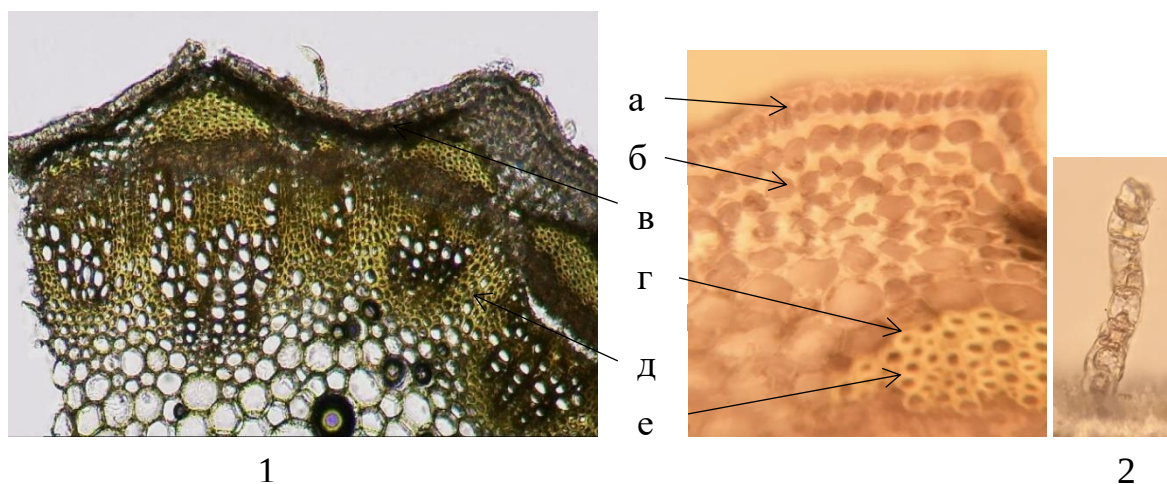


Рис. 4.6 Анатомічні ознаки стебла маруни дівочої сорту *Phlora Pleno*: 1 – фрагмент поперечного розрізу, а – епідерма, б – коленхіма, в – хлоренхіма, г – ендодерма, д – провідний пучок, е – склеренхіма, 2 – основа багатоклітинного волоска

Тип будови листків маруни дівочої та її сортів дорсовентральний, палісадна хлоренхіма 2-шарова, щільна; губчаста хлоренхіма складається з округлих клітин (рис. 4.7. 1). На нижній епідермі клітини паренхімні, з тонкими, звивистими оболонками, вкриті складчастою кутикулою (рис. 4.7, 2, 4.8, 2, 4.9, 2). Клітини епідерми вздовж жилки прозенхімні, прямокутні (рис. 4.7, 4, 4.8, 2, 4.9, 3). Клітини верхньої епідерми паренхімні, звивисті, тонкостінні (4.8, 1, 4.9, 1). Продихи верхньої та нижньої епідерми численні, аномоцитні. Покривні волоски часті, розташовуються по всій поверхні листка, але вздовж жилки частіше (рис. 4.7, 5, 4.8, 1, 3, 4.9, 3, 4). Є 4-6-клітинні залозисті волоски й прості багатоклітинні волоски з довгою тонкостінною термінальною клітиною, яка лопатево розширюється до верхівки, часто згинається або відламується. Клітини основи волоска паренхімні з коричневим секретом, спалими оболонками. Бувають 6-8 клітинні залозки (типіві для видів родини айстрові).

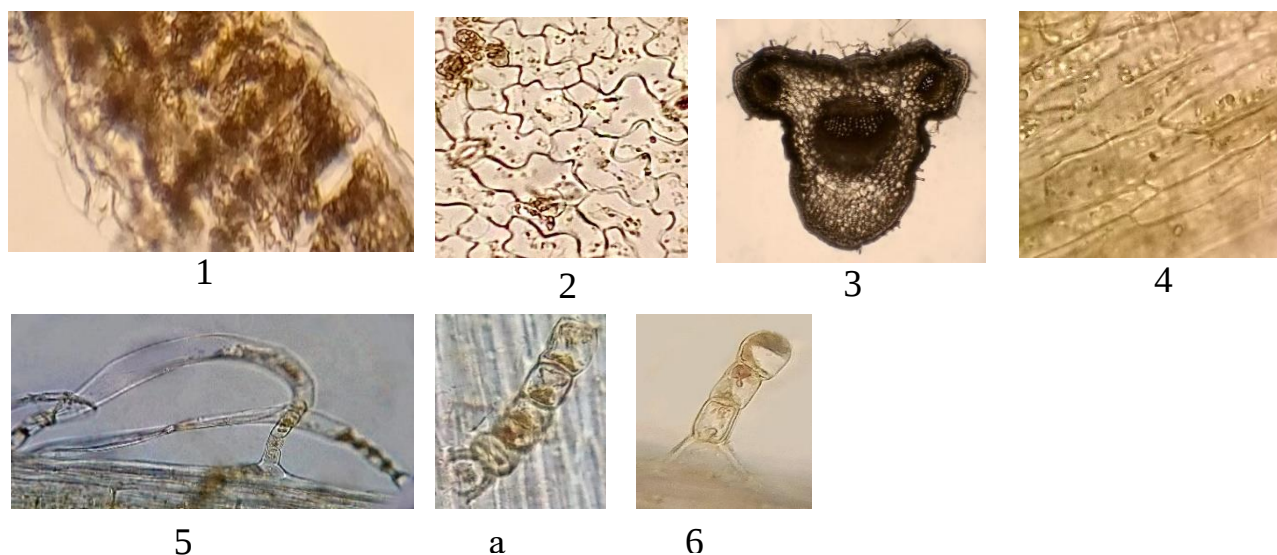


Рис. 4.7 Анатомічні ознаки листка маруни дівочої: 1 – фрагмент листової пластинки, 2 – нижня епідерма, 3 – поперечний зріз головної жилки, 4 – епідерма над головною жилкою, трихоми: 5 – багатоклітинні волоски з довгою термінальною клітиною, а – основа волоска, 6 – головчастий волосок

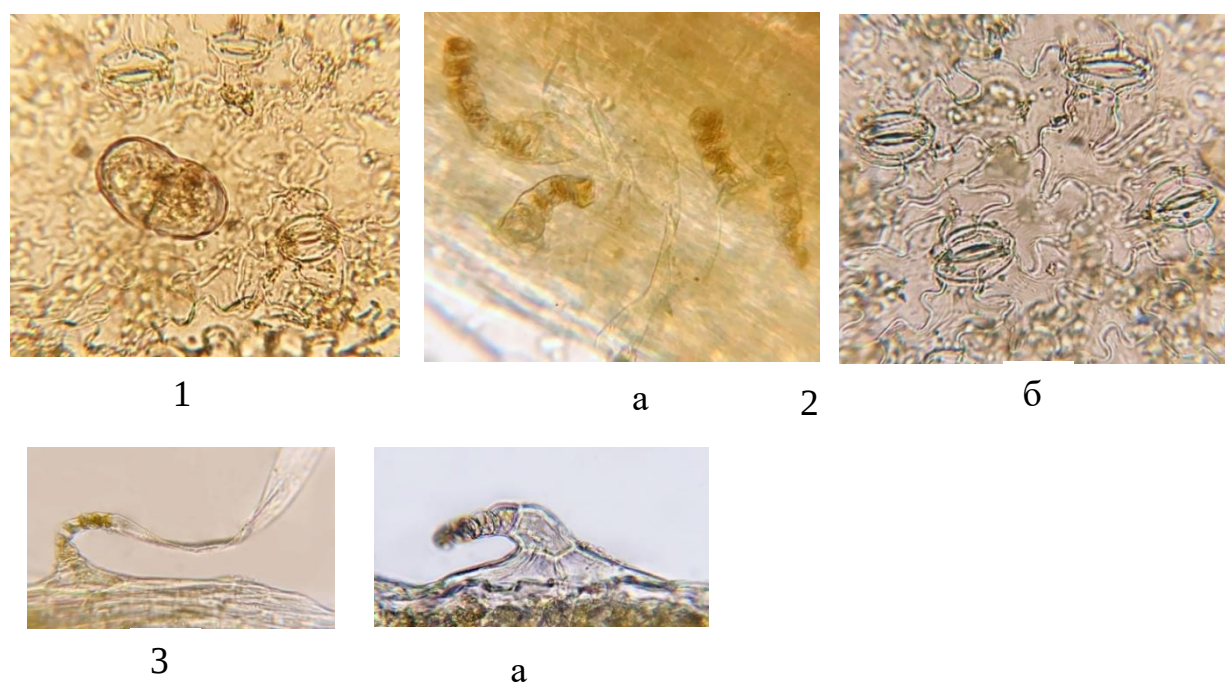


Рис 4.8 Анатомічні ознаки листка маруни дівочої сорту White Gem: 1 – верхня епідерма, 2 – нижня епідерма над жилкою (а) та між жилками (б), 3 – багатоклітинний волосок з довгою термінальною клітиною, а – основа волоска

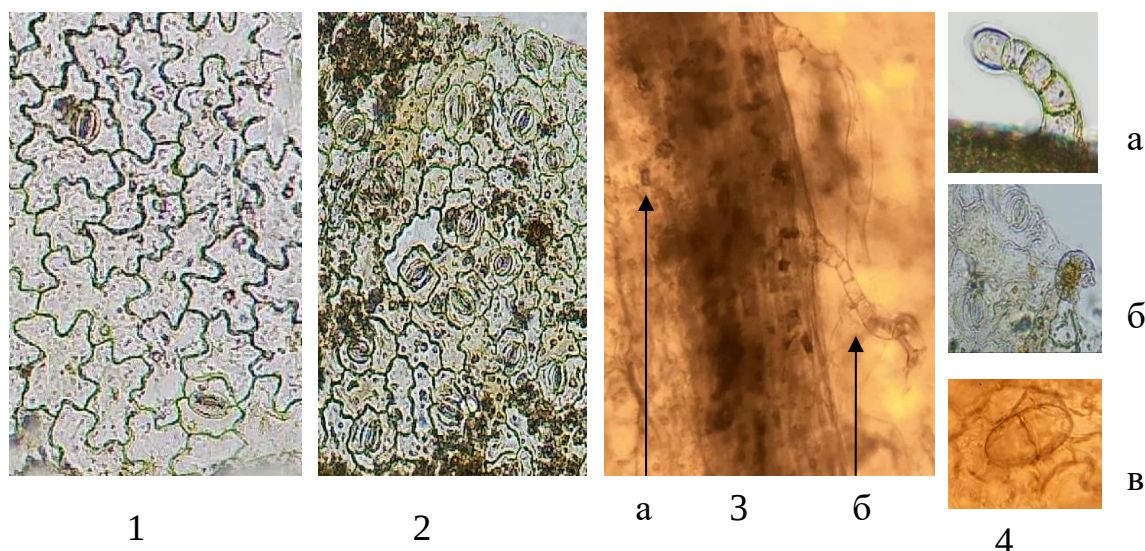


Рис. 4.9 Анатомічні ознаки листка маруни дівочої сорту Phlora Pleno: 1 – верхня епідерма на м/з, 2 – нижня епідерма, 3 – епідерма над жилкою: а – призматичні поодинокі кристали, б – простий багатоклітинний волосок з довгою термінальною клітиною, 4 – трихоми: а – головчастий волосок, б – залозка (вид збоку), в – залозка (вид зверху)

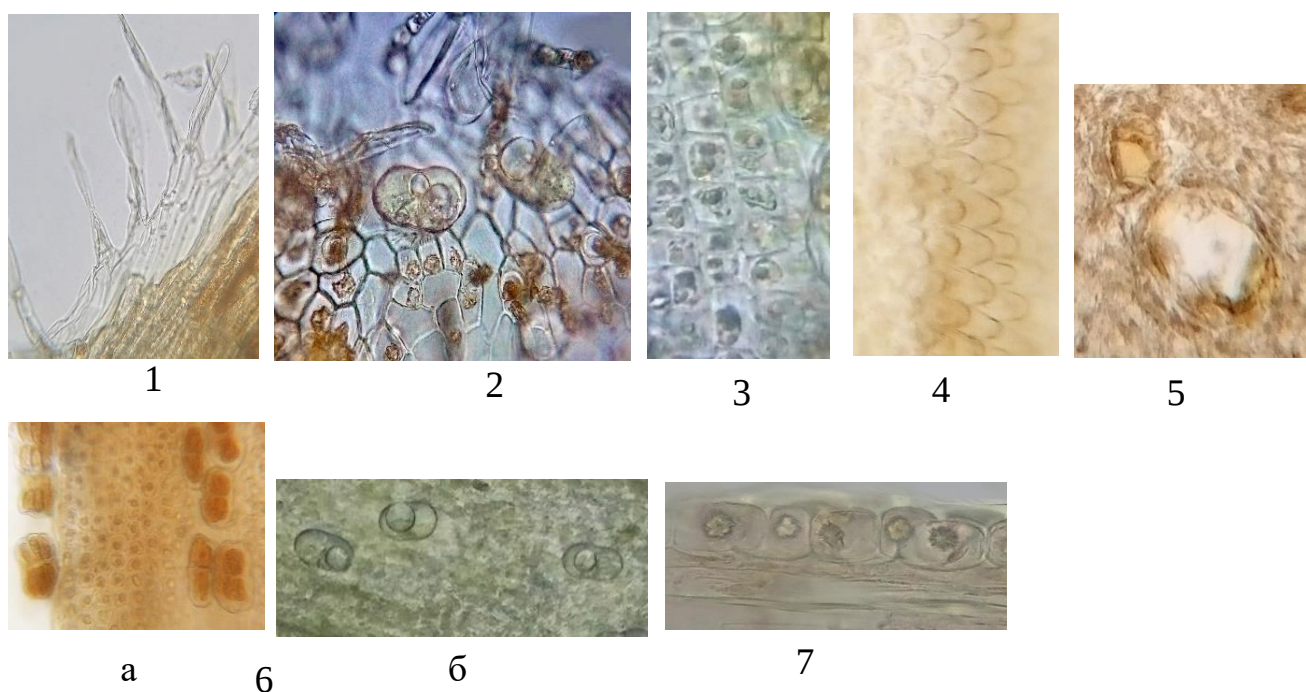


Рис. 4.10 Анатомічні ознаки кошика маруни дівочої: листочок обгортки: 1 – край з прозорою облямівкою, 2 – верхня епідерма; квітки: 3 – епідерма відгину трубчастої квітки, 4 – сосочкоподібна епідерма, 5 – схізо-лізигенні вмістища загального ложа; 6 – ефіроолійні залозки в основі несправжньоїязичкової квітки: а – вид збоку, б – вид зверху, 7 – друзи

Листочки обгортки кошика. Край листочків обгортки в досліджуваних об'єктах з прозорою війчастою облямівкою (рис. 4.10, 1, 4.12, 5). Верхня епідерма складається з дрібних, паренхімних, прямостінних клітин (рис. 4.10 3, 4.11. 2) та численних багатоклітинних та головчастих волосків (рис. 4.10, 2). Близьче до краю листочків обгортки є нечасті ефіроолійні залозки (рис. 4.10, 6, а, б, 4.11, 5, 4.12, 2). Крайові клітини листочків обгортки містять дрібні друзи (рис. 4.10, 7, 4.11, 9, 4.12, 10)

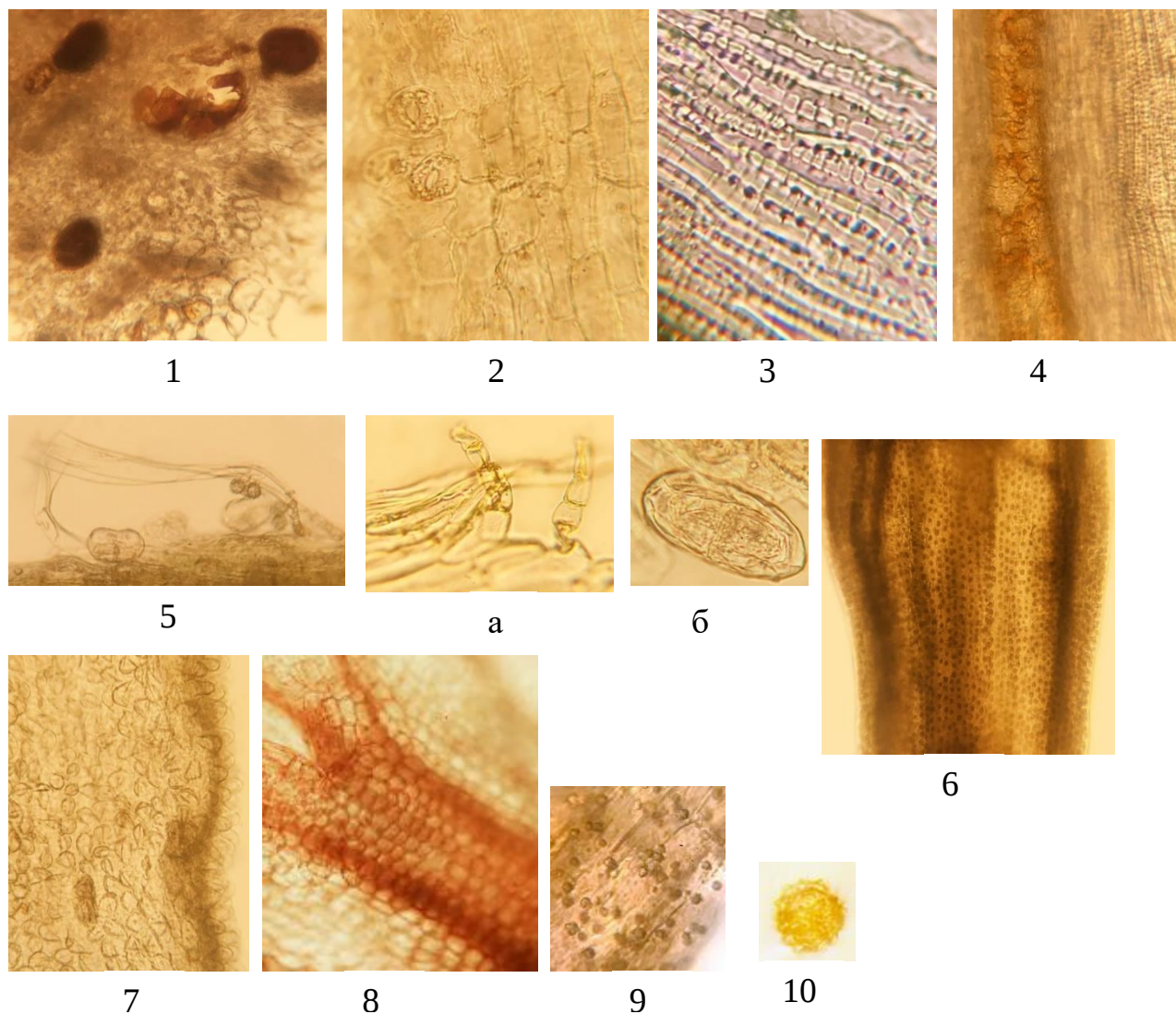


Рис. 4.11 Анатомічні ознаки кошика маруни дівочої сорту White Gem: 1 – паренхіма з вмістищами; листочки обгортки: 2 – епідерма, 3 – прозенхімні клітини епідерми з потовщеними оболонками, 4 – секреторний канал, 5 – опушення краю листочка багатоклітинними волосками з довгою термінальною клітиною (а) і залозками (б); несправжньоязичкова квітка: 6 – основа квітки, 7 – сосочкоподібна епідерма пелюсток віночка; трубчаста квітка: 8 – епідерма трубки віночка, 9 – друзи, 10 – пилокве зерно

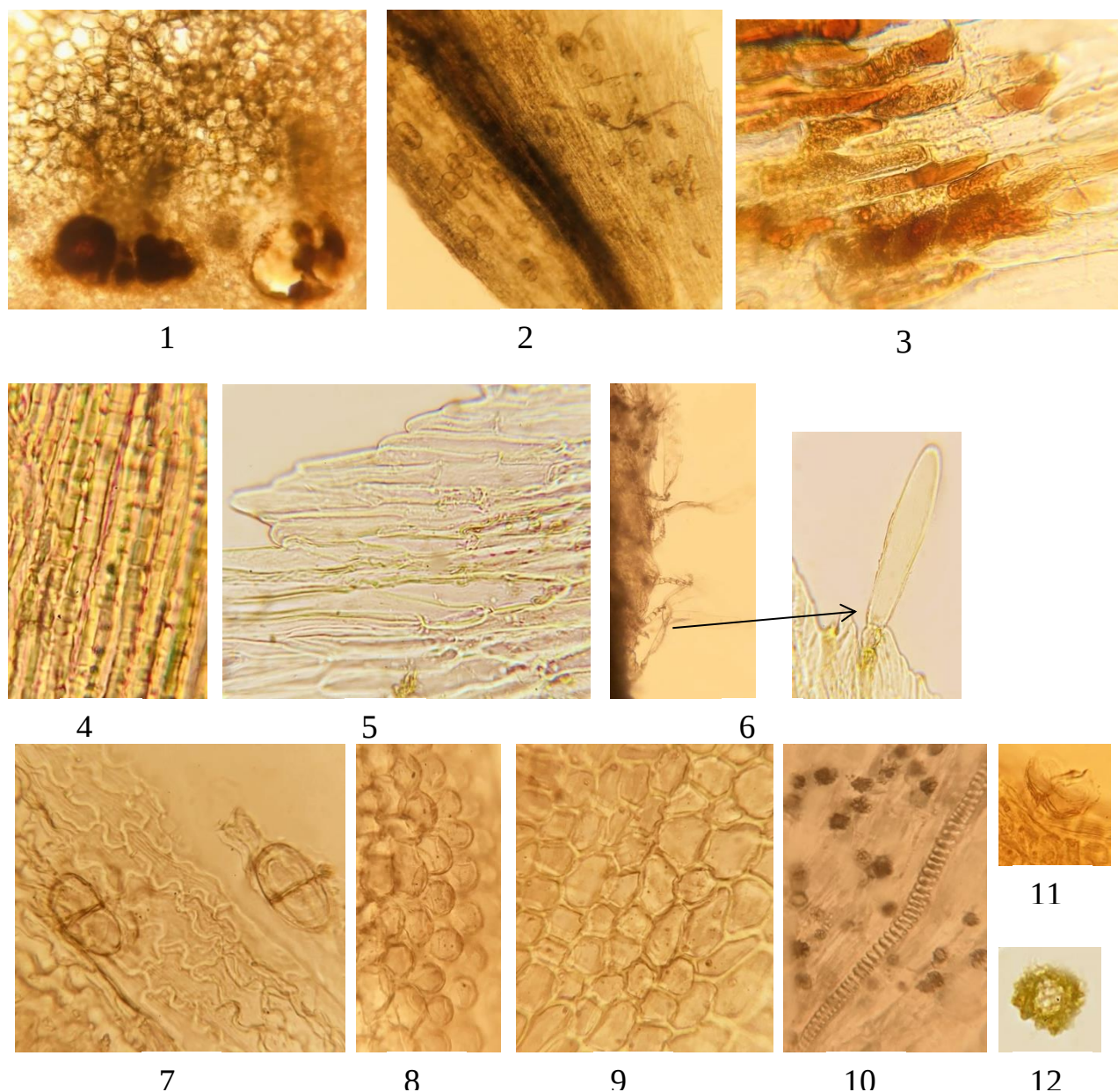


Рис. 4.12 Анатомічні ознаки кошика маруни дівочої сорту *Phlora Pleno*:
 1 – паренхіма квітколожа з вмістищами; листочки обгортки кошика: 2 – клітини епідерми з залозками і секреторним каналом, 3 – клітини епідерми з коричневим вмістом, 4 – прозенхімні клітини епідерми з потовщеними оболонками, 5 – край верхівки, 6 – опушення краю багатоклітинними волосками з довгою термінальною клітиною; несправжньоязичкова квітка: 7 – епідерма з залозками, 8 – сосочкоподібна епідерма; трубчаста квітка: 9 – епідерми на в/з, 10 – друзи та спіральна судина, 11 – залозка, 12 – пилкове зерно

Ложє кошика. У центральній частині загального ложа міститься губчаста паренхіма, а по краю клітини розташовані щільно, серед паренхіми видно декілька рядів провідних пучків та схізо-лізигенні вмістища з брунатним вмістом (рис. 4.10, 5, 4.11, 4, 4.12, 1). Клітини епідерми листочків обгортки досліджуваних об'єктів прозенхімні, прямостінні, продихи аномоцитного типу є зрідка. У листочках обгортки маруни дівочої сорту Phlora Pleno виявлено клітини з коричневим секретом (рис. 4.12, 3), у цього сорту та сорту White Gem виявлено прозенхімні клітини епідерми з потовщеними оболонками.

