

Національний фармацевтичний університет

Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет

Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова

праця на правах рукопису

Мига Михайло Мирославович

УДК 615.32:582.929.4:581.45:581.192:615.276:615.281.9

ДИСЕРТАЦІЯ

**Фармакогностичне вивчення деяких видів роду Шавлія (*Salvia* L.) флори
України для створення нових лікарських засобів**

226 – 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

М. М. Мига

Науковий керівник Кошовий Олег Миколайович, доктор фармацевтичних наук,
професор

Харків – 2020

АНОТАЦІЯ

Муга М. М. Фармакогностичне вивчення деяких видів роду Шавлія (*Salvia* L.) флори України для створення нових лікарських засобів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація» (22 «Охорона здоров'я»). – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2020.

Дисертаційна робота присвячена фармакогностичному вивченню сировини перспективних видів роду Шавлія (*Salvia* L.) флори України, а саме *Salvia officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*, розробці способів одержання екстрактів на їх основі, їх фітохімічному та фармакологічному дослідженню, визначенню параметрів стандартизації листя перспективних видів *Salvia* і найбільш перспективних субстанцій на їх основі.

Використовуючи метод хемотаксономії, було побудовано дендрограму роду *Salvia* L. флори України за хімічними ознаками і встановлено, що найбільш перспективними видами для введення у фармацевтичну та медичну практику є *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*, сировину яких в подальшому і досліджували, у порівнянні з сировиною фармакопейного виду – *Salviae officinalis folium*.

Вивчення морфолого-анатомічної будови листя перспективних видів роду Шавлія флори України проводили методом світлової мікроскопії. За результатами мікроскопічних досліджень листя *S. verticillata*, *S. pratensis* та *S. grandiflora* визначена сукупність ознак, які можна вважати загальними для цих видів: дорзивентральний тип мезофілу листової пластинки, діацитний тип продихового апарату, тип і будова ефіроолійних залозок, залозистих волосків; наявність простих багатоклітинних волосків зі спалими оболонками клітин, з прямою, загостреною або з зігнутою верхівкою термінальна клітина.

Відмінними діагностичними ознаками для досліджуваних видів є ступінь опушення трихом, розташування і кількість ефіроолійних залозок, форма

черешка, розміщення і кількість провідних пучків, форма центральної жилки на поперечному зрізі.

У всіх досліджуваних зразках листя *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata* визначено вміст макро- та мікроелементів. Аналіз проводили атомно-емісійним спектрографічним методом. Отримані дані свідчать про значний вміст у листі всіх досліджуваних видів таких макро- та мікроелементів як: калій (2050 – 3250 мг/100г), кальцій (730 – 1300 мг/100г), натрій (117 – 1175 мг/100г), силіцій (330 – 1110 мг/100г), магній (290 – 560 мг/100г) та фосфор (145 – 220 мг/100г). Загальний вміст макро- та мікроелементів найбільший у листі *S. pratensis* та становить 7488,41 мг/100 г. Вміст токсичних елементів знаходиться у межах гранично допустимих концентрацій та відповідає вимогам ДФУ. Отримані данні використані при розробці методів контролю якості на ЛРС нефармакопейних видів роду *Salvia* L.

Враховуючи здатність амінокислот проявляти біологічну активність, підвищувати біодоступність та потенціювати терапевтичний ефект інших біологічно активних речовин, було визначено їх вміст у досліджуваних зразках листя видів роду *Salvia* L. Дослідження амінокислотного складу сировини проводили методом ВЕРХ. У листі *S. officinalis*, *S. grandiflora* та *S. pratensis* було ідентифіковано по 15 амінокислот (домінуючими є глютамінова та аспарагінова кислоти, пролін та лейцин), у листі *S. verticillata* було ідентифіковано 14 амінокислот (домінуючими є глютамінова та аспарагінова кислоти, валін і лейцин). У листі *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata* серед ідентифікованих амінокислот шість є незамінними, вміст яких становить 37,03 %, 39,34 %, 38,15 % та 45,45 % від загальної кількості амінокислот у сировині відповідно.

Якісний склад та кількісний вміст фенольних сполук у листі *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata* вивчали методом ВЕРХ. Було ідентифіковано та визначено кількісний вміст 17 речовин фенольної природи, з них 6 флавоноїдів, 3 гідроксикоричні кислоти та 8 сальвіанолових кислот. Загальний вміст флавоноїдів був найбільшим у листі *S. verticillata* та становив

7,70 $\pm$ 0,35 мг/г, що в 1,57 рази більше ніж у листі фармакопейного виду *S. officinalis* (4,89 $\pm$ 0,24 мг/г). Це вказує на доцільність використання листя *S. verticillata* як джерело БАР флавоноїдної природи, зокрема похідних лютеоліну. Загальний вміст гідроксикоричних кислот був найбільшим у листі *S. grandiflora* та становив 4,49 $\pm$ 0,21 мг/г, що в 3,57 рази більше ніж у листі фармакопейного виду *S. officinalis* (1,26 $\pm$ 0,05 мг/г). Це вказує на доцільність використання листя *S. grandiflora* як джерело гідроксикоричних кислот, а саме розмаринової кислоти. Загальний вміст сальвіанолових кислот був найбільшим у листі *S. verticillata* (1,09 $\pm$ 0,05 мг/г) та *S. pratensis* (0,97 $\pm$ 0,04 мг/г), що в 1,41 разів та 1,25 відповідно більше, ніж у листі фармакопейного виду *S. officinalis* (0,77 $\pm$ 0,03 мг/г). Найбільший вміст суми всіх фенольних сполук характерний для листя *S. verticillata* та становив 9,50 $\pm$ 0,42 мг/г, що в 1,37 разів більше ніж у сировині фармакопейного виду *S. officinalis* (6,92 $\pm$ 0,33 мг/г).