Несправжньоязичкові та трубчасті квітки маруни дівочої. Клітини епідерми несправжньоязичкових квіток дрібні, паренхімні, прямостінні, з сосочкоподібними виростами (рис. 4.10, 3, 4, 4.11, , 4.11, 4.12, 8, 9). Клітини епідерми трубчастих квіток паренхімні, прямостінні (рис. 4.11, 8, 4.12, 9). Вздовж жилок несправжньоязичкових квіток розташовані чисельні ефіроолійні залозки, у трубчастих квіток вони є по краю зубців відгину. Пилкові зерна кулястої форми, з 3 порами та шипуватою екзиною (рис. 4.11, 10, 4.12, 12).

До індивідуальних мікроскопічних ознак трави маруни дівочої сорту White Gem віднесено: стебло виповнене; на епідермі стебла містяться волоски з лопатевою термінальною клітиною і залозки.

До індивідуальних мікроскопічних ознак трави маруни дівочої сорту Phlora Pleno віднесено: продихи епідерми листків парацитного та анізоцитного типу, у клітинах епідерми листка над жилкою є поодинокі призматичні кристали і друзи кальцію оксалату, у листочках обгортки є прозенхімні клітини з коричневим секретом.

У листочках обгортки обох сортів виявлено прозенхімні клітини епідерми з потовщеними оболонками та простими прямими порами.

4.2 Аналіз показників якості, нормованих для ЛРС

Трава маруни дівочої є офіційною лікарською сировиною, монографію на сировину містять Європейська, Американська, Американська трав'яна, Британська фармакопеї та Державна фармакопея України [127-131]. Монографія ДФУ 2.0 «Маруни дівочої трава» є повністю гармонізована з відповідною монографією у ЄФ. Аналіз аналітично-нормативної документації засвідчив, що підхід до стандартизації сировини майже ідентичний (розд. 1).

За даними літератури, стандартизацію вітчизняних зразків трави маруни дівочої раніше не проводили. Тому наступним етапом роботи була стандартизація та вивчення показників якості вітчизняних серій сировини маруни дівочої, розроблення національної частини до монографії «Маруни дівочої трава».

Ідентифікація А, Б. Визначено основні макро- і мікроскопічні ознаки у вітчизняних серіях трави маруни дівочої згідно з ДФУ 2.0, що наведено в таблиці 4.1

Таблиця 4.1

Діагностичні ознаки трави маруни дівочої, наведені у монографії ДФУ 2.0

Орган рослини	Ознаки
Морфологічні	
Стебло	Вкрите листками стебло більш-менш розгалужене, до 5 мм у діаметрі; воно майже чотиригранне, подовжньо жолобчасте, слабо опушене.
Листя	Листки овальні, (2-5) см, деколи до 10 см завдовжки, жовтаво-зелені, черешкові та чергові. Вони перисті або двічі перисті, глибоко розсічені на (5-9) сегментів, кожен із них з майже городчастим краєм і тупою верхівкою. Обидві поверхні дещо опушені, середня жилка виступає на нижній поверхні.
Кошик	Квітучі кошики, якщо наявні, (12-22) мм у діаметрі, з довгими ніжками; вони зібрані в широкі щитки із (5-30) кошиків. Напівкуляста обгортка (6-8) мм завширшки, складається із численних, частково збіжних приквітків, переважно звужених, тупих і плівчастих, із перетинчастими краями.

Продовж. табл. 4.1

Квітки	Центральні квітки жовті, двостатеві, трубчасті, з 5 зубцями та 5 тичинками, захованими у віночок; тичинкові нитки вільні, але пиляки склеєні в трубочку, через яку проходить стовпчик, що несе 2 лопаті приймочки. Зовнішні квітки жіночі, мають білий, тризубчастий відгин, (2-7) мм завдовжки.
Плід	Плід — сім'янка (1,2-1,5) мм завдовжки, коричнева, якщо зріла, з (5-10) білими подовжніми ребрами. Сім'янка гранулярна та несе коротку, зазубрену, плівчасту коронку.
Анатомічні	
Стебло	На продольному зрізі стебла спостерігають численні спіральні та кільчасті судини.
Листок	Численні, крупні, багатоклітинні однорядні покривні волоски, що складаються з ромбоподібної базальної клітини, (3-5) дрібніших, товстостінних, прямокутних клітин і дуже довгої, горизонтальної, тонкої термінальної клітини, часто зігнутої під прямим кутом до осі базальної клітини. Клітини епідерми з дуже звивистими антиклінальними оболонками та складчастою кутикулою. Продихові апарати аномоцитного типу
Загальне ложе	<i>Не регламентовано ознаки загального ложа кошиків</i>
Листочки обгортки	<i>Не регламентовано ознаки листочків обгортки</i>
Квітки	Крайові та серединні квітки мають ефіроолійні залозки з короткою, дворядною, (2-4)-клітинною ніжкою та дворядною голівкою з 4 клітин, навколо якої кутикула формує пухироподібний покрив. Кулясті пилкові зерна близько 25 мкм у діаметрі, з 3 порами та шипуватою екзиною можуть бути наявними.
Кристали оксалату кальцію	Дрібні розетки можуть бути наявними.

Досліджені зразки сировини трави маруни дівочої відповідали вимогам монографії «Маруни дівочої трава» у ДФУ 2.0 (табл.) за макро- та мікроскопічними

ознаками, окрім форми стебла на поперечному розрізі, типу судин ксилеми, форми та розташування кристалів.

До розділу «Ідентифікація Б» проекту монографії пропонуємо додати такі діагностичні ознаки сировини:

- 1) стебло на поперечному розрізі має більш-менш виражені чисельні ребра, у ребрах субепідермально розташована 5-6-шарова кутова коленхіма; склеренхіма розташована над пучками і між ними, судини ксилеми двох типів – спіральні та пористі;
- 2) на епідермі стебел, листків, листочків обгортки є 4-6-клітинні головчасті волоски;
- 3) у паренхімі ложа кошика містяться схізо-лізигенні вмістища з брунатним вмістом;
- 4) епідерма несправжньоязичкових квіток сосочкоподібна;
- 5) кристали оксалату кальцію представлені поодинокими друзами, розташованими ланцюжками в паренхімі листочків обгортки кошика.

На наступному етапі провели аналіз показників якості ЛРС на 7 серіях трави маруни дівочої, заготовлених на території Житомирської, Київської, Черкаської, Харківської, Сумської, Полтавської та Дніпропетровської областей, та трави сортів Phlora Pleno і White Gem відповідно до вимог ДФУ 2.0 видання [127].

Аналіз зразків проводили згідно з методиками ДФУ 2.0, що описано в розділі 2.2.2 [127]. Отримані результати наведено в табл. 4.2.

Таблиця 4.2

Показники якості трави маруни дівочої та її сортів

Показник	Нормування	Серії трави маруни дівочої							Сорти	
		RS 864	RS 865	RS 866	RS 867	RS 868	RS 869	RS 870	Ph. Pl.	Wh. Gem
Сторонні домішки: стебла із діаметром понад 5 мм	$\leq 10\%$	6,5	3,5	2,5	3,5	4,1	2,5	1,5	5,5	4,3

Продовж. табл. 4.2

Інші сторонні домішки	$\leq 2\%$	1	0,5	1	1,2	0,8	0,7	1	1,1	0,9
Втрата в масі під час висушування	$\leq 10\%$	5,74	5,59	5,78	5,90	6,28	5,81	6,31	6,53	7,32
Загальна зола	$\leq 12\%$	11,2 9	6,62	9,29	9,18	9,58	7,76	10,3 7	9,13	10,24

Як видно з отриманих результатів, усі досліджені зразки трави маруни дівочої та її сортів відповідали вимогам монографії «Маруни дівочої трава» ДФУ 2.0 видання [127]. У зразку із Житомирської області спостерігали найбільшу кількість стебел діаметром понад 5 мм. У зразках із Полтавської та Сумської областей кількість сторонніх домішок була на одному рівні. Втрата в масі під час висушування в зразках трави маруни дівочої коливалась у межах від 5,74 до 6,28 %. У траві сортів спостерігали більш високі показники вологості: для сорту Phlora Pleno – 6,53 %, сорту White Gem – 7,32 %. Показник загальної золи в досліджуваних зразках коливався в межах від 7,76 до 11,29 %. Найвищий вміст загальної золи був у зразку із Житомирської області – 11,29 %, що ймовірно пов'язано із переважанням дерново-підзолистого ґрунту в цій області та свідчить про більший вміст мінеральних речовин.

4.2.1 Ідентифікація партенолідів в траві маруни дівочої та її сортах

Згідно з монографією «Маруни дівочої трава» головним маркером сировини є сесквітерпеновий лактон партенолід, за яким проводять ідентифікацію сировини. Тому наступним етапом було визначення тотожності сировини за цим маркером.

Дослідження проводили на серіях трави маруни дівочої та сортів Phlora Pleno і White Gem. Використовували методику ТШХ-аналізу [127]. Умови приготування

метанольних витягів та хроматографування зазначено в розділі 2. Як речовину порівняння використовували стандартний зразок партеноліду.

Результати ідентифікації партеноліду в зразках подано на рис. 4.1.

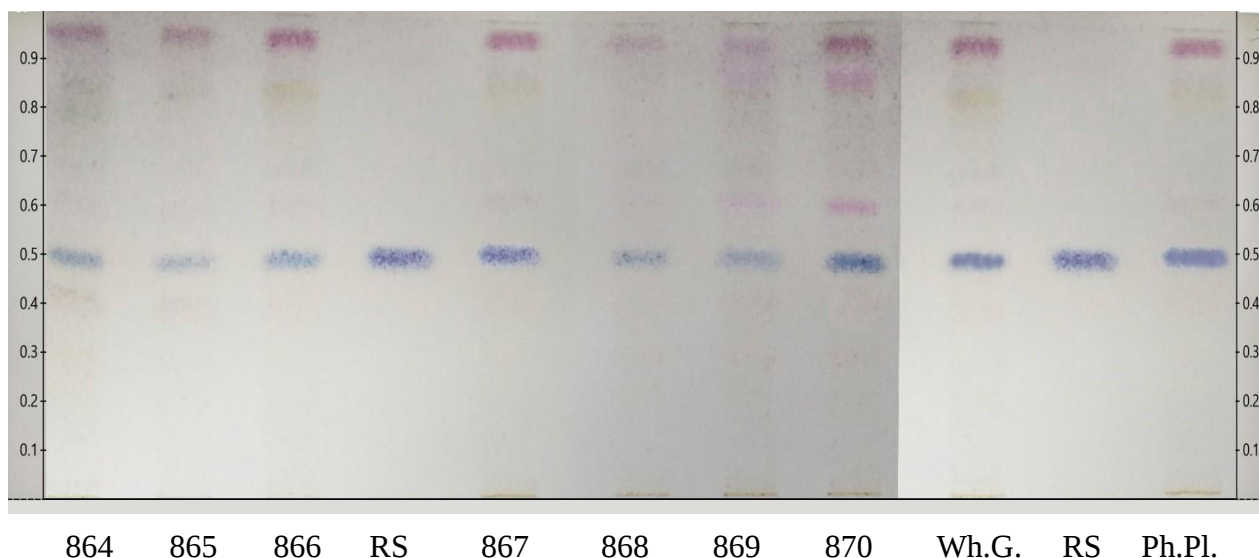


Рис. 4.1 Хроматограма випробовуваних розчинів трави маруни дівочої (RS 864-870), сортів Phlora Pleno, White Gem та стандартного зразка партеноліду – $R_f = 0,5$ (RS)

На хроматограмі спостерігали синю зону на рівні стандартного зразка партеноліду. За однакового забарвлення та форм характерних хроматографічних зон їх інтенсивність дещо відрізняється. Так, наприклад, серед досліджених зразків трави маруни дівочої найбільша інтенсивність зон у зразках із Сумської (RS 866), Дніпропетровської (RS 867) та Київської (RS 870) областей. Найменша інтенсивність забарвлених зон у зразках із Житомирської (RS 864), Черкаської (RS 865) та Полтавської (RS 869) областей. У сортах маруни дівочої інтенсивність ідентифікованих зон була найбільшою, що може свідчити про більший вміст партеноліду.

4.2.2 Кількісне визначення партеноліду в траві маруни дівочої та її сортах

Після ідентифікації партеноліду проводили визначення його кількісного вмісту методом ВЕРХ за методикою ДФУ, наведеною у монографії «Маруни

дівочої трава» (розд. 2). За вимогами ДФУ вміст партеноліду повинен бути не менше 0,2 %.

Експериментальним шляхом визначено, що час утримування партеноліду в описаних умовах складає приблизно 16,3 хв. Типові хроматограми розчину порівняння партеноліду і випробовуваного розчину наведено на рис.4.2 та 4.3.

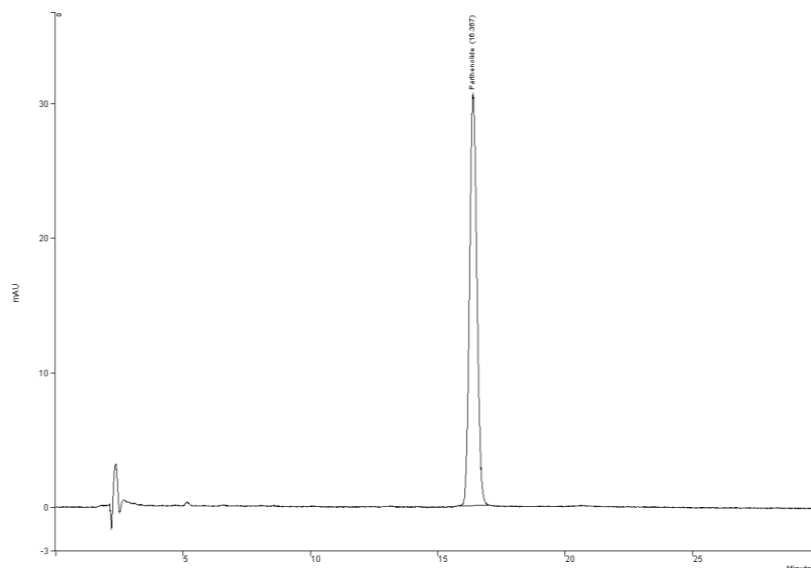


Рис. 4.2 Хроматограма розчину порівняння СЗ партеноліду

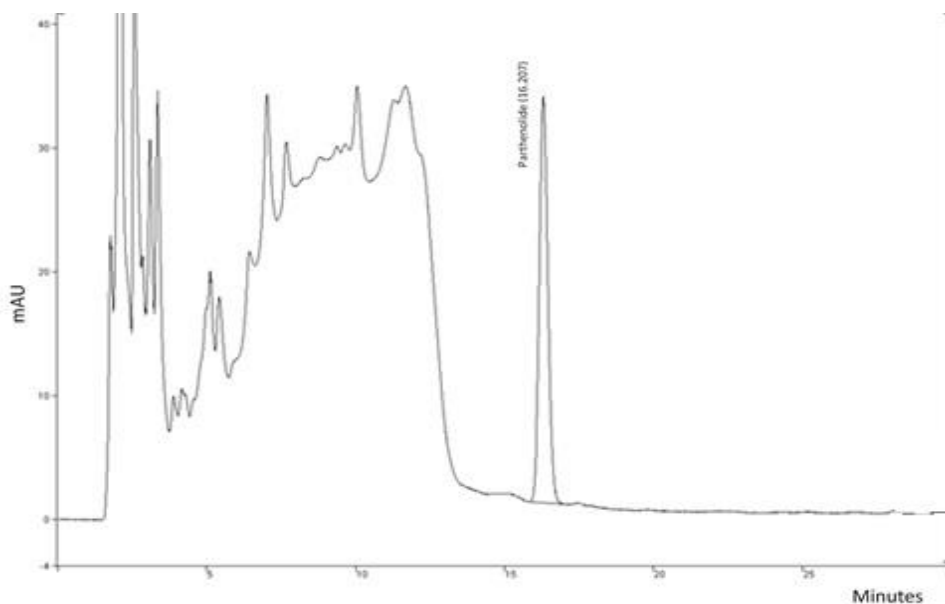


Рис. 4.3 Хроматограма випробовуваного розчину трави маруни дівочої

Результати визначення вмісту партеноліду в зразках трави маруни дівочої та її сортах наведено в таблиці 4.4.

Таблиця 4.4

**Вміст партеноліду в серіях трави маруни дівочої та сортах
Phlora Pleno і White Gem**

Зразок	Вимоги, %	$X_{avr} \pm \Delta X$, %
Серія RS 864	≥ 0.2	$0,22 \pm 0,01$
Серія RS 865		$0,16 \pm 0,06$
Серія RS 866		$0,27 \pm 0,11$
Серія RS 867		$0,26 \pm 0,09$
Серія RS 868		$0,22 \pm 0,02$
Серія RS 869		$0,24 \pm 0,04$
Серія RS 870		$0,39 \pm 0,10$
Сорт Phlora Pleno		$0,56 \pm 0,02$
Сорт White Gem		$0,47 \pm 0,03$

Вміст партеноліду в серіях трави маруни дівочої коливався в межах від 0,16 до 0,39 % залежно від місця заготівлі, що, вірогідно, пов'язано з різними умовами вирощування та кліматичною мінливістю. Найбільший вміст партеноліду виявлено в зразку RS 870 із Київської області – 0,39 %. На одному рівні визначено вміст партеноліду в зразках із Житомирської та Харківської областей – 0,22 %.

Вміст партеноліду в сортах перевищував показники зразків трави маруни дівочої. Так, у траві сорту Phlora Pleno вміст партеноліду склав 0,56 %, а сорту White Gem – 0,47 %. Ці дані підтверджують результати якісного визначення партеноліду методом ТШХ, адже найбільша інтенсивність зон була в зразках із найбільшим вмістом партеноліду – серії RS 866, RS 870 та сорти Phlora Pleno і White Gem.

Отримані дані свідчать про відповідність 6 серій трави маруни дівочої вимогам ДФУ. Високий вміст партеноліду та відповідність іншим вимогами монографії «Трава маруни дівочої» сировини сортів Phlora Pleno та White Gem

свідчить про перспективність подальшого їх дослідження, а також про можливості їх використання як додаткової сировинної бази офіцінального виду.

4.2.3 Верифікація методики кількісного визначення партенолідіду

Для підтвердження достовірності отриманих результатів аналізу кількісного вмісту партенолідіду в зразках трави маруни дівочої проводили верифікацію методики кількісного визначення за такими параметрами: лінійність, правильність та прецизійність.

Методика кількісного визначення має бути лінійною в межах діапазону застосування, який повинен перекривати можливі значення концентрацій діючої речовини. Відповідно до вимог ДФУ діапазон застосування методики кількісного визначення партенолідіду має бути від 50 до 250% (від регламентованого вмісту).