Кількісне визначення фенольних сполук у листі *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata* проводили також спектрофотометричним методом. Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на лютеолін, складає 1,11 $\pm$ 0,03 %, 0,75 $\pm$ 0,04 %, 0,82 $\pm$ 0,02 % та 1,78 $\pm$ 0,05 % відповідно. Вміст суми похідних гідроксикоричних кислот у перерахунку на розмаринову кислоту складає 0,76 $\pm$ 0,04 %, 2,29 $\pm$ 0,06 %, 0,45 $\pm$ 0,03 % та 0,26 $\pm$ 0,02 % відповідно. Вміст суми фенольних сполук, у перерахунку на галову кислоту, складає 2,11 $\pm$ 0,05 %, 1,97 $\pm$ 0,03 %, 1,23 $\pm$ 0,05 % та 3,21 $\pm$ 0,02 % відповідно. За результатами спектрофотометричного вивчення вмісту фенольних сполук у листі досліджуваних видів роду *Salvia L.* флори України встановлено, що найбільший вміст похідних гідроксикоричних кислот характерний для листя *S. grandiflora*, найбільший вміст сполук флавоноїдної природи та загальний вміст фенольних сполук характерний для листя *S. verticillata*, що відповідає результатам ВЕРХ аналізу цих об'єктів. Отже, листя *S. grandiflora* та *S. verticillata* є перспективними джерелами одержання субстанцій багатих на гідроксикоричні кислоти та флавоноїди.

У результаті визначення вмісту сапонінів методом ВЕРХ у листі *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata* було ідентифіковано та визначено кількісний вміст 8 сапонінів. Зокрема, у листі *S. officinalis* ідентифіковано 8 сапонінів, домінуючими серед яких є урсолова та олеанолова кислоти; у листі *S. grandiflora* виявлено 8 сапонінів, домінуючими є урсолова та еускапова кислоти; у листі *S. pratensis* ідентифіковано 5 сапонінів, домінуючими серед яких є лупеол, урсолова та еускапова кислоти; у листі *S. verticillata* виявлено 6 сапонінів, домінуючими є бетулін, урсолова та еускапова кислоти. Загальний вміст сапонінів найбільший у листі *S. verticillata* та становить $1508,75 \pm 65,44$ мг/100г.

У результаті проведених досліджень терпеноїдного складу листя, квіток та стебел *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata* методом хромато-мас-спектрометрії було виявлено 243 речовини, з них ідентифіковано 149. У листі *S. officinalis* було виявлено 77 речовин, домінуючими були циклофенхен, камфен, 1,8-цинеол, α - та β -туйон, камфора, борнеол, каріофілен, гумулен, вірідіфлорол та 13-епіманол. У листі *S. grandiflora* було виявлено 80 речовин, домінуючими були циклофенхен, 1,8-цинеол, α - та β -туйон, камфора, борнеол, каріофілен та вірідіфлорол. У стеблі *S. grandiflora* було виявлено 26 речовин, домінуючими були циклофенхен, сабінен, 1,8-цинеол, α - та β -туйон та піранон. У квітах *S. grandiflora* було виявлено 63 речовини, домінуючими серед них були циклофенхен, β -пинен, 1,8-цинеол, α -туйон, каріофілен та вірідіфлорол. У листі *S. pratensis* було виявлено 28 речовин, домінуючими були піранон та фітол. У стеблі *S. pratensis* було виявлено 30 речовин, домінуючими були піранон та α -амірин. У квітах *S. pratensis* було виявлено 48 речовин, домінуючими були піранон, каріофілен, фітол та колавенол. У листі *S. verticillata* було виявлено 39 речовин, домінуючими були каріофілен, β -копаєн, лоліолід та фітол. У стеблі *S. verticillata* було виявлено 22 речовини, домінуючими були гліцеральдегід, дигідроксиацетон, еритритол, гліцерил моноацетат, гексадеканова кислота. У квітах *S. verticillata* було виявлено 39 речовин, домінуючими були циклофенхен, псевдолімонен, піранон, каріофілен, спатуленол та фітол.

За результатами проведених мікроскопічних досліджень, аналізу елементного складу та вмісту основних груп БАР були визначені перспективні види сировини та розроблені проекти МКЯ на листя *S. grandiflora* та *S. verticillata*. Для листя *S. grandiflora* ідентифікацію запропоновано проводити методом ТШХ за вмістом кофеїнової та розмаринової кислот. Кількісне визначення запропоновано проводити спектрофотометричним методом за сумою гідроксикоричних кислот, у перерахунку на розмаринову кислоту. Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот повинен бути не менше 2 % у перерахунку на повітряно-суху сировину. Для листя *S. verticillata* ідентифікацію запропоновано проводити методом ТШХ за вмістом лютеолін-7-глюкозиду та хлорогенової кислоти. Кількісне визначення запропоновано проводити спектрофотометричним методом за сумою флавоноїдів у перерахунку на лютеолін. Кількісний вміст суми флавоноїдів повинен бути не менше за 1,5 % у перерахунку на повітряно-суху сировину.

При розробці способу одержання нових лікарських засобів запропоновані схеми одержання субстанцій, які захищені патентом України на корисну модель 138320 та патентом України на винахід 121367. Для розробки способу одержання найбільш перспективної субстанції було використано фармакопейний вид *S. officinalis*, а потім розроблена технологія була використана для одержання модифікованих екстрактів з листя *S. grandiflora* та *S. verticillata*. Було одержано такі екстракти з листя *S. officinalis*: сухий екстракт (екстрагент – 50 % етанол) методом дрібної мацерації (у подальшому Екстракт 1); сухий екстракт з листя *S. officinalis* на основі екстракту 1, який був очищений від катіонів та амінокислот шляхом пропускання крізь колонку з катіонітом КУ-2 (у подальшому Екстракт 2); сухий екстракт з листя *S. officinalis* на основі екстракту 1, який був модифікований додаванням амінокислоти L-лізину у трьохкратній еквімолярній кількості по відношенню до суми фенольних сполук (у подальшому Екстракт 3). Для встановлення можливості створення нового лікарського засобу з протизапальною дією було проведено фітохімічне та фармакологічне дослідження одержаних екстрактів.