Для підтвердження лінійності методики було приготовано 5 модельних розчинів партенолідіду, концентрація яких відрізнялася рівномірно в межах діапазону застосування (крок – 50%).

На рис. 4.4 наведено графік лінійної залежності площі піку партенолідіду від фактичної концентрації розчину, побудований у нормалізованих координатах.

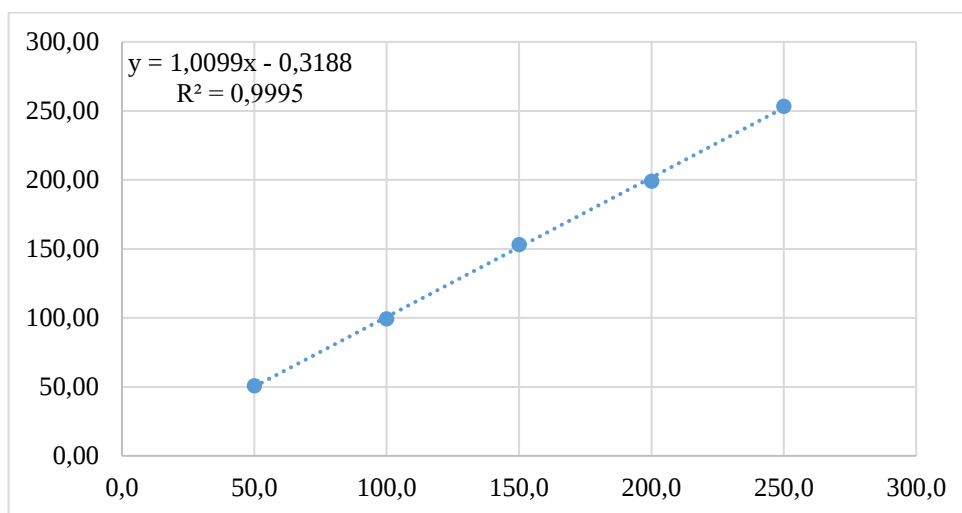


Рис. 4.4 Графік лінійної залежності $Y_i = b \cdot X_i + a$ для стандартного розчину партенолідіду

Критерії прийнятності розраховано відповідно до вимог ДФУ 2.0 та наведено в табл. 4.5.

Таблиця 4.5

Дані перевірки лінійності методики кількісного визначення

Параметр	Вимоги	Отримане значення	Виконання критерію
$ a $	$\leq 4,096$	0,32	Виконується
S_0	$\leq 2,72$	2,57	Виконується
r	$> 0,9821$	0,9998	Виконується

Отримані результати підтверджують, що методика кількісного визначення партеноліду в діапазоні концентрацій від 50 % до 250 % є лінійною.

Для розрахування правильності та прецизійності було визначено загальну невизначеність методу аналізу. Відповідно до вимог ДФУ 2.0 для кількісного визначення (однобічне нормування «не менше») максимальна допускна невизначеність методу аналізу $\max \Delta_{AS} \leq 6.4\%$. Критерії правильності та прецизійності визначали відповідно до вимог ДФУ 2.0, стаття 5.3.N.2. «Валідація аналітичних методик і випробувань». Результати подано в таблиці 4.6.

Таблиця 4.6

Результати оцінювання правильності та прецизійності методу ВЕРХ

Параметри	Значення	Критерій		Виконання критерію
		Вимоги до статистичної незначущості	Вимоги до практичної незначущості	
$ \bar{Z} - 100 $	0.79	$\leq 1.26 \%$	$\leq 2.048 \%$	Виконується
ΔZ	2.83	$\leq 6.4 \%$		Виконується

Методика визначення партеноліду задовольняє критеріям прийнятності валідаційного показника «Правильність» за двома критеріями. Методика характеризується достатньою збіжністю, бо обчислене значення відносного довірчого інтервалу величини (2.83%) менше критичного значення для збіжності результатів (6.4%), і задовольняє критеріям прийнятності валідаційного показника «Прецизійність».

4.3. Розробка національної частини до монографії «Маруни дівочої трава»

За результатами комплексного дослідження фітохімічного профілю вітчизняної сировини, наведеними в розділі 3, виявлено широке різноманіття фенольного складу та високий вміст ідентифікованих сполук. Порівнюючи отримані дані щодо вмісту фенольних сполук у вітчизняних зразках трави маруни дівочої (розд. 3) із даними закордонних дослідників (розд. 1), можемо констатувати очевидну перевагу вітчизняної ЛРС.

Так, наприклад, у траві з Ірану містилось 0,11 % флавоноїдів, з Франції – 1,1 %, з Ізраїлю – 0,54 % [16, 40, 42]. Це у 2,7 – 2,9 раза менше проти даних наших досліджень. Вміст гідроксикоричних кислот також переважав у зразках вітчизняної сировини. Так, вміст хлорогенової кислоти в траві маруни дівочої, заготовленої в Україні, склав 73,56 мкг/мл, що в 10 разів більше від показників для сировини, досліджених у Бразилії (7,91 мкг/мл) [122]. Вміст 3,5-дикафеойлхіної кислоти у вітчизняних зразках склав 120,68 мкг/мл, що у 2,7 раза більше, ніж у сировині, досліджених у Бразилії (44,72 мкг/мл), та у 1,6 раза більше, аніж у сировині, досліджених у Китаї [122, 156].

Базуючись на отриманих результатах дослідження фенольних сполук, можемо висловити припущення, що накопичення цього класу БАР є значніше в зразках сировини, вирощеної в більш північних районах.

Для кількісного визначення фенольних сполук методом спектрофотометрії апробовано декілька уніфікованих методик ДФУ (розд. 3) і з-поміж них виявлено найбільш придатні для досліджуваної сировини.

Для кількісного визначення суми флавоноїдів обрано методику «Глоду листя та квітки N» і визначено вміст від 0,79 до 3,03 %, суми гідроксикоричних кислот – «Кропиви листя» та визначено вміст від 3,34-6,47 % (розд. 3). За результатами проведених досліджень методами ТШХ, СФ та ВЕРХ виявлено, що гідроксикоричні кислоти кількісно перевищували вміст флавоноїдів у сировині.

З огляду на особливості вітчизняної сировини визначено додатковий метод стандартизації трави маруни дівочої та запропоновано національну частину для монографії «Маруни дівочої трава», проєкт якої наведено нижче.

N

МАРУНА ДІВОЧА ^N

Tanaceti parthenii herba

Ідентифікація Б. 4-6-клітинні головчасті волоски; стебло ребристе, у ребрах субепідермально розташована 5-6-шарова кутова коленхіма; склеренхіма розташована над пучками і між ними; судини ксилеми спіральні та пористі; схізолізигенні вмістища з брунатним вмістом у паренхімі ложа кошика; сосочкоподібна епідерма несправжньоязичкових квіток; паренхімні, прямостінні клітини епідерми трубчастих квіток; кристали оксалату кальцію у листочках обгортки представлені друзами.

Ідентифікація С.

Випробовуваний розчин. До 0,5 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 10 мл метанолу Р, нагрівають на водяній бані за температури 60 °С протягом 15 хв, охолоджують і фільтрують, упарюють насуху під зниженим тиском і розчиняють залишок у 2 мл метанолу Р.

Розчин порівняння. 1,5 мг сантину Р розчиняють у метанолі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 1 мл.

Пластика: ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

Рухома фаза: хлороформ Р – метанол Р – оцтова кислота Р (98,4 : 0,8 : 0,8).

Об'єм проб: 10 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 10 см від лінії старту.

Висушування: на повітрі.

Виявлення: переглядають за довжини хвилі 254 нм через 5 хв.

Результати: на хроматограмі випробовуваного розчину виявляється сірувато-фіолетова зона ($R_f = 0,61$).

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Визначення суми гідроксикоричних кислот проводять, як зазначено у монографії «Кропиви листя» [127].

Вихідний розчин. 1,5 г (точна наважка) здрібненої на порошок сировини (350) (2.9.12) поміщають у колбу місткістю 200 мл, додають 90 мл *етанолу (50 %, об/об) Р*, нагрівають зі зворотним холодильником на водяній бані протягом 30 хв, охолоджують до кімнатної температури та фільтрують у мірну колбу місткістю 100 мл крізь тампон із вати. Тампон промивають 10 мл *етанолу (50 %, об/об) Р* і промивну рідину фільтрують у ту саму мірну колбу. Доводять об'єм розчину *етанолом (50%, об/об) Р* до позначки, перемішують. Одержаний розчин фільтрують крізь паперовий фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші 15 мл фільтрату.

Випробовуваний розчин. 1,0 мл вихідного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додають, перемішуючи після кожного додавання, 1 мл 0,5 М розчину хлористоводневої кислоти, 2 мл *свіжоприготованого розчину* 10 г натрію нітриту Р і 10 г натрію молібдату Р у 100 мл води Р, 2 мл натрію гідроксиду розчину розведеного Р, доводять об'єм розчину *водою Р* до позначки та перемішують.

Компенсаційний розчин. 1,0 мл вихідного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додають, перемішуючи після кожного додавання, 2 мл 0,5 М розчину хлористоводневої кислоти і 2 мл *натрію гідроксиду розчину розведеного Р*, доводять об'єм розчину *водою Р* до позначки та перемішують.

Відразу вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину за довжини хвилі 525 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння компенсаційний розчин.

Вміст суми гідроксикоричних кислот, у перерахунку на хлорогенову кислоту, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\frac{A \times 1000}{188 \times m}, \quad (4.5)$$

де: A – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 525 нм;

m – маса наважки випробовуваної сировини, у грамах.

Використовують питомий показник поглинання хлорогенової кислоти, що дорівнює 188.

Розроблену пропозицію національної частини підтверджено Актом впровадження № 11/1330-5 від 28.09.2020 р.

4.4. Динаміка накопичення партеноліду та фенольних сполук у траві маруни дівочої

Для вивчення динаміки накопичення основних БАР у зразках вітчизняної сировини проведено аналіз накопичення партеноліду та фенольних сполук залежно від фази вегетації рослини. Для ідентифікації та кількісного визначення фенольних сполук використовували уніфіковані методики ДФУ. Для дослідження використовували зразки трави маруни дівочої, заготовлені на різних фазах вегетації рослини: розеткоутворення, стеблеутворення, бутонізації, масового цвітіння та плодоношення. Результати вивчення динаміки накопичення партеноліду та фенольних сполук наведено в табл. 4.7.

Таблиця 4.7.

Результати визначення динаміки накопичення партеноліду та фенольних сполук у траві маруни дівочої

Фаза вегетації	Вміст партеноліду, %	Вміст суми флавоноїдів, %	Вміст суми гідроксикоричних кислот, %
Розеткоутворення (10.05 – 25.05.2018)	$0,31 \pm 0,03$	$1,32 \pm 0,03$	$4,49 \pm 0,06$
Стеблеутворення (26.05 – 15.06.2018)	$0,36 \pm 0,02$	$1,73 \pm 0,03$	$5,70 \pm 0,03$
Бутонізація (16.06 – 04.07.2018)	$0,37 \pm 0,03$	$1,79 \pm 0,04$	$5,82 \pm 0,04$

Продовж. табл. 4.7.

Масове цвітіння (05.07 – 20.08.2018)	$0,65 \pm 0,02$	$2,11 \pm 0,02$	$6,21 \pm 0,02$
Плодоношення (21.08 – 10.09.2018)	$0,28 \pm 0,02$	$1,79 \pm 0,05$	$5,74 \pm 0,04$

Проведений аналіз засвідчив, що максимальний вміст партеноліду та суми флавоноїдів і суми гідроксикоричних кислот спостерігають у період масового цвітіння рослини (0,65 %, 2,11 % та 6, 21 % відповідно). У фази стеблеутворення і бутонізації вміст всіх БАР був менший: у 1,7 раза – партенолід, у 1,2 раза – сума флавоноїдів і 1,1 раза – сума гідроксикоричних кислот. У фазу плодоношення вміст суми флавоноїдів і суми гідроксикоричних кислот був у таких же межах, а вміст партеноліду – найменший (0,28 %). Вміст суми флавоноїдів і суми гідроксикоричних кислот був найменший у фазу розеткоутворення.

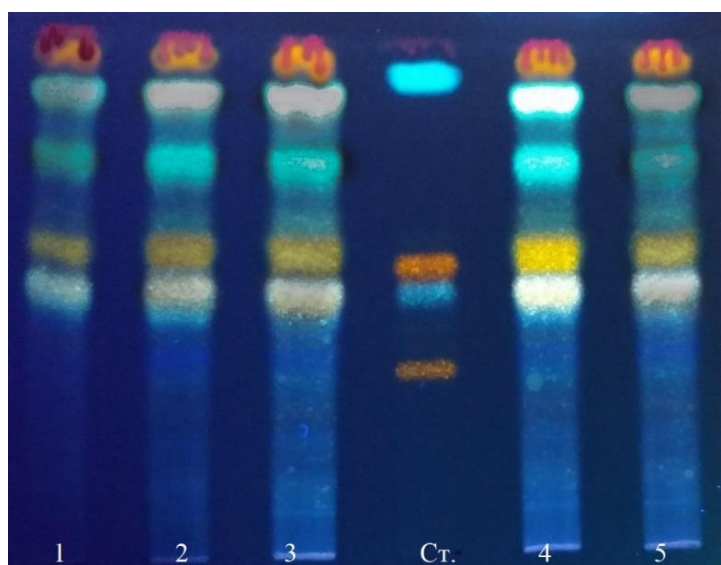


Рис. 4.6 Хроматограма випробовуваних розчинів трави маруни дівочої та розчинів ФСЗДФУ

Примітка. Фази: 1 – розеткоутворення, 2 – стеблеутворення, 3 – бутонізації, 4 – масового цвітіння, 5 – плодоношення, Ст. – ФСЗДФУ рутину, хлорогенової кислоти, гіперозиду та кофейної кислоти.

За результатами якісного визначення фенольних сполук щодо фаз вегетації виявлено на хроматографічному профілі випробовуваних розчинів трави маруни дівочої характерні зони на рівні зон хлорогенової та кофейної кислот.

Отже, найбільший вміст партеноліду та фенольних сполук у вітчизняній сировині маруни дівочої накопичується в період масового цвітіння, тому і заготівлю сировини для вилучення зазначених БАР доцільно проводити від початку липня до кінця серпня.

Висновки до розділу 4

1. Проведено порівняльний аналіз морфолого-анатомічної будови трави маруни дівочої та її сортів. Визначено загальні та відмінні ознаки.
2. Досліджено вітчизняні серії трави маруни дівочої згідно з вимогами ДФУ до якості сировини. Виявлено додаткові діагностичні мікроскопічні ознаки, які запропоновано внести до національної частини монографії «Маруни дівочої трава»: 4-6-клітинні головчасті волоски; стебло ребристе, у ребрах субепідермально розташована 5-6-шарова кутова коленхіма; склеренхіма розташована над пучками і між ними; судини ксилеми спіральні та пористі; схізолізигенні вмістища з брунатним вмістом у паренхімі ложа кошика; сосочкоподібна епідерма несправжньоязичкових квіток; паренхімні, прямостінні клітини епідерми трубчастих квіток; кристали оксалату кальцію у листочках обгортки представлені друзами.
3. Визначено показники якості вітчизняних серій трави маруни дівочої, заготовлених у різних регіонах України, та її сортів *Phlora Pleno* та *White Gem*. Досліджені серії відповідали вимогам ДФУ за показниками якості, окрім серії RS 865 (зразок із Черкаської обл.), що не відповідала нормам кількісного вмісту партеноліду.
4. В усіх серіях трави маруни дівочої та її сортів методом ТШХ згідно з методикою ДФУ ідентифіковано партенолід ($R_f = 0,5$).
5. Визначено вміст партеноліду в серіях сировини маруни дівочої, який коливався від 0,16 % до 0,39 %. Високий вміст партеноліду визначено в сортах *Phlora Pleno* – 0,56 % та *White Gem* – 0,47 %.

6. Проведено верифікацію методики кількісного визначення партеноліду за такими критеріями: лінійність, правильність та прецизійність. Методика визначення партеноліду задовольняла критеріям прийнятності валідаційних показників за необхідними критеріями.

7. Запропоновано до національної частини монографії «Маруни дівочої трава» внести додатково визначення сантину методом ТШХ та вмісту суми гідроксикоричних кислот методом СФ (не менше 2 %).

8. Досліджено динаміку накопичення партеноліду та суми флавоноїдів і суми гідроксикоричних кислот у траві маруни дівочої, визначено оптимальну фазу для накопичення цих БАР і період заготівлі сировини – масове цвітіння.

Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Золотайкіна М. Ю., Сіра Л. М. Морфолого-анатомічні ознаки трави маруни дівочої (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip.). *Фармацевтичний часопис*. 2018. № 1. С. 16–22.

2. Gordey K. R., Gontova T. N. Prospects for pharmacognostic research of *Tanacetum parthenium*. *Topical issues of new drugs development: Abstracts of XXIV International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student*, April 20, 2017. Kharkiv, NUPh: V. 1, p.67.

3. Гордей К. Р., Гонтова Т. М. Підбір екстрагенту та вивчення числових показників трави маруни дівочої. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: III Міжнародна науково-практична інтернет-конференція, 14-15 листоп. 2017 р., Харків, 2017. С. 60–61.

4. Гордей К. Р., Золотайкіна М. Ю., Гонтова Т. М. Сесквітерпенові лактони маруни дівочої. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій*: матеріали Всеукраїнської наук.-практ. конференції з міжнародною участю, 12-13 квітня 2018 р., м. Харків: НФаУ, 2018. С. 262–263.

5. Hordiei K. R., Gontova T. M, Kotova E. E. Analysis of hydroxycinnamic acids content of the feverfew herb depending on the place of cultivation: Abstracts of 9th international conference of Pharmacy *Science and practice*, November 9, 2018 – Kaunas, Lithuania, 2018. p. 31.
6. Гордей К. Р. Гордей К. Р., Гонтова Т. М. Товарознавчий аналіз серій трави маруни дівочої. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали III Міжнар. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 26-28 листоп. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 57.
7. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Яременко М. С., Lina Raudone, Sonata Trumbeckaite. Дослідження профілю фенольних речовин та антирадикальної активності у траві маруни дівочої. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: матеріали IV Міжнародної науково-практичної internet-конференції, м. Харків, 26-27 листопада 2020 р., НФаУ, 2020. С. 82.

РОЗДІЛ 5

РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ОТРИМАННЯ ЕКСТРАКТІВ НА ОСНОВІ ТРАВИ МАРУНИ ДІВОЧОЇ. ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ ДІЇ ОДЕРЖАНИХ ЕКСТРАКТІВ

Технологія отримання лікарського рослинного препарату – комплексний і багатофакторний процес. Якість отриманого екстракту залежить від ретельного підходу до виконання кожного наступного етапу. Для збереження сировинних ресурсів актуальним є комплексна переробка сировини та одержання екстрактів з послідовним використанням різних розчинників.

5.1. Розробка технології отримання густого хлороформного екстракту «Танапарт» та густого водно-спиртового екстракту «Тапацетіл»

Для розробки екстрактів використовували стандартизовану вітчизняну траву маруни дівочої відповідно до вимог монографії «Маруни дівочої трава» ДФУ 2.0 видання. На першому етапі досліджували технологічні параметри сировини. Результати наведено в таблиці 5.1.

Таблиця 5.1

Основні технологічні параметри трави маруни дівочої

Параметри	Одиниці виміру	Результати визначень
Питома маса, d_y	г/см ³	1,18±0,06
Об'ємна густина, d_o	г/см ³	0,34±0,01
Насипна густина, d_n	г/см ³	0,17±0,04
Пористість, P_c		0,70±0,02
Порізність, P_{cl}		0,51±0,02
Вільний об'єм шару, V		0,85±0,01

Результати використано для розробки оптимальної технології отримання екстрактів у лабораторних умовах.

Як екстрагент для максимального виходу екстрактивних речовин із трави маруни дівочої використовували воду та етанол у концентраціях 30%, 50 %, 70 % та 96%. Результати наведено в табл. 5.2.

Таблиця 5.2

**Вміст екстрактивних речовин у траві маруни дівочої залежно від екстрагента
(n = 5)**

Екстрагент	Вміст екстрактивних речовин, %
Вода очищена	33,10±1,49
30 % етанол	26,93±1,50
50 % етанол	30,68±1,24
70 % етанол	35,67±1,60
96 % етанол	25,67±1,48

За результатами аналізу визначено, що вихід екстрактивних речовин найвищий у разі використання води, 50 % та 70 % етанолу.

Зважаючи на літературні дані (розд. 1) та власні дослідження хімічного складу трави маруни дівочої (розд. 3), дійшли висновку, що перспективно використовувати послідовно неполярні розчинники (хлороформ, діетиловий ефір) та етанол для отримання ліпофільного та спиртового екстрактів відповідно.

Під час вибору неполярного екстрагента враховували низку чинників. Насамперед відомо, що діетиловий ефір є прекурсором згідно з таблицею IV списку № 2 Постанови КМУ № 770 «Про затвердження переліку наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів» від 06.05.2000 р., що значно ускладнює та обмежує його використання, на відміну від хлороформу [157]. Також враховували економічний фактор – середня вартість хлороформу нижча майже у 8 разів від вартості діетилового ефіру. Тому для вилучення сполук ліпофільної природи обрано хлороформ.

Для вилучення фенольних сполук у виробництві частіше використовують етанол. Перевагами цього екстрагента є невисока вартість, відносна нетоксичність,

летючість (швидко упарюється), антисептичні властивості в концентраціях понад 70 % [158, 159].