Визначення якісного складу та кількісного вмісту фенольних сполук в одержаних субстанціях проводили методом ВЕРХ. У досліджуваних екстрактах було ідентифіковано та визначено кількісний вміст 14 речовин фенольної природи: 6 флавоноїдів, 3 гідроксикоричних та 5 сальвіанолових кислот. Домінуючими сполуками у всіх екстрактах були рутин, апігенін, лютеолін-7-О-глюкозид та розмаринова кислота. В екстракті 1 загальний вміст флавоноїдів становить $3,61 \pm 0,15$ %, гідроксикоричних кислот – $0,84 \pm 0,02$ %, сальвіанолових кислот – $0,52 \pm 0,02$ %, загальний вміст сполук фенольної природи – $4,97 \pm 0,21$ %. В екстракті 2 загальний вміст флавоноїдів – $3,88 \pm 0,17$ % , гідроксикоричних кислот – $0,91 \pm 0,03$ % та сальвіанолових кислот – $0,57 \pm 0,02$ %, загальний вміст сполук фенольної природи – $5,36 \pm 0,23$ %. В екстракті 3 загальний вміст флавоноїдів становив $2,79 \pm 0,11$ %, гідроксикоричних кислот – $0,66 \pm 0,02$ %, сальвіанолових кислот – $0,41 \pm 0,01$ %, загальний вміст сполук фенольної природи – $3,85 \pm 0,01$ %. За результатами проведеного дослідження встановлено, що вміст загальної суми фенольних сполук в екстракті 3 зменшується на 22 % за рахунок додавання L-лізину до екстракту 1, а в екстракті 2 збільшується на 8 % за рахунок видалення амінокислот та катіонів з екстракту 1 на катіоніті КУ 2.

Якісний і кількісний аналіз амінокислот в одержаних екстрактах проводили методом ВЕРХ. Оскільки при пропусканні екстракту 1 через катіоніт КУ 2 майже всі амінокислоти та катіони залишилися на катіоніті, що було підтверджено ТШХ аналізом амінокислот в елюаті, то ВЕРХ аналіз екстракту 2 проводити було недоцільним. В екстракті 1 було ідентифіковано 15 амінокислот, з яких 8 є незамінними (треонін, валін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, гістидин, лізин, аргінін). Домінуючими амінокислотами у цьому екстракті були аспарагінова кислота, глютамін, пролін та лейцин. При одержанні екстракту 3 у технологічному процесі було додано L-лізин, що призвело до зміни співвідношення основних амінокислот, не були виявлені треонін, серин, ізолейцин та лейцин, що можливо пов'язано з утворенням комплексів та їх хімічними перетвореннями.

Вивчення протизапальної та антимікробної активності одержаних екстрактів проведено на базі ЦНДЛ НФаУ під керівництвом професора Кіресєва І.

В. та асистента Верховодової Ю. В. Протизапальну активність досліджуваних екстрактів вивчали на дослідних щурах на моделі гострого запального набряку, викликаного субплантарним введенням у задню лапку щура 0,1 мл 1 % розчину карагеніну. В результаті проведеного аналізу протизапальної активності досліджуваних екстрактів встановлено, що екстракт 1 у дозі 50 мг/кг проявляє виражену протизапальну активність (антиексудативний ефект – 84 %). При видаленні амінокислот з екстракту 1 спостерігається значне зниження протизапальної активності екстракту 2, що вказує на те, що амінокислоти мають вплив на сумарний протизапальний ефект субстанції. Введення амінокислоти L-лізин до екстракту 1 призводить до значного підвищення протизапальної активності екстракту 3 до 93 % та 89 % у дозах 50 мг/кг та 70 мг/кг відповідно. При цьому вміст фенольних сполук у екстракті 3 був на 22 % меншим, ніж у екстракті 1. Отже, встановлено, що найбільш перспективною субстанцією для створення нового лікарського засобу з протизапальною дією є сухий екстракт з листя *S. officinalis*, модифікований L-лізином. Доведено, що амінокислоти значно впливають на фармакодинаміку протизапальної активності екстрактів з листя шавлії та можуть потенціювати їх ефект.

Вивчення впливу сухого модифікованого екстракту з листя *S. officinalis* на мікрофлору кишківника в умовах експериментального інфекційного коліту демонструє здатність екстракту пригнічувати патогенну мікрофлору: *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Clostridium perfringens* та, на відміну від антибіотиків, не впливати на стан нормальної мікрофлори кишківника. Це вказує на можливість використання одержаного екстракту з листя *S. officinalis* для комплексного лікування колітів.

Відпрацьований спосіб одержання модифікованого екстракту був використаний для одержання субстанцій з листя *S. grandiflora* та *S. verticillata*.

В екстракті з листя *S. grandiflora* загальний вміст флавоноїдів становив $0,61 \pm 0,02$ %, гідроксикоричних кислот – $2,32 \pm 0,11$ %, сальвіанолових кислот – $0,06 \pm 0,002$ %, загальний вміст сполук фенольної природи – $2,99 \pm 0,11$ %. В екстракті з листя *S. verticillata* загальний вміст флавоноїдів становив $2,22 \pm 0,11$ %,

гідроксикоричних кислот – $0,38 \pm 0,01$ %, сальвіанолових кислот – $0,64 \pm 0,02$ %, загальний вміст сполук фенольної природи – $3,24 \pm 0,12$ %.

Протизапальну активність екстракти з листя *S. grandiflora* та *S. verticillata* проявили на рівні екстракту 3 з листя *S. officinalis*. Найбільш ефективною дозою для одержаних екстрактів була 50 мг/кг.

Розроблено проєкт МКЯ «Листя шавлії лікарської екстракт сухий модифікований» та згідно з його вимогами проведено дослідження екстракту з листя *S. officinalis*, модифікованого L-лізином. Проєкт МКЯ на сухий екстракт з листя *S. officinalis* розроблено за такими показниками: опис, розчинність, ідентифікація (ТШХ: метод А (флавоноїди) та В (амінокислоти)), втрата в масі при висушування (не більше 5 %), залишкові кількості органічних розчинників (етанол не більше 1,0 %), важкі метали (не більше 100 ppm), мікробіологічна чистота, вміст флавоноїдів (не менше 2 % у перерахунку на лютеолін). Усі серії одержаних екстрактів відповідали вимогам розробленої документації. Проєкт МКЯ на сухий модифікований екстракт апробується у лабораторних умовах ТОВ ««КФК» Грін фарм Косметик» (м. Харків, Україна) та Bupharmexport SRL (м. Брюссель, Бельгія), про що свідчать акти впровадження.

Ключові слова: шавлія, флора України, листя, сухий екстракт, модифікація, біологічно активні речовини, протизапальна активність.

Список публікацій здобувача

1. Мига М. М., Кошовий О. М. Дослідження фенольного складу сухих екстрактів з листя шавлії лікарської. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2014. Вип. 23, № 4. С. 332–336 (Особисто здобувачем проведено аналіз літературних джерел, виконано частину експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

2. Мыга М. М., Романенко Е. А., Кошевой О. Н. Исследование фенольных соединений спиртового экстракта листьев шалфея лекарственного. *Вестник пермской государственной фармацевтической академии*. 2013. № 11. С. 114–115 (Особисто здобувачем виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

3. Prospects of new drugs creation based on the extracts from *Salvia officinalis* leaves / O. N. Koshovyi, M. M. Myha, Yu. V. Verkhovodova, I. V. Kireev, T. V. Ilina. *Oxford Review of Education and Science*. 2016. № 1 (11). P. 474–478 (Особисто здобувачем виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

4. Research into chemical composition and anti-inflammatory activity of the sage leaves alcoholic extract / O. N. Koshovyi M. M. Myha, Yu. V. Verkhovodova, I. V. Kireev, T. V. Ilina. *Science, Education and Culture in Eurasia and Africa : Proceedings of the 6th International Academic Congress, Paris, 23–25 March 2016*. Paris, 2016. P. 578–582 (Особисто здобувачем виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

5. Дослідження фенольних сполук листя нефармакопейних видів роду *Salvia* флори України / М. М. Мига, О. М. Кошовий, Т. В. Ільїна, Н. В. Бородіна, М. І. Скибіцька. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. № 3. С. 291–297 (Особисто здобувачем виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

6. Фітохімічний профіль та протизапальна активність сухих екстрактів з листя шавлії лікарської / М. М. Мига, Ю. В. Верховодова, О. М. Кошовий, І. В. Кіреєв, Т. В. Ільїна. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 4. С. 38–41 (Особисто здобувачем виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

7. Порівняльне фармакогностичне та фармакологічне дослідження листя *Salvia verticillata* та *Salvia officinalis* для встановлення перспективи створення нового лікарського засобу / М. М. Мига, О. М. Кошовий, О. В. Гамуля, Ю. В. Верховодова, І. В. Кіреєв, А. М. Комісаренко. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, № 1 (32). С. 61–71 (Особисто здобувачем виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

8. Phytochemical study of *Salvia grandiflora* and *Salvia officinalis* leaves for establishing prospects for use in medical and pharmaceutical practice / М. М. Myha, О.

M. Koshovyi, O. V. Gamulya, T. V. Ilina, N. V. Borodina, I. M. Vlasova. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2020. № 1 (23). P. 23 – 28 (Особисто здобувачем виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

9. The effect of common sage extracts on the intestinal microbiota in experimental infectious colitis / Yu. Verkhovodova, I. Kireyev, O. Koshovyi, M. Myha, T. Osolodchenko. *Georgian Medical News*. 2020. № 4 (301). P. 165–170 (Проведено експериментальну частину дослідження, підготовлено статтю до друку).

10. The phytochemical and chemotaxonomic study of *Salvia* spp. growing in Ukraine / O. N. Koshovyi, A. Raal, A. Kovaleva, M. Myha, T. Ilina, N. Borodina, A. Komissarenko. *J. Appl. Biol. Biotech.* 2020. Vol. 8, № 3. P. 29–36 (Проведено експериментальну частину дослідження, підготовлено статтю до друку).

11. Вовк Г. В., Кошовий О. М., Ковальова А. М., Рибак В. А., Комісаренко А. М., Мига М. М. Спосіб одержання засобу з листя шавлії лікарської з антимікробною та протизапальною активністю : пат. на кор. мод. 92310 Україна. № u 201402605 ; заявл. 14.03.2014 ; опубл. 11.08.14, Бюл. № 15. 4 с. (Виконана частина експериментального дослідження).

12. Вовк Г. В., Кошовий О. М., Ковальова А. М., Рибак В. А., Комісаренко А. М., Мига М. М. Спосіб одержання засобу з листя шавлії лікарської шляхом комплексної переробки : пат. на винахід 110990 Україна. № а 201402604 ; заявл. 14.03.2014 ; опубл. 10.03.2016, Бюл. № 5. 4 с. (Виконана частина експериментального дослідження).

13. Кіреєв І. В., Кошовий О. М., Верховодова Ю. В., Мига М. М. Спосіб одержання сухого екстракту з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю : пат. на кор. мод. 138320 Україна. № u 201904814 ; заявл. 06.05.2019 ; опубл. 25.11.2019, Бюл. № 22. 4 с. (Виконана частина експериментального дослідження, підготовлені матеріали для подання в патентне бюро).