Після дослідження технологічних параметрів трави маруни дівочої сировину зі ступенем подрібнення 2,0 – 3,0 мм завантажували в апарат Сокслета, заливали хлороформом до дзеркала. Циркуляцію екстрагента проводили протягом 2,5 годин за температури 60 °С. Отриману витяжку концентрували за допомогою ротаційного вакуум-випарного апарату до 6,0 г (вологість 8,4 %) за таких умов: температура 60 °С, швидкість обертання – 150 обертів/хв та сила вакууму – 900 мБар. Одержаний густий екстракт під умовною назвою «Танепарт» становив собою в'язку масу темно-зеленого кольору зі специфічним запахом, яка розтягувалась у нитки і знову об'єднувалась у суцільну масу. Шріт висушували і використовували в подальшому для отримання спиртового екстракту.

Наступним етапом технологічної розробки став підбір оптимальних умов екстрагування фенольних сполук зі шроту. У процесі аналізу обрано критерії та тип екстрагента, співвідношення сировини до екстрагента, час екстракції та її тип. У всіх експериментах використовували шріт зі ступенем подрібнення 2,0-3,0 мм та температуру екстракції – 25 °С.

З огляду на дані, наведені в табл. 5.2, для визначення виходу суми фенольних сполук за використання різних концентрацій етанолу було вирішено збільшити діапазон концентрацій та зменшити крок між ними. Для цього обрали етанол у концентраціях: 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % та 90 %. Результати подано в таблиці 5.3.

Таблиця 5.3

Вміст фенольних речовин у витягах зі шроту трави маруни дівочої залежно від концентрації етанолу (n = 5)

Екстрагент	Вміст суми флавоноїдів, %	Вміст суми гідроксикоричних кислот, %
40 % етанол	1,10 ± 0,04	2,72 ± 0,04
50 % етанол	1,18 ± 0,02	2,85 ± 0,04

Продовж. табл. 5.3

60 % етанол	$1,25 \pm 0,05$	$2,91 \pm 0,05$
70 % етанол	$1,31 \pm 0,05$	$3,03 \pm 0,06$
80 % етанол	$1,16 \pm 0,03$	$2,07 \pm 0,02$
90 % етанол	$1,14 \pm 0,04$	$1,97 \pm 0,02$

Як засвідчили результати аналізу, кращим екстрагентом для вилучення фенольних сполук є 70 % етанол, який було обрано для подальшого підбору параметрів екстрагування.

На наступному етапі досліджували співвідношення сировини й екстрагента. Результати аналізу наведено на рис. 5.1 та 5.2.

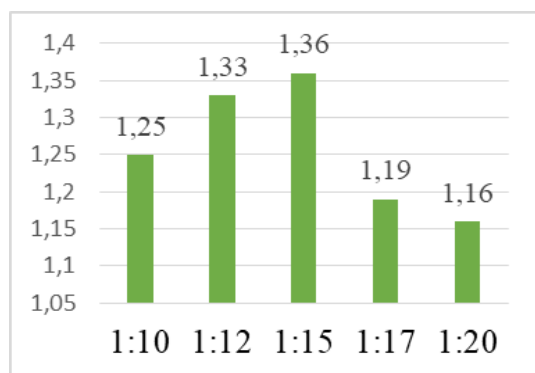


Рис. 5.1 Вміст суми флавоноїдів залежно від співвідношення сировини/екстрагент

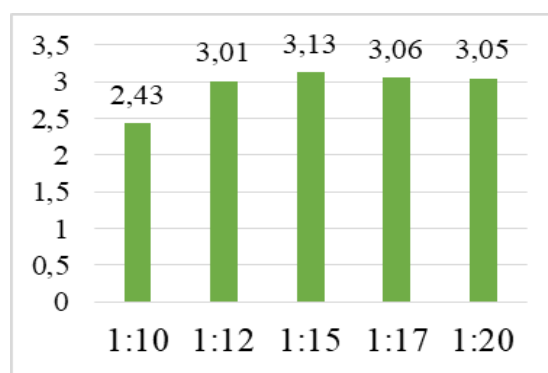


Рис. 5.2 Вміст суми гідроксикоричних кислот залежно від співвідношення сировини/екстрагент

За результатами аналізу визначено, що найбільш ефективними співвідношеннями сировини й екстрагента були 1:12 та 1:15. Однак збільшення співвідношення до 1:15 не давало значного підвищення виходу суми флавоноїдів та суми гідроксикоричних кислот, тому обрано співвідношення 1:12.

Надалі досліджували кратність зливів для найбільш ефективного вилучення суми фенольних сполук.

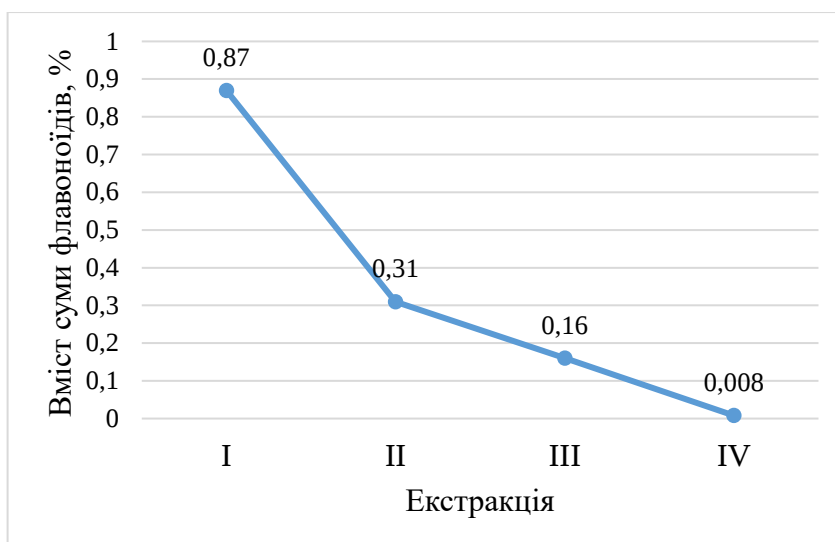


Рис. 5.3 Вміст суми флавоноїдів залежно від кратності екстракцій

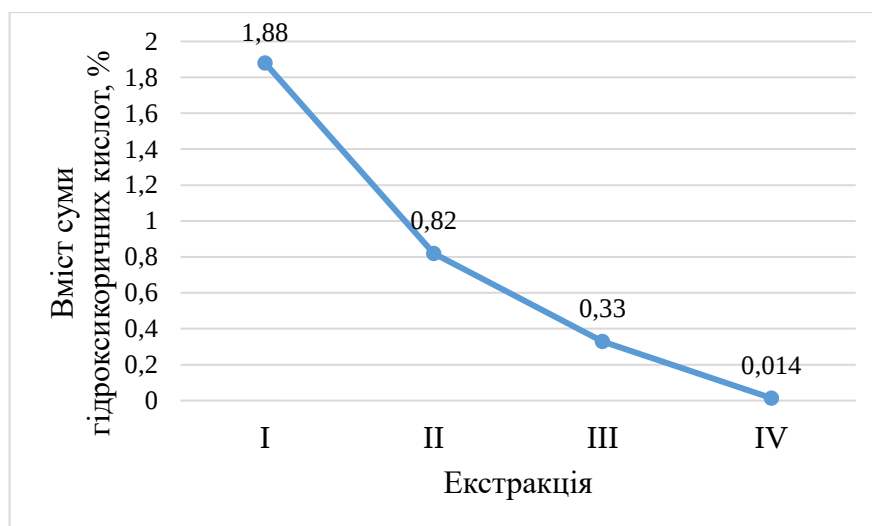


Рис. 5.4 Вміст суми гідроксикоричних кислот залежно від кратності екстракцій

За результатами аналізу, наведеними на рис. 5.3 та 5.4, оптимальною була кратність екстракцій 3, адже збільшення кратності екстракцій до 4-х не призводило до суттєвого збільшення виходу БАР (0,008 та 0,014 %).

Отже, експериментальним шляхом визначено такі оптимальні умови екстрагування: ступінь подрібнення сировини 2,0-3,0 мм, температура екстракції – 25 °С, екстрагент – 70 % етанол, співвідношення сировина /екстрагент – 1:12, час настоювання – 12 годин, кратність екстракцій – 3.

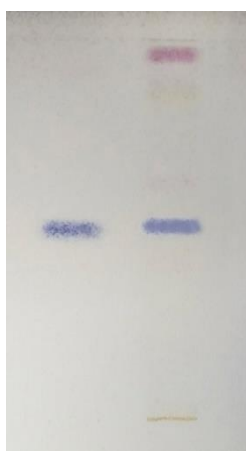
Надалі отримані витяги об'єднували, відфільтровували від сировини, відстоювали протягом 10-12 годин, відфільтровували від осаду та видаляли розчинник за допомогою ротаційного вакуум-випарного апарату до 24 г (вологість 7 %). Одержаний екстракт «Тапацетіл» – темно-коричнева в'язка маса з яскраво вираженим специфічним ароматом.

За даними, отриманими під час розробки технології одержання густого водно-спиртового екстракту трави маруни дівочої «Тапацетіл», оформлено патент на корисну модель № 140385 від 25.02.2020 р. (додаток) «Засіб з протизапальною дією», де викладено технологію отримання густого екстракту трави маруни дівочої та його фармакологічної активності [160].

5.2 Дослідження якісного складу та кількісного вмісту основних БАР екстрактів «Танапарт» і «Тапацетіл»

5.2.1 Визначення партеноліду в екстракті «Танапарт»

Якісне визначення партеноліду в екстракті «Танапарт» проводили методом ТШХ відповідно до методики «Маруни дівочої трава» ДФУ, видання 2.0 [127]. Умови хроматографування наведено в розділі 2. Результати аналізу подано на рис. 5.5.



Ex.1 RS

Рис. 5.5 Хроматограма стандартного зразка партеноліду (RS) та екстракту «Танапарт» (Ex.1)

Як видно з хроматографи, в екстракті ідентифіковано синю зону на рівні стандартного зразка партеноліду ($R_f = 5,5$).

Наступним етапом було кількісне визначення партеноліду в екстракті «Танапарт». Визначення проводили методом ВЕРХ відповідно до методики «Маруни дівочої трава» ДФУ, видання 2.0 [127]. Вміст партеноліду склав $6,48 \pm 0,02 \%$.

Типові хроматограми випробовуваного розчину екстракту «Танапарт» та розчину порівняння партеноліду подано на рис.5.6 та 5.7.

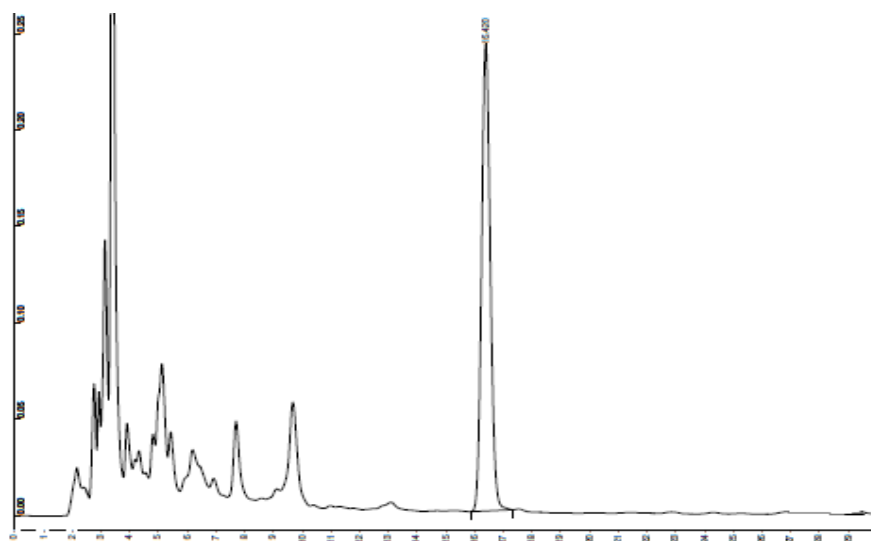


Рис. 5.6 Хроматограма випробовуваного розчину екстракту «Танапарт»

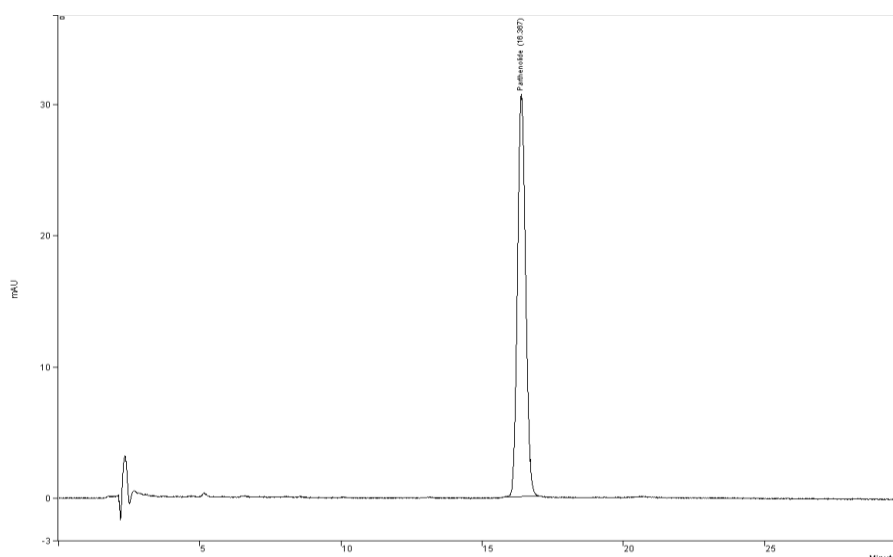
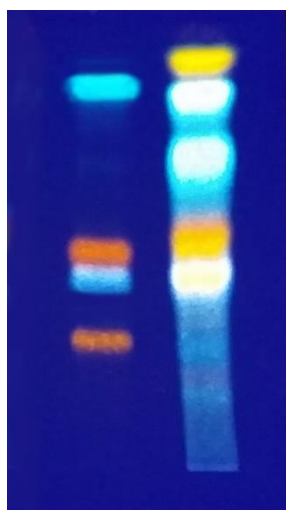


Рис. 5.7 Хроматограма розчину порівняння СЗ партеноліду

Як видно з вищенаведених даних, в екстракті «Танапарт» у значній кількості міститься партенолід.

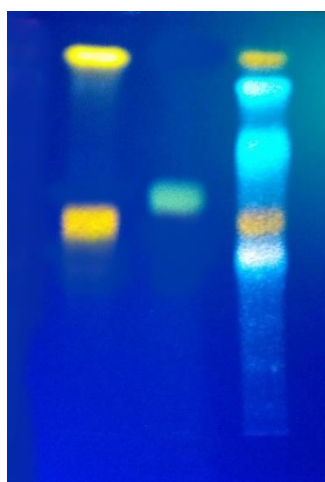
5.2.2 Визначення фенольних сполук у екстракті «Тапацетіл»

Дослідження фенольних сполук методом ТШХ у екстракті проводили згідно з методикою ДФУ з використанням рухомої фази – *мурашина кислота безводна* *P* – *вода очищена* *P* – *метилетилкетон* *P* – *етилацетат* *P* (10 : 10 : 30 : 50) (розд. 2). Результати аналізу подано на рис. 5.8, 5.9.



ФСЗ Ex. 2

Рис. 5.8 Хроматограма екстракту «Тапацетіл» та ФСЗ ДФУ: рутин ($R_f = 0,35$), хлорогенова кислота ($R_f = 0,45$), гіперозид ($R_f = 0,55$), кофейна кислота ($R_f = 0,87$)



1 2 Ex.

Рис. 5.9 Хроматограма екстракту «Тапацетіл» та ФСЗ ДФУ (1– лютеолін $R_f = 0,9$, лютеолін-7-глюкозид $R_f = 0,55$; 2 – апігенін-7-глюкозид $R_f = 0,6$)

На хроматограмі густого екстракту «Тапацетіл» спостерігали 5 зон, з яких зони блакитної флуоресценції відповідали зонам розчинів порівняння хлорогенової та кофейної кислот, а зони жовтої та яскраво-жовтої флуоресценції були на рівні зон розчинів порівняння лютеоліну та лютеолін-7-глюкозиду.

Фенольний профіль густого екстракту «Тапацетіл» досліджено також методом ВЕРХ за методикою, наведеною в розділі 2. За результатами аналізу виявлено 12 сполук та визначено їх кількісний вміст (табл. 5.4). Загальна сума ідентифікованих сполук склала 72432,09 мкг/г

Таблиця 5.4

Фенольні сполуки екстракту «Тапацетіл»

Сполуки	Вміст, мкг/г
Апігенін	2021,60 ± 43,55
Кверцетин	579,62 ± 5,74
Хлорогенова кислота	9593,99 ± 32,95
4-О-кофеїлхінна кислота	2072,92 ± 4,60
3,4-дикофеїлхінна кислота	27304,75 ± 113,37
3,5-дикофеїлхінна кислота	9341,57 ± 53,29
4,5-дикофеїлхінна кислота	14631,30 ± 116,28
Неохлорогенова кислота	2545,30 ± 6,54
Кемпферол-3-рутинозид	1193,07 ± 4,60
Елагова кислота	739,10 ± 1,70
Рутин	1901,08 ± 54,94
Ізокверцетрин	507,79 ± 19,85
Загальна сума сполук	72432,09

Як свідчать отримані результати, вміст суми гідроксикоричних кислот значно вищий за вміст суми флавоноїдів. Отримані дані підтверджують попередні

дослідження ідентифікації фенольних сполук у спиртовому екстракті методом ТШХ, де найбільш інтенсивними зонами є зони гідроксикоричних кислот. У найбільшій кількості містилась 3,4-дікофеїлхінна кислота (27304,75 мкг/г), на частку якої припадає близько 37,6 % від усіх обрахованих сполук.

Окремо визначено кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот та суми флавоноїдів у густому екстракті «Тапацетіл» за уніфікованими методиками ДФУ (розд. 2). У результаті дослідження кількісний вміст суми флавоноїдів у перерахунку на гіперозид становив $5,16 \pm 0,03\%$, а кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту – $13,92 \pm 0,02\%$.

5.2.3 Дослідження антирадикальної активності

Антирадикальну активність густого екстракту «Тапацетіл» досліджували методами СФ та ВЕРХ.

У результаті аналізу методом спектрофотометрії з'ясували, що значення зв'язування вільних радикалів становить $620,19 \pm 4,53$ мкмоль/г. Методом ВЕРХ визначено індивідуальні речовини фенольної природи, що мають антирадикальні властивості (рис. 5.10, табл. 5.5).

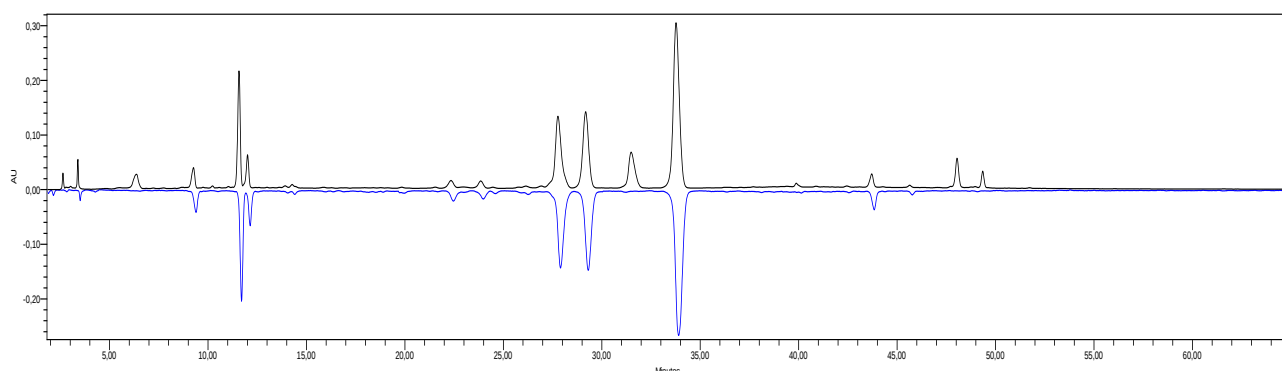


Рис. 5.10 Хроматограма фенольних сполук з антирадикальною активністю густого екстракту «Тапацетіл»

Таблиця 5.5

**Дослідження якісного складу сполук фенольної природи, що виявляють
антирадикальні властивості в екстракті «Тапацетіл»**

Об'єкт дослідження	Сполука	t _R , хв	ТЕАС*, мкг/г
Екстракт «Тапацетіл»	Хлорогенова кислота	11,70	3118,10
	Рутин	22,46	476,62
Загальна сума	27285,52		

Примітка. * – ТЕАС – Тролокс–еквівалент антирадикальної ємності (мкмоль) у зразках (г) сухої маси.

Під час дослідження в густому екстракті «Тапацетіл» виявлено 11 сполук з антирадикальною активністю, з них ідентифіковано хлорогенову кислоту та рутин. Загальна сума Тролокс–еквівалент антирадикальної ємності досліджуваного екстракту склала 27285,52 мкг/г. Найбільший внесок у загальну антирадикальну активність зробили неідентифіковані сполуки з часом утримування 33,9 хв (близько 39 % від усіх ідентифікованих сполук), 27,90 хв (18,10 %) та 29,31 хв (18,08 %). Найпевніше, усі ці сполуки є дериватами кофеїлхіної кислоти. Вміст хлорогенової кислоти склав 11,43 % від усіх ідентифікованих сполук, а рутину – 1,75 %.

5.3 Стандартизація екстрактів «Танапарт» і «Тапацетіл»

У результаті проведених досліджень щодо якісного складу та кількісного вмісту БАР екстрактів трави маруни дівочої було вирішено ідентифікувати та визначати кількісний вміст екстракту «Танапарт» за наявністю партенолідів, а екстракту «Тапацетіл» – фенольних сполук.