14. Кіреєв І. В., Кошовий О. М., Верховодова Ю. В., Мига М. М. Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю : пат. на винахід 121367 Україна. № а 201904796 ; заявл. 06.05.2019 ; опубл. 12.05.2020, Бюл. № 8. 3 с. (Виконана частина

експериментального дослідження, підготовлені матеріали для подання в патентне бюро).

15. Мига М. М., Кошовий О. М. Фенольний склад листя шавлії лікарської. *Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій* : матеріали Укр. наук.–практ. конф., присвяч. 100–річчю з дня народж. д–ра хім. наук, проф. Павла Олексійовича Петюніна, м. Харків, 24–25 квіт. 2014 р. Харків, 2014. С. 115.

16. Мига М. М., Кошовий О. М., Верховодова Ю. В. Дослідження фенольного складу та протизапальної активності сухого екстракту з листя шавлії лікарської. *Матеріали VIII Національного з'їзду фармацевтів, м. Харків, 13–16 верес. 2016 р. : в 2-х т.* Харків, 2016. Т. 1. С. 116.

17. Tukas A. A., Myga M. M., Koshovyi O. M. Parameters of standardization of the *Salvia officinalis* leaves dry extract. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : тези доп. XXIII Міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 21 квіт. 2016 р. Харків : НФаУ, 2016. Т. 1. С. 127.

18. The search for new sources of triterpene saponins among the representatives of the *Salvia* genus in the flora of Ukraine / M. M. Myha, O. Koshovyi, T. Ilina, N. Borodina, O. Golembiovska *Sciences and Practice 2018 : the 9th International Pharmaceutical Conference, dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy, Kaunas, Lithuania, 09th November, 2018. Kaunas, 2018. P. 39.*

19. Аналіз мікроелементного складу представників роду *Salvia* флори України / М. М. Мига, О.М. Кошовий, М. І. Скибіцька, О. І. Голембіовська *Науково–технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VII наук.–практ. конф. з міжнар. участю, 27–28 верес. 2018 р. Тернопіль : ТДМУ «Укрмедкнига», 2018. С. 30–32.

20. Parameters of the quantitative determination when standardizing *Salvia grandiflora* leaves/ M. M. Myha, O. M. Koshovyi, T. V. Ilina, N. V. Borodina *Sciences and Practice 2019 : the 10th International Pharmaceutical Conference, Kaunas, Lithuania, 15th November, 2019. Kaunas, 2019. P. 86.*

21. Визначення параметрів стандартизації листя *Salvia grandiflora* / М. М. Мига О.М. Кошовий, Т.В. Ільїна, Н.В. Бородіна *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку*: матеріали наук.–практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 19 верес. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 277–278.

22. Мікроскопічний аналіз листя *Salvia grandiflora* / М. М. Мига, О. М. Кошовий, О. В. Гамуля, М. І. Скибіцька *PLANTA+. Досягнення та перспективи* : матеріали Міжнар. наук.–практ. конф., присвяч. пам'яті д-ра хім. наук, проф. Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження), м. Київ, 20–21 лют. 2020 р. Київ : Паливода А. В., 2020. С. 256–259.

ABSTRACT

Myha M. M. The pharmacognostic study of some species of *Salvia L.* genus of the flora of Ukraine for creating new medicines. – A qualifying scientific work as a manuscript.

The thesis for a degree of Doctor of Philosophy (PhD) in speciality 226 “Pharmacy” (22 – Healthcare). – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2020.

The thesis is devoted to the pharmacognostic study of the raw material of promising species of *Salvia L.* (sage) genus of the flora of Ukraine, development of methods for obtaining extracts, their phytochemical and pharmacological study, determination of parameters for standardization of leaves of the promising species and the most promising substances based on them.

Using the chemotaxonomy method a dendrogram of *Salvia L.* genus of the flora of Ukraine was constructed by chemical characteristics, and it was found that the most promising species for introduction into pharmaceutical and medical practice were *S. grandiflora*, *S. pratensis* and *S. verticillata*, the raw material of them was then studied.

The study of the morphological and anatomical structure of leaves of promising species of *Salvia L.* genus of the flora of Ukraine was performed by light microscopy. According to the results of the microscopic studies of *S. verticillata*, *S. pratensis* and *S. grandiflora* leaves a set of features that could be considered common to these species was determined. They are dorsiventral type of the leaf blade mesophyll, diacytic type of

the stomatal apparatus, type and structure of essential oil glands, glandular hairs; the presence of simple multicellular hairs with burnt cell membranes, the terminal cell can be straight pointed or with a curved tip. Distinctive diagnostic features for the species studied are the degree of pubescence with trichomes, location and the number of essential oil glands, the shape of the petiole, placement and the number of vascular bundles, the shape of the central vein on the cross section.

In all samples of *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* and *S. verticillata* leaves studied the content of macro- and microelements was determined. The analysis was performed by the atomic emission spectrographic method. The data obtained indicate that leaves of all the species studied have a significant content of such macro- and microelements as silicium (330 – 1110 mg/100 g), phosphorus (145 – 220 mg/100 g), magnesium (290 – 560 mg/100 g), calcium (730 – 1300 mg/100 g), sodium (117 – 1175 mg/100 g) and potassium (2050 – 3250 mg/100 g). The total content of macro- and microelements is the highest in *S. pratensis* leaves and is 7488.41 mg/100 g. The content of toxic elements is within the maximum permissible concentrations. The data obtained were used when developing the quality control methods (QCM) for the medicinal plant raw material (MPRM) of non-pharmacopoeial species of *Salvia L.* genus.

Taking into account the ability of amino acids to exhibit the biological activity, increase bioavailability and potentiate the therapeutic effect of other biologically active substances (BAS) their content in the test samples of leaf species of *Salvia L.* genus was determined. The study of the amino acid composition of the raw material was conducted by HPLC. In leaves of *S. officinalis*, *S. grandiflora* and *S. pratensis* 15 amino acids (glutamic and aspartic acids, proline and leucine dominated) were identified; in leaves of *S. verticillata* 14 amino acids (glutamic and aspartic acids, valine and leucine dominated) were identified. In leaves of *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* and *S. verticillata* among the amino acids identified, 6 were essential, their content was 37.95, 38.82, 37.65 and 45.43 % of the total amount of amino acids in the raw material, respectively.