5.3.1 Проєкт МКЯ на густий хлороформний екстракт трави маруни дівочої «Танапарт»

Стандартизацію густого хлороформного екстракту «Танапарт» проводили за основними показниками, що їх використовують для стандартизації трави маруни дівочої, зокрема за вмістом партеноліду. Специфікацію до проєкту МКЯ наведено в табл. 5.6.

Таблиця 5.6

Специфікація до проєкту МКЯ густого екстракту трави маруни дівочої «Танапарт»

Найменування показника	Допускні межі	Результати	Методи контролю
1	2	3	4
Опис	Темно-зелена в'язка маса з яскраво вираженим специфічним ароматом	Відповідає	За п. 1 Візуально, органолептично
Ідентифікація	Високоєфективна рідинна хроматографія. На хроматограмі випробовуваного розчину отриманого для визначення кількісного вмісту партеноліду (п. 5), час утримання партеноліду має відповідати часу утримання партеноліду на хроматограмі порівняння.	Відповідає	За п. 2 ДФУ, 2.2.29 Метод ВЕРХ
Випробування			
Сухий залишок	Не менше 85 % (м/м), визначення проводять з 2,0 г екстракту	91,6 %	За п. 3 ДФУ (2.8.16 ^N)

Продовж. табл. 5.6

1	2	3	4
Мікробіологічна чистота	Загальне число мікроорганізмів не більше 100 бактерій і грибів сумарно в одному грамі препарату. Не допускається вміст ентеробактерій та деяких інших грам-негативних бактерій в одному грамі препарату. А також не повинно бути <i>Staphylococcus aureus</i> та <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в одному грамі препарату.	Відповідає	За п. 4 ДФУ, 2.6.12; 2.6.13; 5.1.4, категорія 2
Вміст партеноліду	Не менше 2,5 %	6,48 %	За п. 5 ДФУ, 2.2.29

5.3.2 Проєкт МКЯ на густий водно-спиртовий екстракт трави маруни дівочої «Тапацетіл»

Стандартизацію густого водно-спиртового екстракту «Тапацетіл» вирішено проводити за основними показниками, які використовують для стандартизації трави маруни дівочої, зокрема за вмістом фенольних сполук. Специфікацію до проєкту МКЯ наведено в табл. 5.7.

Таблиця 5.7

Специфікація до проєкту МКЯ густого екстракту трави маруни дівочої «Тапацетіл»

Найменування показника	Допускні межі	Результати	Методи контролю
1	2	3	4
Опис	Темно-коричнева в'язка маса з яскраво вираженим специфічним ароматом	Відповідає	За п. 1 Візуально, органо-лептично

Продовж. табл. 5.7

1	2	3	4
Ідентифікація	На хроматограмі ТШХ випробовуваного розчину зони хлорогенової та кофейної кислот мають відповідати зонам на хроматограмі розчину порівняння.	Відповідає	За п. 2 ДФУ, 2.2.27
	Випробування		
Сухий залишок	Не менше 85 % (м/м), визначення проводять з 2,0 г екстракту	93 %	За п. 3 За ДФУ (2.8.16 ^N)
Мікробіологічна чистота	Загальне число мікроорганізмів не більше 100 бактерій і грибів сумарно в одному грамі препарату. Не допускається вміст ентеробактерій та деяких інших грам-негативних бактерій в одному грамі препарату. А також не повинно міститися <i>Staphylococcus aureus</i> та <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в одному грамі препарату.	Відповідає	За п. 4 ДФУ, 2.6.12; 2.6.13; 5.1.4, категорія 2
Вміст суми гідроксикоричних кислот	Не менше 10 % у перерахунку на хлорогенову кислоту	13,92 %	За п. 5.1 ДФУ, 2.2.25
Вміст суми флавоноїдів	Не менше 2,5 % у перерахунку на гіперозид	5,16 %	За п. 5.2 ДФУ, 2.2.25

5.4 Дослідження фармакологічної активності екстрактів «Танапарт» і «Тапацетіл»

5.4.1 Антибактеріальна та антигрибкова дія екстрактів «Танапарт» і «Тапацетіл»

Антибактеріальну та антигрибкову активність екстрактів маруни дівочої «Танапарт» і «Тапацетіл» досліджено в умовах експерименту *in vitro* відповідно до методики, наведеної в розділі 2. З'ясовано, що такі культури бактерій, як *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Proteus vulgaris* проявляли значну чутливість до дії екстракту (табл. 5.8).

Таблиця 5.8

Антибактеріальна та антигрибкова активність екстрактів трави маруни дівочої (n=3)

Досліджувані штами	Екстракт «Тапацетіл»	Екстракт «Танапарт»
	Діаметри зон затримки зростання, мм ($M \pm m$) ($p \leq 0,05$)	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	26,00 $\pm$ 1,60	24,33 $\pm$ 0,93
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	21,33 $\pm$ 0,92	22,33 $\pm$ 0,93
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	20,00 $\pm$ 0,91	20,67 $\pm$ 0,93
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	20,67 $\pm$ 0,92	21,67 $\pm$ 0,93
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	25,00 $\pm$ 1,60	24,33 $\pm$ 0,93
<i>Candida albicans</i> ATCC 653/885	19,00 $\pm$ 1,60	17,67 $\pm$ 0,93

У результаті проведеного дослідження визначено, що всі використані штами мікроорганізмів чутливі до дії екстрактів. Найбільш чутливими були культури *Staphylococcus aureus* та *Bacillus subtilis*. Так, діаметр зон затримки зростання *Staphylococcus aureus* для екстракту «Тапацетіл» склав 26,00 мм, що було більше в 1,1 раза, ніж для екстракту «Танапарт»; щодо культури *Bacillus subtilis* для екстракту «Тапацетіл» – 25,00 мм, що також було більше в 1 раз, ніж для екстракту «Танапарт». Для екстракту «Танапарт» показники затримки зростання культур *Escherichia coli* та *Pseudomonas aeruginosa* були на одне значення вищі, ніж для екстракту «Тапацетіл».

Густі екстракти трави маруни дівочої виявляли значну антигрибкову активність. Так, діаметр зон затримки зростання дріжджоподібного гриба *Candida albicans* для екстракту «Тапацетіл» був у 1,1 раза більший (19,00 мм), аніж для екстракту «Танапарт» (17,67 мм).

Якщо порівнювати екстракти між собою за антибактеріальною та антигрибковою діями, то вони діяли на штами мікроорганізмів та грибка майже на одному рівні.

5.4.2 Протизапальна активність екстракту «Тапацетіл»

Вплив густого водно-спиртового екстракту «Тапацетіл» на розвиток запалення оцінювали в щурів на моделі карагенінового набряку (розд. 2).

Аналіз результатів свідчить, що екстракт виявляв найбільшу протизапальну активність у дозі 50 мг/кг на рівні 78,3 % протягом 2 годин, через 24 години спостерігали зменшення активності до 63,5 %; у дозі 25 мг/кг на рівні 72,6 % протягом 2 годин, через 24 години спостерігали зменшення до 62,6 %. Досліджуваний екстракт не поступався препаратам порівняння диклофенаку (48,3 – 80,9 %) та кверцетину (14,4 – 75,8%) протягом всього періоду дослідження [159].

Вплив екстракту на розвиток запалення оцінювали також на моделі гістамінового набряку (розд. 2). Отримані результати свідчать, що досліджуваний

екстракт у дозі 50 мг/кг на моделі гістамінового набряку виявляє протизапальну активність на рівні 57,8; 51,8; та 49,1 % відповідно на 30 хвилину, 1 та 1,5 годину набряку.

За виразністю протизапальної активності протягом першої години екстракт не поступався препарату порівняння НПЗЗ диклофенаку натрію, інгібітору ліпооксигенази кверцетину, антигістамінному препарату лоратадину та перебуває з останнім на одному рівні. Це свідчить про здатність екстракту чинити гальмівний вплив на медіатори ранньої фази запалення – біогенні аміни (гістамін) та лейкотрієни.

Отже, екстракт «Тапацетіл» виявляє виражену протизапальну дію [159].

5.4.3 Аналгетична активність екстракту «Танапарт»

Проведення базового тесту «гаряча пластинка» спрямовано на вивчення антиноцицептивної активності досліджуваного екстракту за соматичного поверхневого гострого болю, тоді як тест «оцтовокислі корчі» дає можливість зробити висновок щодо активності ліпофільного екстракту «Танапарт» за гострого вісцерального та соматичного глибокого болю [146]. Отримані результати наведено в табл. 5.9 та 5.10.

У тесті «гаряча пластинка» аналгетичний ефект проявлявся як достовірне збільшення латентного часу розвитку реакції на ноцицептивний стимул проти первинної больової чутливості тварин. За результатами проведеного дослідження визначено, що найбільш виражену аналгетичну активність ($p < 0,05$) чинили диклофенак натрію (21,69-77,94%) та метамізол натрію (41,18-77,14%) з піком на 2 годину. Також саме в цей період екстракт «Танапарт» чинив найбільш виражену аналгетичну активність, яка склала 36,67% ($p < 0,05$).

Таблиця 5.9

Аналгетична активність екстракту «Танапарт» у тесті «гаряча пластинка»

Умови експерименту	Латентний період реакції на ноцицептивну стимуляцію, с		
	вихідні дані (до введення)	2 год	АА, %
Екстракт «Танапарт», 50 мг/кг	552 (498; 624)	468 (372; 522)	36,67 ^{*/@/¥} (32,72; 47,61)
Диклофенак натрію, 8 мг/кг	432 (408; 444)	726 (714; 834)	77,94* (60,81; 87,84)
Метамізол натрію, 500 мг/кг	420 (408; 456)	744 (696; 792)	77,14* (73,85; 90,79)

Примітки:

1. АА – аналгетична активність, %;
2. * – достовірно щодо вихідних даних, $p < 0,05$;
3. @ – достовірно щодо диклофенаку натрію, $p < 0,05$;
4. ¥ – достовірно щодо метамізолу натрію, $p < 0,05$;
5. n – кількість тварин у групі.

У тесті «оцтовокислі корчі» аналгетичний ефект виражався як достовірне зниження прояву специфічної реакції на хімічні подразники – кількість «корчів» проти больової чутливості тварин з групи контрольної патології. Аналгетична активність екстракту «Танапарт» склала 60,53 %.

Таблиця 5.10

**Аналгетична активність екстракту «Танапарт»
у тесті «оцтовокислі корчі»**

Умови досліджу	Кількість «корчів»	АА, %
Контрольна група, (n=9)	19 (9; 23,00)	—
Екстракт «Танапарт», 50 мг/кг, (n=9)	7,5 (1,5; 11,25)	60,53*
Диклофенак натрію, 8 мг/кг, (n=9)	1,0 (0; 2,0)	94,74*

Примітки:

1. АА – аналгетична активність, %;
2. * – достовірно щодо вихідних даних, $p < 0,05$;
3. n – кількість тварин у групі.

Отже, отримані результати свідчать, що в реалізації аналгетичної дії екстракту «Танапарт» беруть участь периферичні та центральні механізми формування болю.

Висновки до розділу 5

1. Уперше визначено технологічні параметри сировини маруни дівочої: питому масу, об'ємну та насипну густину, пористість, порізність та вільний об'єм шару. За виходом екстрактивних речовин найбільш доцільними екстрагентами були 50 % та 70 % етанол – вихід сягав понад 33 %.

2. Для отримання густого екстракту «Танапарт» оптимальним обрано метод циркуляційної екстракції, екстрагент – хлороформ, час екстракції – 2,5 години.

3. Для отримання густого екстракту «Тапацетіл» оптимальним екстрагентом обрано 70 % етанол, час настоювання – 12 годин, співвідношення сировина/екстрагент – 1:12, кратність екстракцій – 3, температура екстракції – 25 °С. На технологію «Тапацетіл» отримано патент на корисну модель.

4. Уперше в екстракті «Танапарт» методом ТШХ та ВЕРХ ідентифіковано та визначено кількісний вміст партеноліду. Ідентифіковано синю зону на рівні стандартного зразка партеноліду ($R_f = 0,5$). Вміст партеноліду в досліджуваному екстракті «Танапарт» склав $6,48 \pm 0,02 \%$.

5. Уперше досліджено якісний склад та кількісний вміст сполук фенольної природи в екстракті «Тапацетіл». Методом ТШХ ідентифіковано: хлорогенову та кофейну кислоти, лютеолін, лютеолін-7-глюкозид. Методом ВЕРХ ідентифіковано 12 сполук загальною сумою 72432,09 мкг/г. У найбільшій кількості містилась 3,4-дикофеїлхінна кислота (27304,75 мкг/г).

6. Уперше досліджено якісний склад сполук, що виявляли антирадикальну активність у екстракті «Тапацетіл». В екстракті виявлено 11 сполук зі здатністю зв'язувати вільні радикали, з них ідентифіковано хлорогенову кислоту та рутин. Загальна сума Тролокс-еквівалент антирадикальної ємності досліджуваного екстракту склала 27285,52 мкг/г. Вміст хлорогенової кислоти склав 11,43 % від усіх ідентифікованих сполук, а рутину – 1,75 % відповідно.

7. Розроблено проекти МКЯ на екстракти «Танапарт» і «Тапацетіл».

8. Уперше проведено дослідження фармакологічної активності екстрактів трави маруни дівочої «Танапарт» і «Тапацетіл». Підтверджено антибактеріальну, антигрибкову, протизапальну та анальгетичну активність екстрактів. Екстракт «Тапацетіл» виявляв протизапальну активність у дозі 50 мг/кг на моделях карагенінового та гістамінового набряку. Анальгетична активність екстракту «Танапарт» у дозі 50 мг/кг складала 60,53 %.

Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. Гордей К. Р., Гонтова Т. М. Підбір екстрагенту та вивчення числових показників трави маруни дівочої. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали III

Міжнародної наук.-практ. інтернет-конференції, 14-15 листоп. 2017 р. Харків, 2017. С. 60–61.

2. Гордей К. Р., Гонтова Т. М. Визначення технологічних параметрів трави маруни дівочої. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів* : матеріали II Міжнародної наук.-практ. дистанц. конф., м. Харків, 1-2 берез. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 69–70.

27. Гордей К. Р., Гонтова Т. М. Товарознавчий аналіз серій трави маруни дівочої. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали III Міжнар. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 26-28 листоп. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 57.

3. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Котова Е. Е., Кириченко І. В., Міщенко О. Я. Перспективи комплексного використання трави маруни дівочої для створення екстрактів з анальгетичною та протизапальною дією. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, м. Харків, 19-20 вересня 2019 р, НФаУ, С. 279–280.

4. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Осолодченко Т. П., Кириченко І. В., Веля М. І., Рубан О. А. Дослідження антимікробної активності густого екстракту з трави маруни дівочої (*Tanacetum parthenium* (L.) Schulz Bip.). *Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації*: мат. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 22-23 жовтня 2019 р., НФаУ, 2019. С. 333–340.

5. Karyna Hordiei, Tetiana Gontova, Elina Kotova, Mariia Velia, Olena Ruban. Research on the chemical composition and standartisation of the feverfew thick extract. *Sciences and Practice: 10th International Pharmaceutical Conference November 15, 2019* – Kaunas, Lithuania, 2019. p. 32.

6. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Осолодченко Т. П., Міщенко О. Я., Кириченко І. В., Веля М. І., Рубан О. А. До фармакологічної активності густого екстракту з трави маруни дівочої (*Tanacetum parthenium* (L.) Schulz Bip.) *Сучасні досягнення та*

перспективи розвитку анітерапії в Україні: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 25 січ. 2020 р. – Харків : Вид-во «Оригінал», 2020. С. 61–62.

7. Гордєй К. Р., Гонтова Т. М. Стандартизація густого ліпофільного екстракту із трави маруни дівочої. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії: матеріали V Міжнар. наук.-практ. інтернет – конф., м. Харків, 26 листопада 2020 р. – Х. : Вид-во НФаУ, 2020. – С. 152–153.*

8. Засіб з протизапальною дією : пат. 140385 України. / Гонтова Т.М., Гордєй К.Р., Міщенко О.Я., Кириченко І.В., Калько К.О., Котов А.Г. № u 2019 07427 ; заявл. 04.07.2019 ; опубл. 25.02.2020, Бюл. № 4.

ВИСНОВКИ

У науковій роботі наведено результати теоретичного узагальнення і практичного вирішення завдань, що полягають у комплексному фармакогностичному вивченні трави маруни дівочої та її сортів Phlora Pleno і White Gem, визначенні особливостей хімічного складу вітчизняної сировини, розробці відповідної аналітично-нормативної документації на сировину трави маруни дівочої, отриманні та стандартизації рослинних екстрактів та попередньому вивченні фармакологічних властивостей.

1. Проаналізовано наукові першоджерела щодо систематичного положення маруни дівочої та її сортів, морфолого-анатомічної будови й хімічного складу, наявних сьогодні підходів до стандартизації трави маруни дівочої. Визначено сучасний стан поширення маруни дівочої та її сортів, сировинні запаси рослин на території України. Досліджено сучасні напрями фармакологічних досліджень трави маруни дівочої.

2. Визначено морфолого-анатомічні діагностичні ознаки трави маруни дівочої та її сортів Phlora Pleno і White Gem. Виявлено додаткові діагностичні мікроскопічні ознаки трави маруни дівочої, які запропановано внести до національної частини монографії «Маруни дівочої трава»: 4-6-клітинні головчасті волоски; стебло ребристе, у ребрах субепідермально розташована 5-6-шарова кутова коленхіма; склеренхіма розташована над пучками і між ними; судини ксилеми спіральні й пористі; схізо-лізигенні вмістища з брунатним вмістом у паренхімі ложа кошика; сосочкоподібна епідерма несправжньоязичкових квіток; паренхімні, прямостінні клітини епідерми трубчастих квіток; кристали оксалату кальцію у листочках обгортки представлені друзами.

3. Проведено фітохімічний аналіз вітчизняних зразків трави маруни дівочої, на основі чого ідентифіковано та визначено кількісний вміст: сесквітерпенового лактону партенолід, 35 карбонових кислот (з них 21 насичена, 5 ненасичених і 9 ароматичних); 44 компонентів ефірної олії; 2 хлорофілів, 1 каротиноїду; 14 сполук фенольної природи (з них уперше ідентифіковано: кверцетин, кемпферол-3-

рутинозид, 4-О-кофеїлхінна, 4,5-дикофеїлхінна, неохлорогенова кислоти), 14 макро- та мікроелементів. У сортах Phlora Pleno та White Gem ідентифіковано та визначено кількісний вміст: партеноліду, 35 карбонових кислот (з них 21 насичена, 5 ненасичених і 9 ароматичних), 37 компонентів ефірної олії в сорті Phlora Pleno та 34 в сорті White Gem; 14 сполук фенольної природи; 14 макро- та мікроелементів.

4. Розроблено методику ідентифікації ліпофільного флавоноїду сантину методом ТШХ у траві маруни дівочої. Спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст суми флавоноїдів (від 0,79 до 3,03 %) та суми гідроксикоричних кислот (від 3,34 до 6,47 %). Домінантним компонентом у зразках трави маруни дівочої була 3,5-дикофеїлхінна кислота (від до 5402,57 до 11276,17 мкг/г)

5. Вивчено накопичення партеноліду, флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у траві маруни дівочої та запропоновано оптимальні терміни заготівлі сировини – період масового цвітіння, у ході якого накопичується найвищий вміст партеноліду – $0,65 \pm 0,02$ %, суми флавоноїдів $2,11 \pm 0,02$ % та суми гідроксикоричних кислот – $6,21 \pm 0,02$ %.

6. Стандартизовано вітчизняну сировину маруни дівочої відповідно до вимог ДФУ. Запропоновано до національної частини монографії ДФУ «Маруни дівочої трава» додати визначення вмісту суми гідроксикоричних кислот методом СФ (не менше 2 %), що підтверджено відповідним актом впровадження у практичну діяльність та навчальний процес.

7. Розроблено технологію одержання з трави маруни дівочої густого ліпофільного екстракту під умовною назвою «Танапарт», проведено його стандартизацію. Уперше методом ТШХ та ВЕРХ визначено партенолід у екстракті (вміст – $6,48 \pm 0,02$ %). Зі шроту після отримання ліпофільного екстракту отримано густий водно-спиртовий екстракт під умовною назвою «Тапацетіл», проведено його стандартизацію. Новизну досліджень підтверджено патентом на корисну модель № 140385 від 25.02.2020 р. Уперше методом ВЕРХ ідентифіковано та визначено вміст 12 сполук фенольної природи в екстракті «Тапацетіл».

8. Розроблено проєкти МКЯ на отримані лікарські рослинні засоби «Тапацетіл екстракт густий» та «Танапарт екстракт густий».