The qualitative composition and the quantitative content of phenolic compounds

in *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* and *S. verticillata* leaves were studied by HPLC. The content of 17 substances of phenolic nature, including 6 flavonoids, 3 hydroxycinnamic acids and 8 salvianolic acids, was identified and quantified. The total content of flavonoids was the highest in *S. verticillata* leaves and was 7.70 ± 0.35 mg/g, which was 1.57 times more than in leaves of the pharmacopoeial species of *S. officinalis* (4.89 ± 0.24 mg/g). This indicates the feasibility of using *S. verticillata* leaves as a source of BAS of flavonoid nature. The total content of hydroxycinnamic acids was the highest in *S. grandiflora* leaves and was 4.49 ± 0.21 mg/g, which was 3.57 times more than in leaves of the pharmacopoeial species of *S. officinalis* (1.26 ± 0.05 mg/g). This indicates the feasibility of using *S. grandiflora* leaves as a source of hydroxycinnamic acids, namely rosmarinic acid. The total content of salvianolic acids was the highest in leaves of *S. verticillata* (1.09 ± 0.05 mg/g) and *S. pratensis* (0.97 ± 0.04 mg/g), which was 1.41 and 1.25 times more than in leaves of the pharmacopoeial species of *S. officinalis* (0.77 ± 0.03 mg/g). The highest content of the amount of all phenolic compounds was characteristic for *S. verticillata* leaves and was 9.50 ± 0.42 mg/g, which was 1.37 more than in the raw material of the pharmacopoeial species of *S. officinalis* (6.92 ± 0.33 mg/g).

The quantitative determination of phenolic compounds in leaves of *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* and *S. verticillata* was also performed by the spectrophotometric method. The content of the amount of flavonoids calculated with reference to luteolin was 1.11 ± 0.03 , 0.75 ± 0.04 , 0.82 ± 0.02 and 1.78 ± 0.05 %, respectively. The content of the amount of hydroxycinnamic acid derivatives calculated with reference to rosmarinic acid was 0.76 ± 0.04 , 2.29 ± 0.06 , 0.45 ± 0.03 and 0.26 ± 0.02 %, respectively. The content of the amount of phenolic compounds calculated with reference to gallic acid was 2.11 ± 0.05 , 1.97 ± 0.03 , 1.23 ± 0.05 and 3.21 ± 0.02 %, respectively. Based on the results of the spectrophotometric study of the content of phenolic compounds in leaves of the species of *Salvia L.* genus of the flora of Ukraine it has been found that the highest content of hydroxycinnamic acid derivatives is characteristic for *S. grandiflora* leaves, while the highest content of flavonoid compounds and the total content of phenolic compounds are typical for *S.*

verticillata leaves. It corresponds to the results of the HPLC analysis of these objects. Therefore, leaves of *S. grandiflora* and *S. verticillata* are promising sources for obtaining substances that are rich in hydroxycinnamic acids and flavonoids, respectively.

As a result of the HPLC analysis of the saponin content in leaves of *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* and *S. verticillata* the content of 8 saponins was identified and quantified. In particular, in leaves of *S. officinalis* 8 saponins were found, among them ursolic and oleanolic acid dominated; in leaves of *S. grandiflora* 8 saponins were identified, the dominant ones were ursolic and euskapic acids; in leaves of *S. pratensis* 5 saponins were identified, among them lupeol, ursolic and euskapic acids were dominant; in leaves of *S. verticillata* 6 saponins were found, the dominant ones were betulin, ursolic and euskapic acids. The total saponin content was the highest in *S. verticillata* leaves and was 1508.75 ± 65.44 mg/100 g.

As a result of the studies of the terpenoid composition of leaves, flowers and stems of *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* and *S. verticillata* using chromatomass spectrometry 243 substances were found, among them 149 substances were identified. In leaves of *S. officinalis* 77 substances were identified, the dominant ones were cyclofenchene, camphene, 1,8-cineol, α -thujone, β -thujone, camphor borneol, caryophyllene, humulene, viridiflorol and 13-epimanol. In leaves of *S. grandiflora* 80 substances were found, the dominant ones were cyclofenchene, 1,8-cineol, α -thujone, β -thujone, camphor borneol, caryophyllene and viridiflorol. In the stem of *S. grandiflora* 26 substances were identified, cyclofenchene, sabinene, 1,8-cineol, α -thujone, β -thujone and pyranone dominated. In flowers of *S. grandiflora* 63 substances were found, the dominant among them were cyclofenchene, β -pinene, 1,8-cineol, α -thujone, caryophyllene and viridiflorol. In leaves of *S. pratensis* 28 substances were found, pyranone and phytol dominated. In the stem of *S. pratensis* 30 substances were identified, the dominant ones were pyranone and α -amyrin. In flowers of *S. pratensis* 48 substances were found, the dominant ones were pyranone, caryophyllene, phytol and colavenol. In leaves of *S. verticillata* 39 substances were identified, the dominant ones were caryophyllene, β -copaene, loliolide, and phytol. In the stem of *S. verticillata* 22

substances were found. In flowers of *S. verticillata* 39 substances were identified, the dominant ones were cyclofenchene, pseudolimonene, pyranone, caryophyllene, spathulenol and phytol.

Based on the results of the microscopic studies, the analysis of the elemental composition and the content of the main groups of BAS the promising types of the raw material were identified, and the QCM drafts for leaves of *S. grandiflora* and *S. verticillata* were developed. The identification for *S. grandiflora* leaves was proposed to be carried out by the TLC method by the content of caffeic and rosmarinic acids. The quantitative determination was proposed to be carried out by the spectrophotometric method by the amount of hydroxycinnamic acid derivatives calculated with reference to rosmarinic acid. The quantitative content of the amount of hydroxycinnamic acid derivatives should be at least 2 % calculated with reference to dried substance. The identification for *S. verticillata* leaves was proposed to be carried out by the TLC method by the content of luteolin-7-glucoside and chlorogenic acid. The quantitative determination was proposed to be carried out by the spectrophotometric method by the amount of flavonoids calculated with reference to luteolin. The quantitative content of the amount of flavonoids should be at least 1.5 % calculated with reference to dried substance.

To develop a method for obtaining new medicines, schemes for obtaining substances were proposed. To develop a method for obtaining the most promising substance, the pharmacopoeial species of *S. officinalis* was used, and then the technology developed was used to produce modified extracts from leaves of *S. grandiflora* and *S. verticillata*. The following extracts were obtained from *S. officinalis* leaves: a dry extract from *S. officinalis* leaves obtained with 50 % ethyl alcohol by fractional maceration (hereinafter referred to as Extract 1); a dry extract from *S. officinalis* leaves based on Extract 1 purified from cations and amino acids by passing through a column with KU-2 cationite (hereinafter referred to as Extract 2); a dry extract from *S. officinalis* leaves based on Extract 1 modified by adding the amino acid L-lysine in a triple equimolar amount relative to the amount of phenolic compounds (hereinafter referred to as Extract 3). To determine the possibility of creating a new drug

with the anti-inflammatory effect, the phytochemical and pharmacological studies of the extracts obtained were conducted.

The qualitative composition and the quantitative content of phenolic compounds in the substances obtained were determined by HPLC. In the extracts studied the quantitative content of 14 substances of phenolic nature was identified and determined: 6 flavonoids, 3 hydroxycinnamic and 5 salvianolic acids. The dominant compounds in all extracts were rutin, apigenin, luteolin-7-O-glucoside, and rosmarinic acid. In Extract 1 the total content of flavonoids was 3.61 ± 0.15 %, hydroxycinnamic acids – 0.84 ± 0.02 %, salvianolic acids – 0.52 ± 0.02 %, the total content of phenolic compounds – 4.97 ± 0.21 %. In Extract 2 the total content of flavonoids – 3.88 ± 0.17 %, hydroxycinnamic acids – 0.91 ± 0.03 % and salvianolic acids – 0.57 ± 0.02 %, the total content of phenolic compounds – 5.36 ± 0.23 %. In Extract 3 the total content of flavonoids was 2.79 ± 0.11 %, hydroxycinnamic acids – 0.66 ± 0.02 %, salvianolic acids – 0.4 ± 0.01 %, the total content of phenolic compounds – 3.85 ± 0.01 %. According to the results of the study of phenolic compounds conducted in the extracts obtained it was found that the content of the total amount of phenolic compounds in Extract 3 decreased by 22 % due to the addition of L-lysine to Extract 1, while in Extract 2 increased by 8 % due to the removal of amino acids and cations from Extract 1 on KU-2 cationite.

The qualitative and quantitative analysis of amino acids in the extracts obtained was performed by HPLC. Since when Extract 1 was passed through KU-2 cationite almost all amino acids and cations remained on the cationite, and it was confirmed by the TLC analysis of amino acids in the eluate, the HPLC analysis of Extract 2 was not recommended. In Extract 1, 15 amino acids were identified, among them 8 were essential (threonine, valine, isoleucine, leucine, phenylalanine, histidine, lysine, arginine). The dominant amino acids in this extract were aspartic acid, glutamine, proline, and leucine. When obtaining Extract 3 L-lysine was added during the technological process, which led to a change in the ratio of basic amino acids: threonine, serine, isoleucine and leucine were not detected. It might be due to the formation of complexes and their chemical transformations.

The study of the anti-inflammatory and antimicrobial activity of the extracts obtained was carried out at the premises of the Central Research Laboratory of the National University of Pharmacy under the supervision of professor I. V. Kireev and teaching assistant Yu. V. Verkhovodova. The anti-inflammatory activity of the extracts under research was studied in the experimental rats on the model of acute inflammatory edema caused by the subplantar administration of 0.1 ml of 1 % carrageenan solution into the rat's hind paw. As a result of the analysis of the anti-inflammatory activity of the extracts studied it was found that Extract 1 in the dose of 50 mg/kg showed a pronounced anti-inflammatory activity (the anti-exudative effect – 84 %). When removing amino acids from Extract 1 there was a significant decrease in the anti-inflammatory activity of Extract 2, indicating that amino acids had an impact on the total anti-inflammatory effect of the substance. The introduction of the amino acid L-lysine into Extract 1 led to a significant increase in the anti-inflammatory activity of Extract 3 to 93 and 89 % in the doses of 50 and 70 mg/kg, respectively. At the same time, the content of phenolic compounds in Extract 3 was 22 % less than in Extract 1.

Thus, it has been found that the most promising substance for creating a new drug with the anti-inflammatory effect is a dry extract from leaves of *S. officinalis* modified with L-lysine. Amino acids have been shown to significantly affect the pharmacodynamics of the anti-inflammatory activity of sage leaf extracts and may potentiate their effect.

The study of the effect of a dry modified extract from *S. officinalis* leaves on the intestinal microflora in the experimental infectious colitis demonstrated the ability of the extract to suppress the pathogenic microflora (*Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Clostridium perfringens*) and unlike antibiotics did not to affect the normal intestinal microflora state. This indicates the possibility of using the extract from leaves of *S. officinalis* for the complex treatment of colitis.

The proven method for obtaining a modified extract was used to obtain substances from leaves of *S. grandiflora* and *S. verticillata*.