9. Уперше проведено дослідження фармакологічної активності екстрактів трави маруни дівочої «Танапарт» і «Тапацетіл». Підтверджено *in vitro* антибактеріальну та протигрибкову активність екстрактів; протизапальну активність екстракту «Тапацетіл» встановлено на моделях карагенінового та гістамінового набряків; аналгетичну активність екстракту «Танапарт» визначено у тестах «гаряча пластинка» та «оцтовокислі корчі». Обидва екстракти виявляли найвищу фармакологічну активність у дозі 50 мг/кг.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Pareek A., Suthar M., Rathore G., Bansal V. Feverfew (*Tanacetum parthenium* L.): A systematic review. *Pharmacogn Rev.* 2011. Vol. 5, № 9. P. 103–110.
2. The Plant List. URL: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/gcc-36373> (Date of access: 29.03.2021).
3. Ильина Т. Лекарственные растения. Большая иллюстрированная энциклопедия. Москва : Эксмо, 2011. 286 с.
4. Abad M. J., Bedoya L. M. Essential Oils from the Asteraceae Family Active against Multidrug-Resistant Bacteria, Fighting Multidrug Resistance with Herbal Extracts, Essential Oils and Their Components. *Academic Press.* 2013. P. 205–221.
5. Chavez M., Chavez P. Feverfew. *Hosp Pharm.* 1999. № 34. P. 436–461.
6. Arriagada J. E., Miller N. G. The genera of Anthemideae (Compositae: Asteraceae) in the southeastern United States. *Bot.* 1997. № 2. P. 1–46.
7. Watson L. E., Evans T. M., Boluarte T. Molecular phylogeny of the tribe Anthemideae (Asteraceae), based on chloroplast gene *ndhF*. *Molec. Phylogen. Evol.* 2000. № 15. P. 59–69.
8. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР / под ред. П. С. Чикова. Москва, 1983. 340 с.
9. Setty A. R., Sigal A. H. Herbal medications commonly used in the practice of rheumatology: Mechanisms of action, efficacy, and side effects. *Semin Arthritis Rheum.* 2005. № 34. P. 773–84.
10. Гурська О. В., Пида С. В. Особливості росту та розвитку піретруму дівочого, інтродукованого в умовах Західного лісостепу України. *Біологічний вісник МДПУ ім. Б. Хмельницького.* 2014. № 2. С. 34–42.
11. Машковська С. П. Цілющий піретрум у дизайні саду. *Квіти України.* 2011. № 4 (122). С. 27–29.
12. Jakob K., Bramm A., Rühl G. Heimische Kultivierung der Arzneipflanze *Tanacetum parthenium* zur Entwicklung eines Arzneimittels zur Migräneprophylaxe. *Landbauforschung Völkenrode.* 2007. № 57. P. 33–41.

13. Машковская С. П. Миниатюрный родственник. *Огородник*. 2005. № 10. С. 30–31.
14. Колекційний фонд квітниково-декоративних рослин Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України. Каталог рослин. Тернопіль : Медобори, 2008. 180 с.
15. Farshid M. S., Larijani K., Salimi F. Composition and antibacterial activity of the essential oil of *Chrysanthemum parthenium* flower from Iran. *J. Essent. oil Bearing Plants*. 2009. Vol. 12, № 6. P. 708–713.
16. Rezaei F., Jamei R., Heidari R. Evaluation of the Phytochemical and Antioxidant Potential of Aerial Parts of Iranian *Tanacetum parthenium*. *Pharmaceutical Sciences*. 2017. № 23. P. 136–142.
17. Guo S., Geng Z., Zhang W. The Chemical Composition of Essential Oils from *Cinnamomum camphora* and Their Insecticidal Activity against the Stored Product. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016. Vol. 17, № 11. P. 1827–1836.
18. De Pooter H. L., Schamp J. N. The Essential Oils of *Tanacetum vulgare* L. and *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip. *Journal of Essential Oil Research*. 1989. № 1. P. 9–13.
19. Shafaghat A., Ghorban-Dadras O. A comparative Study on Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz. Bip. And *Tanacetum punctatum* (Desr.) Grierson. Leaves from Iran. *Essential Oil Bearing Plants*. 2011. Vol. 20, № 4. P. 1143–1150.
20. Hendriks H., Bos R., Woerdenbag H.J. The essential oil of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip. *Flav. Fragr. J.* 1996. № 11. P. 367–371.
21. Dembitskii A. D., Suleeva R. The nature of chrysanthemyl acetate *Chem. Nat. Compd.* 1984. № 20. P. 502–504.
22. Polatoglu K., Demirci F., Demirci B., Gören N. Antibacterial activity and the variation of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. essential oils from Turkey. *J Oleo Sci.* 2010. Vol. 59, № 4. P. 177–184.

23. Stevanovic D., Marković Z., Ristić T., Dragoja M. Variability of Essential Oil Composition of Cultivated Feverfew (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip.) Populations. *Journal of Essential Oil Research*. 2009. № 21. P. 292–294.
24. Mohsenzadeh F., Chehregani A., Amiri H. Chemical composition, antibacterial activity and cytotoxicity of essential oils of *Tanacetum parthenium* in different developmental stages. *Pharmaceutical Biology*. 2011. Vol. 49, № 9. P. 920–926.
25. Akpulat H. A., Tepe B., Sokmen A., Daferera D., Polissiou M. Composition of the Essential Oils of *Tanacetum argyrophyllum* (C. Koch) Tvetz. var. *argyrophyllum* and *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. (Asteraceae) From Turkey. *Biochem. Syst. and Ecol.* 2005. № 33. P. 511–516.
26. Abad M. J., Bermejo P., Villar A. An approach to the genus *Tanacetum* L. (Compositae): Phytochemical and pharmacological review. *Phytother.* 1995. № 9. P. 79–92.
27. Lide D. R. Handbook of Chemistry and Physics. 88th ed. Boca Raton : CRC, 2007. 2640 p.
28. Mirjalili M., Salehi P., Sonboli A., Vala M. Essential oil composition of feverfew (*Tanacetum parthenium*) in wild and cultivated populations from Iran. *Chemistry of Natural Compounds*. 2007. № 43. P. 218–220.
29. Gaona-Colmán E., Blanco M. B., Barnes I., Wiesen P. OH- and O3-initiated atmospheric degradation of camphene: temperature dependent rate coefficients, product yields and mechanisms. *RSC Advances*. 2017. Vol. 7, № 5. P. 2733–2744.
30. Majdi M., Liu Q., Karimzadeh G., Malboobi M. Biosynthesis and localization of parthenolide in glandular trichomes of feverfew (*Tanacetum parthenium* L. Schulz Bip.). *Phytochemistry*. 2011. № 72. P. 1739–1750.
31. Izadi Z., Esna-Ashari M., Piri K., Davoodi P. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Feverfew (*Tanacetum parthenium*) Essential Oil. *Int. J. Agric. Biol.* 2010. № 12. P. 1560–8530.

32. Гурська О. В., Пида С. В. Компонентний склад ефірної олії листків *Pyrethrum parthenium* (L.) Smith. *Фізіологія рослин і генетика. Науковий журнал*. 2014. Т. 46, № 4 (270). С. 351–356.
33. Коновалова Д. С., Коновалов Д. А. Сесквитерпеновые лактоны пиретрума девичьего как биологически активные вещества *Экология человека*. 2008. № 3. С. 3–7.
34. Subha D., Geetha N. Phytochemical Screening of *Tanacetum Parthenium* L. (Feverfew) Leaves: An Important Medicinal Plant. *International Journal of Pharmacy*. 2015. № 2. P. 98–106.
35. Коновалова Д.С. Перспективы применения пиретрума девичьего в фитотерапии мигрени. *Изв. Самарского науч. центра РАН*. 2007. Т. 2. С. 168–170.
36. Адекенов С. М., Кагарлицкий А. Д. Химия сесквитерпеновых лактонов. Алма-Ата : ГЫЛЫМ, 1990. С. 187.
37. Fraga B. M. Natural sesquiterpenoids. *Nat. Prod. Rep.* 2005. № 22. P. 465–486.
38. Erasto P., Grierson D. S., Afolayan A. J. Bioactive sesquiterpene lactones from the leaves of *Vernonia amygdalina*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006. Vol. 106, Issue 1. P. 117–120.
39. Youn U. J., Park E. J., Kondratyuk T. P., Simmons C. J. Anti-inflammatory sesquiterpene lactones from the flower of *Vernonia cinerea*. *Bioorg Med Chem Lett*. 2012. Vol. 22, № 17. P. 5559–5562.
40. Aljancic I., Vajs V., Bulatovic V. Parthenolide from the aerial parts of *Tanacetum larvatum*. *Biochem. Syst. Ecol.* 2001. Vol. 29, № 6. P. 655–657.
41. Petrovic S. D., Dobric S., Bokonic D. Evaluation of *Tanacetum larvatum* for an anti-inflammatory activity and for the protection against indomethacin-induced ulcerogenesis in rats. *J. Ethnopharmacol.* 2003. Vol. 87, № 1. P. 109–113.
42. Feltenstein M. W., Schuhly W., Warnick J. E. Anti-inflammatory and anti-hyperalgesic effects of sesquiterpene lactones from *Magnolia* and Bear's foot. *Pharmacol. Biochem. Beha.* 2004. Vol. 79, № 2. P. 299–302.

43. Frankfater C., Schuhly W., Fronczek F. Processing of a sesquiterpene lactone by *Papilio glaucus* caterpillars. *J. Chem. Ecol.* 2005. Vol. 31, № 11. P. 2541–2550.
44. Kustrin S., Ortakand D. Migraine Headaches: Feverfew or Chamomile Leaves? *Modern Chemistry & Applications*. 2015. № 3. P. 2329–6798.
45. Agatonovic-Kustrin S., Babazadeh Ortakand D., Morton D. W., Yusof A. P. Rapid evaluation and comparison of natural products and antioxidant activity in calendula, feverfew, and German chamomile extracts. *J Chromatogr A*. 2015. Mar 13. P. 103–110.
46. Tai Y., Hou X., Liu C. Phytochemical and comparative transcriptome analyses reveal different regulatory mechanisms in the terpenoid biosynthesis pathways between *Matricaria recutita* L. and *Chamaemelum nobile* L. *BMC Genomics*. 2020. Vol. 21, № 1. P. 169–177.
47. Pourianezhad F., Tahmasebi S., Nikfar S., Mirhoseini M.. Review on Feverfew, a valuable medicinal plant. *J. Herb. Pharm.* 2016. № 5. P. 45–49.
48. Dennis V. C. Parthenolide Content of Feverfew (*Tanacetum parthenium*) Assessed by Hplc and ¹H-nmr Spectroscopy. *J. Nat. Prod.* 1991. Vol. 54, № 6. P. 1516–1521.
49. Hendricks H., Anderson-Wildeboer Y., Engels G., Bos R. The Content of Parthenolide and its Yield per Plant During the Growth of *Tanacetum parthenium*. *Planta Medica*. 1997. Vol. 63, № 4. P. 356–359.
50. Avula B., Navarrete A., Joshi V.C., Khan I.A. Quantification of parthenolide in *Tanacetum* species by LC-UV/LC-MS and microscopic comparison of Mexican/US feverfew samples. *Pharmazie*. 2006. Vol. 61, № 7. P. 590–594.
51. Jin P., Madieh S., Augsburg L. The solution and solid state stability and excipient compatibility of parthenolide in feverfew. *PharmSciTech*. № 78. P. 99–105.
52. Ana M. L., Artur M. S. Parthenolide and Parthenolide-Like Sesquiterpene Lactones as Multiple Targets Drugs: Current Knowledge and New Developments. *Studies in Natural Products Chemistry, Elsevier*. 2017. Vol. 52. P. 337–372.

53. Fishedick J. T., Standiford M., Johnson D. A. Activation of antioxidant response element in mouse primary cortical cultures with sesquiterpene lactones isolated from *Tanacetum parthenium*. *Planta Medica*. 2012. Vol. 78, № 16. P. 1725–1730.
54. Коновалова Д. С., Пшукова И. В., Коновалов Д. А. Изучение некоторых представителей рода *Pyrethrum*, произрастающих на Кавказе. *Естествознание и гуманизм* : межвузовский сб. науч. тр. Томск : Томский гос. ун-т; Сибирский гос. мед. ун-т, 2007. Т. 4, № 3. С. 118.
55. Коновалова Д. С. Фармакогностическое изучение пиретрума девичьего (*Pyrethrum parthenium* Smith) и перспективы его применения в медицине : автореф. дис. ... к-та фармацевт. наук : 14.04.02 / ПГФА. Пятигорск, 2011. 42 с.
56. Williams C. A., Harborne J. B., Geiger H., Houlst J. R. The flavonoids of *Tanacetum parthenium* and *T. vulgare* and their anti-inflammatory properties. *Phytochemistry*. 1999. № 51. P. 417–423.
57. Long C., Sauleau P., David B. Bioactive flavonoids of *Tanacetum parthenium* revisited. *Phytochemistry*. 2003. Vol. 64. P. 567–569.
58. Chaves J., Da Costa F. A proposal for the quality control of *Tanacetum parthenium* (feverfew) and its hydroalcoholic extract. *Revista Brasileira De Farmacognosia-brazilian Journal of Pharmacognosy*. 2008. № 3. P. 324–335.
59. Tadić V., Živković J., Bigović D., Žugić A. Variation of parthenolide and phenolic compounds content in different parts of *Tanacetum parthenium* (L.) Schulz Bip., Asteraceae during 18 months storage. *Lekovite sirovine*. 2019. № 39. P. 35-39.
60. Shahhoseini R., Azizi M., Asili J., Moshtaghi N., Samiei L. Comprehensive Assessment of Phytochemical Potential of *Tanacetum parthenium* (L.): Phenolic Compounds, Antioxidant Activity, Essential Oil and Parthenolide. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2019. № 3. P. 1–16.
61. Hanganu D., Benedec D., Vlase L. Polyphenolic content and antioxidant activity of *Chrysanthemum. Parthenium extract*. 2016. № 64. P. 498– 501.

62. Cárdenas J., Reyes-Pérez V., Hernández-Navarro M. D.. Anxiolytic- and antidepressant-like effects of an aqueous extract of *Tanacetum parthenium* L. Schultz-Bip (Asteraceae) in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 2017. № 200. P. 22–30.
63. Changqing W., Feng C., Xi W., Yonnie W. Identification of Antioxidant Phenolic Compounds in Feverfew (*Tanacetum parthenium*) by HPLC-ESI-MS/MS and NMR. *Phytochem. Anal.* 2007. № 18. P. 401–410.
64. Zengin G., Cvetanovic A., Gašić U. et al. Modern and traditional extraction techniques affect chemical composition and bioactivity of *Tanacetum parthenium* (L.) Sch.Bip. *Industrial Crops and Products*. 2020. № 146. P. 37–49.
65. Kisiel W., Stojakowska A. A sesquiterpene coumarin ether from transformed roots of *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry*. 1997. № 46. P. 515–526.
66. Laiking S., Brown G. Coniferaldehyde derivatives from tissue culture of *Artemisia annua* and *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry*. 1999. № 50. P. 781–785.
67. Williams C. A., Harborne J. B., Eagles J. Variations in lipophilic and polar flavonoids in the genus *Tanacetum*. *Phytochemistry*. 1999. № 52. P. 1301–1306.
68. Hall I., Lee K., Starnes C., Sumida Y., Wu R., Waddell T. Anti-inflammatory activity sesquiterpene lactones and related compounds. *J Pharm Sci*. 1979. № 68. P. 537–542.
69. Williams C. A., Hoult J. R., Harborne J. B., Greenham J., Eagles J. A biologically active lipophilic flavonol from *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry*. 1995. № 38. P. 267–270.
70. Rateb M. E., El-Gendy A. A., El-Hawary S. S., El-Shamy A. M. Phytochemical and biological investigation of *Tanacetum parthenium* (L.) cultivated in Egypt. *J. Med. Plant*. 2007. Vol. 1, № 1. P. 18–26.
71. Martinez J. Isolation of two flavonoids from *Tanacetum microphyllum* as PMA-induced ear edema inhibitors. *Journal of Natural Products*. 1997. Vol. 60, № 2. P. 142–44.

72. Гурська О. В., Пида С. В. Динаміка накопичення флаваноїдів в онтогенезі рослин виду *Pyrethrum partnenium* (L.) Smith. *Scientific achievements 2015*, Vienna, Austria, 20 February 2015. Vienna, 2015. Vol. 1. P. 15–18.
73. Ansari M., Rafiee K., Yasa N., Vardasbi S., Naimi S. Measurement of melatonin in alcoholic and hot water extracts of *Tanacetum parthenium*, *Tripleurospermum disciforme* and *Viola odorata*. *Daru*. 2010. Vol. 18, № 3. P. 173–178.
74. Murch S. J., Simmons C. B., Saxena P. K. Melatonin in feverfew and other medicinal plants. *Lancet*. 1997. № 350 (9091). P. 1598–1599.
75. Izzo A. A., Hoon-Kim S., Radhakrishnan R., Williamson E. M. A Critical Approach to Evaluating Clinical Efficacy, Adverse Events and Drug Interactions of Herbal Remedies. *Phytother Res*. 2016. Vol. 30, № 5. P. 691–700.
76. Sun-Edelstein C., Mauskop A. Foods and supplements in the management of migraine headaches. *Clin. J. Pain*. 2009. Vol. 25, № 5. P. 446–52.
77. Guilbot A., Bangratz M., Ait Abdellah S., Lucas C. A combination of coenzyme Q10, feverfew and magnesium for migraine prophylaxis: a prospective observational study. *BMC Complement Altern Med*. 2017. Vol. 30, № 17 (1). P. 433–445.
78. Patrick M., Heptinstall S., Doherty M. Feverfew in rheumatoid arthritis: A double blind, placebo controlled study. *Ann Rheum Dis*. 1989. № 48. P. 547–549.
79. Smith T. H., Liu X. Feverfew extracts and the sesquiterpene lactone parthenolide inhibit intercellular adhesion molecule-1 expression in human synovial fibroblasts. *Cell Immunol*. 2001. № 209. P. 89–96.
80. Palevitch D. Feverfew (*Tanacetum parthenium*) as prophylactic treatment for migraine: A double-blind placebo-controlled study. *Phytother Res*. 1997. № 11. P. 508–511.
81. Rajapakse T., Davenport W. Phytomedicines in the Treatment of Migraine. *CNS Drugs*. 2019. Vol. 33, № 5. P. 399–415.
82. Yorns W. R., Hardison H. H. Mitochondrial dysfunction in migraine. *Semin Pediatr Neurol*. 2013. № 20. P. 188–193.

83. Johnson E. S., Kadam N. P., Hylands D. M., Hylands P.J. Efficacy of feverfew as prophylactic treatment of migraine. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1985. № 31. P. 569–573.
84. Murphy J. J., Heptinstall S., Mitchell J. R. Randomised double-blind placebo-controlled trial of feverfew in migraine prevention. *Lancet*. 1988. № 23. P. 189–192.
85. Cady R. K., Goldstein J., Nett R., Mitchell R. A double-blind placebo-controlled pilot study of sublingual feverfew and ginger (LipiGesic™ M) in the treatment of migraine. *Headache*. 2011. Vol. 51, № 7. P. 1078–1086.
86. Groenewegen W. A., Knight D. W. Heptinstall S. Progress in the medicinal chemistry of the herb feverfew. *Prog Med Chem*. 1992. № 29. P. 217–238.
87. Wider B., Pittler M. H., Ernst E. Feverfew for preventing migraine. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015. Vol. 20, № 4 (4). P. 22–26.
88. Studzińska-Sroka E., Znajdek-Awizeń P., Gawron-Gzella A. Badania nad działaniem przeciwmigrenowym złożenia maruny (*Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip.) [Studies on the antimigraine action of Feverfew (*Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip.)]. *Wiad Lek*. 2013. № 66. P. 195–199.
89. Moscano F., Guiducci M., Maltoni L., Striano P. An observational study of fixed-dose *Tanacetum parthenium* nutraceutical preparation for prophylaxis of pediatric headache. *Ital J Pediatr*. 2019. № 12. P. 6–11.
90. Volta G. D., Zavarise P., Perego L., Savi L. Comparison of the Effect of Tanacethum Parthenium, 5-Hydroxy Tryptophan, and Magnesium (Aurastop) versus Magnesium Alone on Aura Phenomenon and Its Evolution. *Pain Res Manag*. 2019. № 9. P. 75–86.
91. Tepper S. J. Nutraceutical and Other Modalities for the Treatment of Headache. *Continuum (Minneap Minn)*. 2015. № 21. P. 1018–1031.
92. Dey S., Sarkar M., Giri B. Anti-inflammatory and Anti-tumor Activities of Parthenolide: An Update. *J Chem Biol Ther*. 2016. № 2. P. 101–107.

93. Daniel O., Mauskop A. Nutraceuticals in acute and prophylactic treatment of migraine. *Curr Treat Options Neurol*. 2016. № 18. P. 14–22.
94. Taylor F. R. Nutraceuticals and headache: the biological basis. *Headache*. 2011. № 51. P. 484–501.
95. Teigen L., Boes C. J. An evidence-based review of oral magnesium supplementation in the preventive treatment of migraine. *Cephalalgia*. 2015. № 35. P. 912–922.
96. Tfelt-Hansen P., Pascual J., Ramadan N., Dahlof C. Guidelines for controlled trials of drugs in migraine: third edition. A guide for investigators. *Cephalalgia*. 2012. № 32. P. 6–38.
97. Speciali J.G., Peres M., Bigal M.E. Migraine treatment and placebo effect. *Expert Rev Neurother*. 2010. № 10. P. 413–419.
98. Maizels M., Blumenfeld A., Burchette R. A combination of riboflavin, magnesium, and feverfew for migraine prophylaxis: a randomized trial. *Headache*. 2004. № 44. P. 885–890.
99. Sumner H., Salan U., Knight D. W., Hoult J. R. Inhibition of 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase in leukocytes by feverfew. Involvement of sesquiterpene lactones and other components. *Biochem Pharmacol*. 1992. № 9. P. 2313–2320.
100. Collier H. O., Butt N. M., McDonald-Gibson W. J., Saeed S. A. Extract of feverfew inhibits prostaglandin biosynthesis. *Lancet*. 1980. № 25. P. 922–923.
101. Brown A. M., Edwards C. M., Davey M. R., Power J. B. Pharmacological activity of feverfew (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip.): assessment by inhibition of human polymorphonuclear leukocyte chemiluminescence in-vitro. *J Pharm Pharmacol*. 1997. № 49. P. 558–561.
102. Loecshe E. W., Mazurov A. V., Voyno-Yasenetskaya T. A., Groenewegnen W. A. Feverfew-an antithrombotic drug? *Folia Haematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch*. 1988. № 115. P. 181–184.

103. Heptinstall S., White A., Williamson L., Mitchell J. R. Extracts of feverfew inhibit granule secretion in blood platelets and polymorphonuclear leucocytes. *Lancet*. 1985. № 1. P. 1071–1074.
104. Pugh W. J., Sambo K. Prostaglandin synthetase inhibitors in feverfew. *J Pharm Pharmacol*. 1988. № 40. P. 743–745.
105. Amirghofran Z. Herbal medicines for immunosuppression. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2012. № 11 (2). P. 111–119.
106. Recinella L., Chiavaroli A., di Giacomo V., Antolini M. D. Anti-Inflammatory and Neuromodulatory Effects Induced by *Tanacetum parthenium* Water Extract: Results from In Silico, In Vitro and Ex Vivo Studies. *Molecules*. 2020. № 23. P. 14–22.
107. Di Cesare Mannelli L., Tenci B., Zanardelli M., Maidecchi A. Widespread pain reliever profile of a flower extract of *Tanacetum parthenium*. *Phytomedicine*. 2015. № 15. P. 752–758.
108. Bahrami M., Kamalinejad M., Latifi S. A., Seif F. Cytokine storm in COVID-19 and parthenolide: Preclinical evidence. *Phytother Res*. 2020. Vol. 34, № 10. P. 2429–2430.
109. Zhang S., Ong C. N., Shen H. M. Critical roles of intracellular thiols and calcium in parthenolide-induced apoptosis in human colorectal cancer cells. *Cancer Lett*. 2004. № 28. P. 143–153.
110. Zhang S., Ong C. N., Shen H. M. Involvement of proapoptotic Bcl-2 family members in parthenolide-induced mitochondrial dysfunction and apoptosis. *Cancer Lett*. 2004. № 10. P. 175–188.
111. Ross J. J., Arnason J. T, Birnboim H.C. Low concentrations of the feverfew component parthenolide inhibit in vitro growth of tumor lines in a cytostatic fashion. *Planta Med*. 1999. № 65. P. 126–129.
112. Miglietta A., Bozzo F., Gabriel L., Bocca C. Microtubule-interfering activity of parthenolide. *Chem. Biol. Interact*. 2004. № 149. P. 165–173.

113. Kapadia G. J., Azuine M. A., Tokuda H., Hang E. Inhibitory effect of herbal remedies on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-promoted Epstein-Barr virus early antigen activation. *Pharmacol Res.* 2002. № 45. P. 213–220.
114. Liu W., Wang X., Sun J., Yang Y. Parthenolide suppresses pancreatic cell growth by autophagy-mediated apoptosis. *Onco Targets Ther.* 2017. Jan 23. № 10. P. 453–461.
115. Li X., Yang H., Ke J., Liu B. Smad4 re-expression increases the sensitivity to parthenolide in colorectal cancer. *Oncol Rep.* 2017. № 38(4). P. 2317–2324.
116. Talib W. H., Al Kury L. T. Parthenolide inhibits tumor-promoting effects of nicotine in lung cancer by inducing P53 – dependent apoptosis and inhibiting VEGF expression. *Biomed Pharmacother.* 2018. № 107. P. 1488–1495.
117. Li X., Huang R., Li M., Zhu Z. Parthenolide inhibits the growth of non-small cell lung cancer by targeting epidermal growth factor receptor. *Cancer Cell Int.* 2020. Vol. 20, № 1. P. 561–572.
118. Yuan L., Wang Z., Zhang D., Wang J. Metabonomic study of the intervention effects of Parthenolide on anti-thyroid cancer activity. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed Life Sci.* 2020. Aug 1. P. 1150–1179.
119. Zhang Y. J., Yang D. L., Qin H. X., He L. J. DMAPT-D6 induces death-receptor-mediated apoptosis to inhibit glioblastoma cell oncogenesis via induction of DNA damage through accumulation of intracellular ROS. *Oncol. Rep.* 2021. Vol. 45, № 3. P. 1261–1272.
120. Piela-Smith T. H., Liu X. Feverfew extracts and the sesquiterpene lactone parthenolide inhibit intercellular adhesion molecule-1 expression in human synovial fibroblasts. *Cell Immunol.* 2001. Vol. 1, № 209 (2). P. 89–96.
121. Hayes N. A., Foreman J. C. The activity of compounds extracted from feverfew on histamine release from rat mast cells. *J. Pharm. Pharmacol.* 1987. Vol. 39, № 6. P. 466–470.

122. Benassi-Zanqueta É., Marques C. F., Valone L. M., Pellegrini B. L. Evaluation of anti-HSV-1 activity and toxicity of hydroethanolic extract of *Tanacetum parthenium* (L.) Sch.Bip. (Asteraceae). *Phytomedicine*. 2019. Vol. 55. P. 249–254.
123. Li Y., But P. H., Ooi V. E. Antiviral activity and mode of action of caffeoylquinic acids from *Scheffera heptaphylla* (L.). *Frodo. Antivir. Res.* 2005. № 68. P. 1–9.
124. Shi S., Huang K., Zhang Y., Zhao Y. Purification and identification of antiviral components from *Laggera pterodonta* by high-speed counter-current chromatography. *J. Chromatogr.* 2007. № 859. P. 119–124.
125. Zhong M., Wang H.-Q., Yan H.-Y., Wu S. Santin inhibits influenza A virus replication through regulating MAPKs and NF-κB pathways. *Journal of Asian Natural Products Research*. 2018. P. 1–10.
126. Stanković N., Mihajilov-Krstev T., Zlatković B., Matejić J. Comparative study of composition, antioxidant, and antimicrobial activities of essential oils of selected aromatic plants from Balkan Peninsula. *Planta Med.* 2016. Vol. 82, № 7. P. 650–661.
127. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків : Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 3. 732 с.
128. British Pharmacopoeia / British Pharmacopoeia commission. London : The Stationery Office, 2009. Vol. 3. P. 1887–1888.
129. European Pharmacopoeia. 6.0th ed. Strasbourg : Council of Europe. 2008. P. 1887–1888.
130. Roy Upton. American Herbal Pharmacopoeia: botanical pharmacognosy-microscopic characterization of botanical medicines. Strasbourg : CRC Press, 2011. P. 635–638.
131. United States Pharmacopeia. 30-th Edition Suppl USP 30-NF25. 2007. (e-book).

132. Належна практика культивування та збирання вихідної сировини рослинного походження : Настанова СТ-Н МОЗУ 42–4.5:2012. Київ, 2012. 14 с.
133. WHO guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants / World Health Organization. Geneva, 2003. 72 p.
134. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1110 с.
135. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Допов. 1. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.
136. Raudone L., Vilkickyte G., Pitkauskaite L., Raudonis R. Antioxidant activities of *Vaccinium vitis-idaea* L. leaves within cultivars and their phenolic compounds. *Molecules*. 2019. Vol. 24, № 5. P. 844–851.
137. Золотайкина М. Ю., Гонтовая Т. Н. Накопление элементов в сырье пижмы обыкновенной в зависимости от места. *Рецент.* 2016. Т. 19, № 1. С. 26–30.
138. Bezruk I., Marksa M., Georgiyants V., Ivanauskas L., Raudone L. Phytogeographical profiling of ivy leaf (*Hedera helix* L.). *Industrial Crops and Products*. 2020. № 154. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669020306300> (Date of access: 02.09.2020).
139. Investigation of contribution of individual constituents to antioxidant activity in herbal drugs using postcolumn HPLC method / R. Raudonis et al. *Medicina*. 2009. № 45. P. 382–394.
140. Raudonis R. Comparative evaluation of post-column free radical scavenging and ferric reducing antioxidant power assays for screening of antioxidants in strawberries. *J. Chromatogr. A*. 2012. № 1233. P. 8–15.

141. Marksa M. Development of an HPLC post-column antioxidant assay for *Solidago canadensis* radical scavengers. *Natural Product Research*. 2016. Vol. 30, № 5. P. 536–543.
142. Сахачька І. М. Визначення органічних кислот у сировині Півонії лікарської сортів «Alba plena» та «Rosea plena». *Фітотерапія: часопис*. 2013. № 3. С. 57–60.
143. Соколова О. О., Гонтова Т. М. Порівняльний аналіз жирнокислотного складу органів соняшника однорічного. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2014. № 23 (4). С. 250–253.
144. Endriukaitis T., Bezruk I. V., Marksa M., Konradas V. Determination of terpenoids in *Cannabis sativa* L. from north of lithuania by gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) after hydrodistillation. *Topical issues of new medicines development* : матеріали XXVI Міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів, м. Харків, 10-12 квіт. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. С. 81–82.
145. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union*. 2010. № L276. P. 33–79.
146. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. чл.-кор. НАМН України О. В. Стефанова. Київ : ВД «Авіцена», 2001. 528 с.
147. Bronner C., Landry Y. Kinetics of inhibitory effect of flavonoids on histamine secretion from mast cells. *Agents and Actions*. 1985. № 16. P. 147–151.
148. Чайка А. В. Методы экспериментального доклинического тестирования аналгетического действия различных факторов на лабораторных крысах и мышах. *Ученые записки Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия»*. 2015. Т. 1 (67), № 1. С. 161–173.
149. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів : метод. рек / Ю. Л. Волянський та ін. Київ, 2004. 38 с.
150. Маркив В. И., Ткачук О. Ю., Вишневская Л. И. Исследования технологических параметров семян моркови дикой. *Вестник КазНМУ*. 2013. № 5. С. 13–16.

151. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. 3-е изд. Москва : МедиаСфера, 2006. 312 с.
152. Abad M. J., Bermejo P., Alvarez M., Guerra J. A. Flavonoids and a sesquiterpene lactone from *Tanacetum microphyllum* inhibit anti-Inflammatory mediators in LPS-stimulated mouse peritoneal macrophages. *Planta Medica*. 2004. Vol. 70, № 1. P. 34–38.
153. Kannan R., Babu U. V. Identity and pharmacognosy of *Ruta graveolens* Linn. *Anc. Sci. Life*. 2012. Vol. 32, № 1. P. 16–19.
154. Ghimire B., Lee C., Heo K. Leaf anatomy and its implications for phylogenetic relationships in *Taxaceae* s. l. *J Plant Res*. 2014. Vol. 127, № 3. P. 373–88.
155. Wang W. H., Yang J., Peng H. S., Qian J. P. Study on morphological characteristics and microscopic structure of medicinal organs of *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel. *Microsc. Res. Tech*. 2017. Vol. 80, № 8. P. 950–958.
156. Zhang Fa, Zhou Jianyun, Shi Yiqun, Karaisz Ken. Identification of antioxidative ingredients from feverfew (*Tanacetum parthenium*) extract substantially free of parthenolide and other alpha-unsaturated gamma-lactones. *Open Journal of Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2019. № 4. P. 57–68.
157. Про затвердження переліку наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів : Постанова Кабінету Міністрів України від 06.05.2000 р. № 770. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/770-2000-п#Text> (дата звернення: 07.03.2021).
158. Жогло Ф. А. Неводні розчинники: характеристика, властивості та застосування в технології готових лікарських форм. Львів, 2002. 80 с.
159. Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти ліків / за ред. І. М. Перцева. Вінниця, 2007. 641 с.
160. Засіб з протизапальною дією : пат. 140385 України. / Гонтова Т.М., Гордєй К.Р., Міщенко О.Я., Кириченко І.В., Калько К.О., Котов А.Г. № u 2019 07427 ; заявл. 04.07.2019 ; опубл. 25.02.2020, Бюл. № 4.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

Наукові статті

1. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Золотайкіна М. Ю., Сіра Л. М. Морфолого-анатомічні ознаки трави маруни дівочої (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip.). *Фармацевтичний часопис*. 2018. № 1. С. 16–22. (Особистий внесок: аналіз літературних джерел, узагальнення отриманих результатів дослідження, підготовка статті до друку).
2. Hordiei K. R., Gontova T. M., Zolotaikina M. Yu. The study on the elemental composition of the feverfew herb (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz bip.). *Вісник фармації*. 2018. № 3 (95). С. 25–29. (Особистий внесок: експериментальні дослідження, аналіз результатів, підготовка статті до друку)
3. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Сербін А. Г., Котов А. Г., Котова Е. Е. Вивчення фенольних речовин у траві маруни дівочої методом тонкошарової хроматографії та вискоефективної рідинної хроматографії *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 3 (95). С. 64-70. (Особистий внесок: аналіз літературних джерел, проведення експерименту та узагальнення отриманих результатів дослідження, підготовка статті до друку).
4. Gordey K. R., Gontova T. M., Gaponenko V. P., Vusik D. M. Comparative study of the elemental composition of the feverfew cultivars ‘Phlora Pleno’ and ‘White Gem’. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020. № 48. P. 34–37. (Особистий внесок: проведення експериментальних досліджень, підготовка статті до друку).
5. Гордей К. Р., Гонтова Т. М. Дослідження складу жирних та органічних кислот трави маруни дівочої (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz bip.) *Фармацевтичний журнал*. 2020. № 5. С. 61–67. (Особистий внесок: аналіз результатів дослідження, формулювання цілей та задач дослідження, підготовка статті до друку).

6. Hordiei K. R., Gontova T. M., Gaponenko V. P. Prospects of studying of volatile oils of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz bip. For issues in chemosystematics of *Tanacetum* genus. *EUREKA*. 2020. № 6. P. 102–107. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, формулювання цілей та задач дослідження, підготовка статті до друку).

7. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Гапоненко В. П. Дослідження жирних та органічних кислот у траві сортів маруни дівочої White Gem та Phlora Pleno. *Український біофармацевтичний журнал*. 2020. № 4. С. 58–63. (Особистий внесок: аналіз результатів дослідження, огляд літературних джерел, підготовка статті до друку).

Патент

8. Засіб з протизапальною дією : пат. 140385 України. / Гонтова Т.М., Гордей К.Р., Міщено О.Я., Кириченко І.В., Калько К.О., Котов А.Г. № и 2019 07427 ; заявл. 04.07.2019 ; опубл. 25.02.2020, Бюл. № 4. (Особистий внесок: проведення інформаційно-патентного пошуку, проведення експериментальних досліджень, підготовка матеріалів для подання в патентне бюро).

Тези доповідей

9. Gordey K. R., Gontova T. N. Prospects for pharmacognostic research of *Tanacetum parthenium*. *Topical issues of new drugs development: Abstracts of XXIV International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student*, April 20, 2017. Kharkiv, NUPh: V. 1, p.67.

10. Гордей К. Р., Гонтова Т. М. Підбір екстрагенту та вивчення числових показників трави маруни дівочої. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали III Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 14-15 листоп. 2017 р. Харків, 2017. С. 60- 61.

11. Гордей К. Р., Гонтова Т. Н. Исследование минерального состава травы *Tanacetum parthenium*. «*Студенческая медицинская наука XXI века*» : материалы

XVII Междунар. конф., г. Витебск, 15-16 ноября 2017, г. Витебск: ВГМУ, 2017. С. 85-86.

12. Гордей К. Р., Гонтова Т. М. Визначення технологічних параметрів трави маруни дівочої. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів* : матеріали II Міжнародної наук.-практ. дистанц. конф., м. Харків, 1-2 березня 2018, м. Харків: НФаУ, 2018. С. 69-70.

13. Гордей К. Р., Золотайкіна М. Ю., Гонтова Т. М. Сесквітерпенові лактони маруни дівочої. *«Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій»* : матеріали Всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 12-13 квітня 2018 р., НФаУ, 2018. С. 262-263.

14. Hordiei K. R., Gontova T. M. Pigments of *Tanacetum parthenium* herb. *Topical issues of new drugs development: Abstracts of XXV International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student*, April 18-20, 2018 – Kharkiv, NUPh, 2018. V. 1. – p. 38-39.

15. Hordiei K. R., Gontova T. M, Kotova E. E. Analysis of hydroxycinnamic acids content of the feverfew herb depending on the place of cultivation: Abstracts of 9th international conference of Pharmacy *Science and practice*, November 9, 2018 – Kaunas, Lithuania, 2018. p. 31.

16. Гордей К. Р., Гонтова Т. М. Товарознавчий аналіз серій трави маруни дівочої. *«Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин»* : матеріали III Міжнар. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 26-28 листопада 2018 р., м. Харків, НФаУ, 2018. С. 57.

17. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Котова Е. Е., Кириченко І. В., Міщенко О. Я. Перспективи комплексного використання трави маруни дівочої для створення екстрактів з анальгетичною та протизапальною дією. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня

фармацевтичного працівника України, м. Харків, 19-20 вересня 2019 р, НФаУ, С. 279-280.

18. Дослідження антимікробної активності густого екстракту з трави маруни дівочої (*Tanacetum parthenium* (L.) Schulz Bip.) / Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Осолодченко Т. П., Кириченко І. В., Веля М. І., Рубан О. А. *Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації* : мат. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 22-23 жовтня 2019 р., Х. : Вид-во НФаУ, 2019. С. 333-340.

19. Karyna Hordiei, Tetiana Gontova, Elina Kotova, Mariia Velia, Olena Ruban. Research on the chemical composition and standartisation of the feverfew thick extract. «*Sciences and Practice*», 10th International Pharmaceutical Conference November 15, 2019 – Kaunas, Lithuania, 2019. p. 32.

20. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Котова Е. Е. Визначення вмісту ефірної олії у серіях маруни дівочої трави. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. (11 березня 2020 р., м. Харків). – Х. : НФаУ, 2020. – 49- 50 с.

21. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Котова Е. Е., Яременко М. С. Дослідження якісного складу та кількісного вмісту фенольних речовин маруни дівочої та сорту «White gem». *Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження*: мат. наук.-практ. дистанційної міжн. конф., м. Івано-Франківськ, 19-20 травня 2020 р., ІФНМУ, С. 153-154.

22. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Яременко М. С., Lina Raudone, Sonata Trumbeckaite. Дослідження профілю фенольних речовин та антирадикальної активності у траві маруни дівочої. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали IV Міжнародної наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 26-27 листопада 2020 р., Харків: НФаУ, 2020. – С. 82.

23. Гордей К. Р., Вусик Д. М., Рубан О. А., Халавка М. В., Гонтова Т. М. Перспективи створення ректальних супозиторіїв на основі БАР трави маруни дівочої сорту Phlora Pleno. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали IV Міжнародної наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 26-27 листопада 2020 р., Харків: НФаУ, 2020. – С. 71.

24. Гордей К. Р., Гонтова Т. М. Стандартизація густого ліпофільного екстракту із трави маруни дівочої. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали V Міжнар. наук.-практ. інтернет – конф., м. Харків, 26 листопада 2020 р. – Х. : Вид-во НФаУ, 2020. – С. 152-153.

25. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Котова Е. Е. Дослідження якісного складу та кількісного вмісту фенольних сполук у траві маруни дівочої та сорті Phlora pleno. *PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА*: матеріали Міжнар. наук.-практ. конф. (Київ, 19 лютого 2021 р.). – Електрон. дані. – Київ, ПАЛИВОДА А. В., 2021. – С. 71-73.

Інформаційний лист

26. Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Котова Е. Е., Мариненко Н. І. Терміни заготівлі трави маруни дівочої (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip.): інформ. лист №252-2019/ НФаУ – К.:Укрмедпатентінформ, 2019 – 4 с.

Продовж. дод. А

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. XXIV International Scientific and Practical Conference Of young Scientists and Student «*Topical issues of new drugs development*» (Kharkiv, 20 April 2017, форма участі – публікація тез);

2. III міжнародна науково-практична інтернет-конференція «*Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*» (Харків, 14–15 листопада 2017 р. форма участі – публікація тез);

3. XVII Международная конференция «*Студенческая медицинская наука XXI века*» (г. Витебск, 15-16 ноября 2017 г., форма участі – публікація тез);

4. II Міжнародна науково-практична конференція «*Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів*» (м. Харків, 1-2 березня 2018, форма участі – публікація тез);

5. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «*Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій*» (м. Харків, 12-13 квітня 2018 р., форма участі – публікація тез);

6. XXV International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student «*Topical issues of new drugs development*» (April 18-20, 2018, Kharkiv, форма участі – публікація тез);

7. 9th international conference of Pharmacy Science and practice (November 9, 2018, Kaunas, Lithuania, форма участі – усна доповідь);

8. III Міжнародна науково-практична конференція «*Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*» (м. Харків, 26-28 листопада 2018 р., форма участі – публікація тез);

9. Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, «*Сучасна фармація:*

історія, реалії та перспективи розвитку» (м. Харків, 19-20 вересня 2019 р., форма участі – публікація тез);

10. Науково-практична конференція *«Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації»* (м. Харків, 22-23 жовтня 2019 р., форма участі – публікація тез);

11. 10th International Pharmaceutical Conference *«Sciences and Practice»* (November 15, 2019, Kaunas, Lithuania, форма участі – усна доповідь);

12. II Міжнародна науково-практична конференція *«Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження»* (11 березня 2020 р., м. Харків, форма участі – публікація тез);

13. Науково-практична дистанційна міжнародна конференція *«Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження»* (м. Івано-Франківськ, 19-20 травня 2020 р., форма участі – публікація тез);

14. IV Міжнародна науково-практична internet-конференція *«Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин»* (м. Харків, 26-27 листопада 2020 р., форма участі – публікація тез);

15. IV Міжнародна науково-практична internet-конференція *«Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин»* (м. Харків, 26-27 листопада 2020 р., форма участі – публікація тез);

16. V Міжнародна науково-практична інтернет-конференція *«Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії»* (м. Харків, 26 листопада 2020 р., форма участі – публікація тез);

17. Міжнародна науково-практична конференція *«PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА»* (Київ, 19 лютого 2021 р., форма участі – публікація тез).

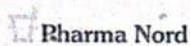
Продовж. дод. А



9th International Pharmaceutical Conference
„SCIENCE AND PRACTICE” 2018
dedicated to the 100th anniversary of independent Lithuania's pharmacy
Friday, November 9, 2018
PROGRAMME



8.00 – 8.30	Registration	
8.30 – 10.00	Poster session (Part I), auditorium 205.	
10.00 – 11.20 PLENARY SESSION. Chair: <i>Prof. Ramunė Morkūnienė, prof. Maija Dambrova</i>		
10.00 – 10.10	Opening ceremony. Welcome speech	<i>prof. habil. dr. V. Lesauskaitė, LSMU Vice Rector for Science</i>
10.10 – 10.30	Safe and effective drugs for the customer	<i>Gintautas Barcys, Head of Lithuanian State Medicines Control Agency</i>
10.30 – 10.50	Drugs reimbursement: payer's perspective	<i>Vaidotas Galaunė, Ministry of Health of Republic of Lithuania, Department of Pharmacy</i>
10.50 – 11.20	Evidence-based pharmacy practice	<i>Prof. Moira Kinnear, University of Strathclyde (Great Britain)</i>
11.20 – 11.50 Coffee break		
11.50 – 12.50 SPONSOR'S PRESENTATIONS. Chair: <i>prof. Vilma Petrikaitė, dokt. Indrė Januškevičienė Auditorium 202 a.</i>		
11.50 – 12.50 ORAL PRESENTATIONS I. Chair: <i>doc. Jurgita Daukšienė, prof. Moira McKinear</i>		
11.50 – 12.20	Model of pharmaceutical care for health systems in Europe	<i>Prof. Agnieszka Skowron, vice dean at Jagiellonian University Medical School (Krakow, Poland)</i>
12.20 – 12.50	Professionalism in pharmacy practice and apothecary oaths	<i>Prof. Dušana Krajnovic, University of Belgrade (Serbia)</i>
12.40 – 13.40 Lunch break		
13.50 – 15.50	Round table discussion: pharmacy today and tomorrow	<i>Moderator: Doc. Antanas Tauras Mekas, Lithuanian University of Health Sciences</i>
	Poster presentation (Part II), auditorium 203.	
15.50 – 16.20 Coffee break		
16.20 – 17.20 ORAL PRESENTATIONS II. Chair: <i>prof. Nijolė Savickienė, prof. Ona Ragažinskienė</i>		
16.20 – 16.40	Academia and pharmaceutical industry collaboration: advancing drug discovery	<i>Prof. Dr. Maija Dambrova, Rīgas Stradiņš University (Latvia)</i>
16.40 – 17.00	Achievements and prospects of scientific cooperation	<i>Prof. Koshovyi Oleg, Head of Pharmacognosy Dep., National University of Pharmacy (Ukraine)</i>
17.00 – 17.20	Closing remarks. Awards	

Sponsors:**Donators:**

Atkurtai Lietuvai

Partners:



Продовж. дод. А

 	
Friday, November 15, 2019 Duration - 9 hours	
History of Pharmacy Section, 232 a. Moderator: Ramūnas Kondratas	
11:20 –11:40 Presidents' Welcome. <i>Ramūnas Kondratas, President of Lithuanian Society for the History of Pharmacy</i> <i>Axel Helmstädter, President of the International Society for the History of Pharmacy</i>	
11:40 –12:00 Treatment of Nervous System Diseases in the First Half of the 19 th Century in the Vilnius University Clinics <i>Eglė Sakalauskaitė Juodeikienė (Vilnius University)</i>	
12:00 –12:20 Disseminating the Scholarly Heritage of Vilnius University Professor Jędrzej Śniadecki (1768–1838) <i>Birutė Railienė (Wroblewski Library of the Lithuanian Academy of Sciences)</i>	
12:20 –12:40 Vilnius University Professor of Pharmacy Johann Friedrich Wolfgang (1775–1859) – a Disciple of the Schuchin Confessors Piarists <i>Tatsiana Zablotskaya (National Institute for Higher Education ; Minsk, Belarus)</i>	
12:40 –13:00 Ethnopharmaceutical Knowledge in the Samogitian Region of Lithuania: Where Old Traditions Overlap with Modern Medicine <i>Živilė Pranskūnienė (Lithuanian University of the Health Sciences)</i>	
13:00 –13:20 Beyond the Nobel Prize – Excellence in Medicine in the Baltics 1900–1970 <i>Michael Pohar (Riga Stradiņš University)</i>	
13:20 – 14:20 Lunch break	
History of Pharmacy Section, 232 a. Moderator: Vilma Gudienė	
14:20 –14:40 Transdisciplinarity in the History of the Human Sciences: What can the Geographical Dimension Tell about Recent Trends? <i>Junona Almonaitienė (Lithuanian University of the Health Sciences)</i>	
14:40 –15:00 Non-governmental Pharmacy Organizations in Estonia <i>Ain Raal (University of Tartu, Estonia)</i>	
15:00 –15:20 A Historical Outline of the Development of the Faculty of Pharmacy in Belgrade <i>Dušanika Krajnović (University of Belgrade, Serbia)</i>	
15:20 –15:40 The image in Belarusian Art Works of the 18 th - Century Pharmacy of David Sheiba in Minsk <i>Valentina Sosonkina (Association of Pharmacists "Pharmabel", Minsk, Belarus)</i>	
15:40 –16:00 Occupational Poisoning Issues in the Works of the Vilnius Stephen Bathory University Doctors and Hygienists <i>Aistis Žalnora (Vilnius University)</i>	
16:00 – 16:20 Faculty of Pharmacy tour	
16:20 – 16:40 Coffee break	
16:40 – 17:00 Conference Final Remarks (203 a.) <i>Ramūnė Morkūnienė, Dean of Pharmacy Faculty, LUHS</i>	

Додаток Б

Акти впровадження у практичну діяльність та навчальний процес

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ
З ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ
ТА КОНТРОЛЮ ЗА НАРКОТИКАМИ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ НАУКОВИЙ
ФАРМАКОПЕЙНИЙ ЦЕНТР
ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ"



STATE SERVICE OF UKRAINE
ON MEDICINES
AND DRUGS CONTROL
STATE ENTERPRISE
"UKRAINIAN SCIENTIFIC
PHARMACOPOEIAL CENTER
FOR QUALITY OF MEDICINES"

61085, м. Харків, вул. Астрономічна, 33. [http:// www.sphu.org](http://www.sphu.org), E-mail: phukr@phukr.kharkov.ua
Тел. +38 099 2932583 ФСЗ, +38 050 4056222 ППТ, +38 099 1800602 ЛФА, +38 099 1800603 гр. біол. методів,
+38 099 1800601 бухгалтерія, +38 099 1800604 відділ кадрів

Від 28.09.2020 № 11/1330-5
На _____ № _____

Акт про участь Гордей К.Р. у розробці національної частини монографії
«Маруни дівочої трава^Н»

Гордей К.Р. у складі групи «Лікарська рослинна сировина» під керівництвом начальника відділу ДФУ д.фарм.н., с.н.с. Котова А.Г. та зав. сектора «Експериментальна підтримка розробки монографій на ЛРС» ДП «Фармакопейний центр» к.фарм.н., с.н.с. Котової Е.Е., брала участь в експериментальних дослідженнях щодо розробки методики кількісного визначення методом спектрофотометрії у лікарській рослинній сировині в процесі розробки національної частини монографії на МАРУНИ ДІВОЧОЇ ТРАВА відповідності до вимог ДФУ та ЄФ.

В результаті був розроблений проєкт розділу Кількісне визначення (метод СФ) для національної частини монографії «МАРУНИ ДІВОЧОЇ ТРАВА^Н»

Директор ДП «Фармакопейний центр»,
д.х.н., професор



О.І. Гризодуб

Продовж. дод. Б

Виробник ТОВ «КФК «ГРІН ФАРМ КОСМЕТИК»
країна: Україна

**МЕТОДИКИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ
(ПРОЄКТ)**

PARACETIL EXTRACTUM SPISSUM
ТАПАЦЕТІЛ ЕКСТРАКТ ГУСТИЙ

екстракт густий (субстанція)

у банках із скломаси для виробництва нестерильних лікарських форм

Завідувач кафедри ботаніки
Національного фармацевтичного
університету

Т.М. Гонтова

Аспірант кафедри ботаніки
Національного фармацевтичного
університету

К.Р. Гордєй

Узгоджено:

Технічний директор
ТОВ «КФК «ГРІН ФАРМ КОСМЕТИК»

В.В. Ніколов

Продовж. дод. Б

УПАКОВКА

Банки по 100 г із скломаси темного кольору з гвинтовою горловиною з металевими кришками, що нагвинчуються і полімерними прокладками.

МАРКУВАННЯ

На банку наклеюють етикетку з нанесеним маркуванням згідно нормативної документації на екстракт. На етикетці повинно бути вказано: країна-виробник, фірма-виробник, найменування субстанції, маса субстанції, умови зберігання, дата виготовлення, номер серії і термін придатності.

ТРАНСПОРТУВАННЯ

Відповідно до ДГСТ 17768-90

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

У прохолодному, захищеному від світла та недоступному для дітей місці, при температурі від +8°C до +15°C.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

1 рік.

Технічний директор:

ТОВ «КФК «ГРІН ФАРМ КОСМЕТИК»



В.В. Ніколов

Розробники:

Завідувач кафедри ботаніки

Національного фармацевтичного
університету

Т.М. Гонтова

Аспірант кафедри ботаніки

Національного фармацевтичного
університету

К.Р. Гордей

"03" вересня 2020 р.

Продовж. дод. Б

«ЗАТВЕРДЖЕНО»

ТОВ «КФК «ГРІН ФАРМ

КОСМЕТИК»

Технічний директор

 В.В. Ніколов

"03" вересня 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результати наукових досліджень аспіранта кафедри ботаніки Національного фармацевтичного університету **Гордєй Карини Романівни** були використані при розробці методів контролю якості Тапацетіл екстракту густого з трави маруни дівочої згідно виробничих методик та проєкту МКЯ «Тапацетіл екстракт густий».

Запропоновані методи контролю якості повністю відтворюються в промислових умовах ТОВ «КФК «ГРІН ФАРМ КОСМЕТИК».

Серії Тапацетіл екстракту густого відповідали показникам якості згідно проєкту МКЯ.

Завідувач кафедри ботаніки
Національного фармацевтичного
університету



Т.М. Гонтова

Продовж. дод. Б

Виробник ТОВ «КФК «ГРІН ФАРМ КОСМЕТИК»
країна: Україна

**МЕТОДИКИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ
(ПРОЄКТ)**

TANAPART EXTRACTUM SPISSUM
ТАНАПАРТ ЕКСТРАКТ ГУСТИЙ

екстракт густий (субстанція)
у банках із скломаси для виробництва нестерильних лікарських форм

Розроблено:

Завідувач кафедри ботаніки
Національного фармацевтичного
університету



Т.М. Гонтова

Аспірант кафедри ботаніки
Національного фармацевтичного
університету



К.Р. Гордей

Узгоджено:

Технічний директор
ТОВ «КФК «ГРІН ФАРМ КОСМЕТИК»



В.В. Ніколов

Продовж. дод. Б

УПАКОВКА

Банки по 100 г із скломаси темного кольору з гвинтовою горловиною з металевими кришками, що нагвинчуються і полімерними прокладками.

МАРКУВАННЯ

На банку наклеюють етикетку з нанесеним маркуванням згідно нормативної документації на екстракт. На етикетці повинно бути вказано: країна-виробник, фірма-виробник, найменування субстанції, маса субстанції, умови зберігання, дата виготовлення, номер серії і термін придатності.

ТРАНСПОРТУВАННЯ

Відповідно до ДГСТ 17768-90

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

У прохолодному, захищеному від світла та недоступному для дітей місці, при температурі від +8°C до +15°C.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

1 рік.

Технічний директор:

ТОВ «КФК «ГРІН ФАРМ КОСМЕТИК»



В.В. Ніколов

Розробники:

Завідувач кафедри ботаніки

Національного фармацевтичного
університету

Т.М. Гонтова

Аспірант кафедри ботаніки

Національного фармацевтичного
університету

К.Р. Гордей

"03" вересня 2020 р.

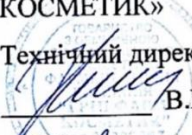
Продовж. дод. Б

«ЗАТВЕРДЖЕНО»

ТОВ «КФК «ГРІН ФАРМ

КОСМЕТИК»

Технічний директор


В.В. Ніколов

"03" вересня 2010 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результати наукових досліджень аспіранта кафедри ботаніки Національного фармацевтичного університету **Гордей Карини Романівни** були використані при розробці методів контролю якості Танапарт екстракту густого з трави маруни дівочої згідно виробничих методик та проєкту МКЯ «Танапарт екстракт густий».

Запропоновані методи контролю якості повністю відтворюються в промислових умовах ТОВ «КФК «ГРІН ФАРМ КОСМЕТИК».

Серії Танапарт екстракту густого відповідали показникам якості згідно проєкту МКЯ.

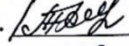
Завідувач кафедри ботаніки
Національного фармацевтичного
університету



Т.М. Гонтова

Продовж. дод. Б

«Затверджую»

Проректор з наукової роботи Івано-Франківського
національного медичного університету
проф.  П. Вакалюк
«28» 08 2020 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

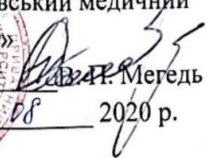
1. **Пропозиція до впровадження:** Методи ідентифікації та кількісного визначення фенольних сполук та дослідження елементного складу трави маруни дівочої.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра ботаніки, аспірант Гордей К.Р., Гонтова Т.М.
3. **Джерела інформації:**
 - Гордей К. Р. Вивчення фенольних речовин у траві маруни дівочої методом тонкошарової хроматографії та високоефективної рідинної хроматографії / Гордей К.Р., Гонтова Т.М., А.Г. Сербін, Котов А.Г, Котова Е. Е // Український біофармацевтичний журнал. – 2019. – № 3 (95). – С. 64 - 70.
 - Hordiei K. R. The study on the elemental composition of the fever few herb (Tanacetum parthenium (L.) Schultzbip.)./Hordiei K. R., Gontova T. M., Zolotaikina M. Yu. // Вісник фармації. – 2018.– № 3 (95). – С. 25 - 29.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармації Івано-Франківського національного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, у лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів та науковців з питань дослідження хімічного складу лікарської рослинної сировини маруни дівочої.
7. **Строки впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармації Івано-Франківського
національного медичного університету,
професор



А.Р. Грицик

Продовж. дод. Б

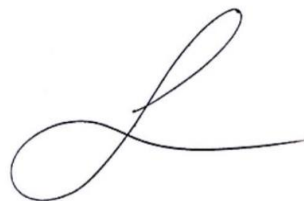
«Затверджую»
Проректор міжнародних зв'язків
ЛВНЗ «Київський медичний
університет»
проф.  Мегедь
«28» _____ 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція до впровадження:** Методи ідентифікації трави маруни дівочої за макро- та мікроскопічними ознаками та дослідження мінерального складу сировини.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра ботаніки, аспірант Гордей К.Р., Гонтова Т.М.
3. **Джерела інформації:**
 - Hordiei K. R. The study on the elemental composition of the fever few herb (Tanacetum parthenium (L.) Schultzbip.)/ Hordiei K. R., Gontova T. M., Zolotaikina M. Yu.// Вісник фармації. – 2018.– № 3 (95). – с. 25-29.
 - Гордей К. Р., Морфолого-анатомічні ознаки трави маруни дівочої (Tanacetum parthenium (L.) SchultzBip.)/ Гордей К.Р., Гонтова Т. М., Золотайкіна М. Ю., Сіра Л. М. // Фармацевтичний часопис. – 2018. –№ 1. – с. 16–22.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармацевтичної і біологічної хімії, фармакогнозії Київського медичного університету.
5. **Форма впровадження:** наукова робота та навчальний процес.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів та науковців з питань ідентифікації трави маруни дівочої за макро- та мікроскопічними ознаками та дослідження елементного складу сировини.
7. **Строки впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармацевтичної
і біологічної хімії, фармакогнозії
ЛВНЗ «Київський медичний університет»,
професор

О.Ю. Коновалова



Продовж. дод. Б

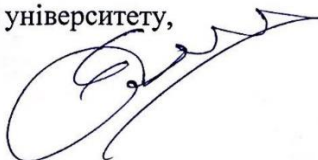
«Затверджую»
 Професор з наукової роботи Запорізького
 Державного медичного університету
 проф. В.О. Туманський
 09 2020 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція до впровадження:** Методи ідентифікації трави маруни дівочої за макро- і мікроскопічними діагностичними ознаками, речовинами фенольної природи.
 2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра ботаніки, аспірант Гордей К.Р., Гонтова Т.М.
 3. **Джерела інформації:**
 - Гордей К. Р., Морфолого-анатомічні ознаки трави маруни дівочої (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip.) / Гордей К.Р., Гонтова Т. М., Золотайкіна М. Ю., Сіра Л. М. // Фармацевтичний часопис. – 2018. – № 1. – с. 16–22.
 - Гордей К. Р. Вивчення фенольних речовин у траві маруни дівочої методом тонкошарової хроматографії та високоефективної рідинної хроматографії / Гордей К.Р., Гонтова Т.М., А.Г. Сербін, Котов А.Г, Котова Е.Е // Український біофармацевтичний журнал. – 2019. – № 3 (95). – с. 64-70.
- Запропоновані дані, щодо методів ідентифікації трави маруни дівочої.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького Державного медичного університету.
 5. **Форма впровадження:** наукова робота та навчальний процес.
 6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів та науковців з питань ідентифікації фармакопейної сировини трави маруни дівочої.
 7. **Строки впровадження:** 2019-2020 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармакогнозії,
 фармакології та ботаніки Запорізького
 Державного медичного університету,
 д. б. н., професор



С.Д. Тржецинський

Продовж. дод. Б



«Затверджую»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Національного фармацевтичного університету
проф. І.М. Владимирова

01 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція до впровадження:** Метод ідентифікації та кількісного визначення жирних, органічних кислот та ефірної олії у траві маруни дівочої та її сортах White Gem та Phlora Pleno.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра ботаніки, аспірант Гордей К.Р., Гонтова Т.М.
3. **Джерела інформації:**
 - Гордей К.Р., Гонтова Т.М. Дослідження складу жирних та органічних кислот трави маруни дівочої (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz bip.) Фармацевтичний журнал. – 2020. – № 5. – С. 61-67.
 - Hordiei K.R., Gontova T.M, Gaponenko V.P. Prospects of studying of volatile oils of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz bip. For issues in chemosystematics of *Tanacetum* genus. EUREKA. – 2020. – № 6. – P. 102-107.
 - Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Гапоненко В.П. Дослідження жирних та органічних кислот у траві сортів маруни дівочої White Gem та Phlora Pleno. Український біофармацевтичний журнал.–2020. – № 4.– С. 58-63.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії Національного фармацевтичного університету.
5. **Форма впровадження:** наукова робота та навчальний процес.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів та науковців з питань ідентифікації та кількісного визначення лікарської рослинної сировини маруни дівочої.
7. **Строки впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармакогнозії

Національного фармацевтичного університету,
професор

О.М. Кошовий

Продовж. дод. Б



Продовж. дод. Б

Шановний колего!

Інформаційний лист є анотованим описом наукової (науково-технічної) продукції, що входить до Переліку наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я (Наказ МОЗ України та НАМН від 13.11.2013 №969/97 «Про удосконалення впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я», зареєстрований в Міністерстві юстиції України 05.12.2013 за № 2068/24600).

Інформаційний лист спрямований для використання керівниками структурних підрозділів (відповідного профілю) закладів охорони здоров'я України для моніторингу передових технологій діагностики та лікування з подальшим їх впровадженням у практику (Наказ МОЗ України від 14.03.2011 №142 «Про удосконалення державної акредитації закладів охорони здоров'я»).

МОЗ УКРАЇНИ

УКРАЇНСЬКИЙ ЦЕНТР НАУКОВОЇ МЕДИЧНОЇ ІНФОРМАЦІЇ
ТА ПАТЕНТНО-ЛІЦЕНЗІЙНОЇ РОБОТИ
(УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ)

ІНФОРМАЦІЙНИЙ
ЛИСТ

про наукову (науково-технічну) продукцію, отриману за результатами наукової, науково-технічної та науково-організаційної діяльності підприємств, установ, організацій Міністерства охорони здоров'я України, Міністерства освіти і науки України, Національної академії медичних наук України призначену для практичного застосування у сфері охорони здоров'я

м. Київ

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Український центр наукової медичної інформації
та патентно-ліцензійної роботи
(Укрмедпатентінформ)

ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ

ПРО НОВОВВЕДЕННЯ В СФЕРІ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

№ 252 - 2019

Випуск з проблеми
«Фармація»
Підстава: витяг ЕПК
«Фармація»
Протокол № 106 від 26.03.19 р.

НАПРЯМ ВПРОВАДЖЕННЯ:
ФАРМАЦІЯ

ТЕРМІНИ ЗАГОТІВЛІ ТРАВИ МАРУНИ ДІВОЧОЇ
(*TANACETUM PARTHENIUM* (L.) SCHULTZ BIP.)

УСТАНОВИ-РОЗРОБНИКИ:

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МОЗ УКРАЇНИ

БОТАНІЧНИЙ САД ім. М.М. ГРИШКА

УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ
МОЗ УКРАЇНИ

АВТОРИ:

проф. ГОНТОВА Т.М.,
доц. КОТОВА Е.Е.,
асп. ГОРДЕЙ К.Р.,
МАРІНЕНКО І.І.

м. Київ