In the extract from *S. grandiflora* leaves the total content of flavonoids was 0.61 ± 0.02 %, hydroxycinnamic acids – 2.32 ± 0.11 %, salvianolic acids – 0.06 ± 0.002 %,

the total content of phenolic compounds – $2.99 \pm 0.11\%$. In the extract from *S. verticillata* leaves the total content of flavonoids was $2.22 \pm 0.11\%$, hydroxycinnamic acids – $0.38 \pm 0.01\%$, salvianolic acids – $0.64 \pm 0.02\%$, the total content of phenolic compounds – $3.24 \pm 0.12\%$.

Extracts from leaves of *S. grandiflora* and *S. verticillata* revealed the anti-inflammatory activity at the level of Extract 3 from *S. officinalis* leaves. The most effective dose for the extracts obtained was 50 mg/kg.

The QCM drafts were developed, and the study of the extract from *S. officinalis* leaves modified with L-lysine was conducted in accordance with their requirements. The QCM draft for a dry sage extract was developed according to the following indicators: description, solubility, identification (TLC: method A (flavonoids) and B (amino acids)), loss on drying (not more than 5 %), residual amounts of organic solvents (ethyl alcohol not more than 1.0 %), heavy metals (not more than 100 ppm), microbiological purity, flavonoid content (not less than 2 % calculated with reference to luteolin). All batches of the extracts obtained met the requirements of the documentation developed. The QCM drafts developed for a dry modified extract are reproduced in the laboratory conditions of LLC “CPC Green Pharm Cosmetics” (Kharkiv, Ukraine) and Brupharmexport SRL (Brussels, Belgium), as evidenced by the implementation certificates.

Key words: sage, flora of Ukraine, leaves; dry extract, modification, biologically active substances, anti-inflammatory activity.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	24
ВСТУП.....	2525
РОЗДІЛ 1. РОСЛИНИ РОДУ ШАВЛІЯ (<i>SALVIA</i> L.) – ДЖЕРЕЛА БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ТА ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	32
1.1 Загальна характеристика представників роду Шавлія	32
1.2 Хімічний склад представників роду Шавлія	33
1.3 Фармакологічна активність БАР представників роду Шавлія	34
1.3.1. Антиоксидантна активність БАР представників роду Шавлія.....	35
1.3.2 Вплив БАР представників роду Шавлія на ЦНС	36
1.3.3 Застосування представників роду Шавлія для корекції метаболічного профілю при цукровому діабеті.....	37
1.3.4 Застосування представників роду Шавлія при онкологічних захворюваннях	38
1.3.5 Використання представників роду Шавлія для корекції рівня холестерину та при ожирінні.....	39
1.3.6 Використання БАР представників роду шавлія при лікуванні гормональних порушень	40
1.3.7 Антибактеріальна активність БАР представників роду Шавлія	40
1.3.8. Використання БАР представників роду шавлія при порушеннях моторики ШКТ.....	41
1.4 Лікарські засоби до складу яких входять БАР шавлія лікарська	42
1.5 Токсичність засобів на основі БАР представників роду Шавлія	65
РОЗДІЛ 2. ВІДОМОСТІ ПРО ПРИЛАДИ, МАТЕРІАЛИ, МЕТОДИКИ І РЕАКТИВИ	68
РОЗДІЛ 3 ФІТОХІМІЧНИЙ ТА ФАРМАКОГНОСТИЧНИЙ АНАЛІЗ ЛИСТЯ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ <i>SALVIA</i> ФЛОРИ УКРАЇНИ	80
3.1 Виявлення перспективних видів роду <i>Salvia</i> флори України	80

3.2	Макроскопічний аналіз листя <i>S. grandiflora</i> , <i>S. pratensis</i> та <i>S. verticillata</i>	83
3.2.1	Макроскопічний аналіз листя <i>S. grandiflora</i>	83
3.2.2	Макроскопічний аналіз листя <i>S. pratensis</i>	84
3.2.3	Макроскопічний аналіз листя <i>S. verticillata</i>	86
3.3	Мікроскопічний аналіз листя <i>S. grandiflora</i> , <i>S. pratensis</i> та <i>S. verticillata</i>	87
3.3.1	Результати дослідження морфолого-анатомічної будови листя <i>S. verticillata</i>	87
3.3.2.	Результати дослідження морфолого-анатомічної будови листя <i>S. grandiflora</i>	91
3.3.3	Результати дослідження морфолого-анатомічної будови листя <i>S. pratensis</i>	94
3.3.4.	Визначення спільних та діагностичних ознак досліджуваних видів шавлії	98
3.4	Хімічний аналіз листя <i>S. officinalis</i> , <i>S. grandiflora</i> , <i>S. pratensis</i> та <i>S. verticillata</i>	99
3.4.1	Мікроелементний склад листя <i>S. officinalis</i> , <i>S. grandiflora</i> , <i>S. pratensis</i> та <i>S. verticillata</i>	99
3.4.2	Амінокислотний склад листя <i>S. officinalis</i> , <i>S. grandiflora</i> , <i>S. pratensis</i> та <i>S. verticillata</i>	101
3.4.3	Хроматографічний аналіз фенольних сполук листя <i>S. officinalis</i> , <i>S. grandiflora</i> , <i>S. pratensis</i> та <i>S. verticillata</i>	103
3.4.4.	Визначення вмісту фенольних сполук у листі <i>S. officinalis</i> , <i>S. grandiflora</i> , <i>S. pratensis</i> та <i>S. verticillata</i>	107
3.4.5.	Хроматографічний аналіз вмісту сапонінів у листі <i>S. officinalis</i> , <i>S. grandiflora</i> , <i>S. pratensis</i> та <i>S. verticillata</i>	109
3.4.6	Хроматографічний аналіз летких фракцій листя <i>S. officinalis</i> , листя, стебел та квіток <i>S. grandiflora</i> , <i>S. pratensis</i> та <i>S. verticillata</i>	112

РОЗДІЛ 4. ФІТОХІМІЧНЕ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСТРАКТІВ ІЗ ЛИСТЯ ПЕРСПЕКТИВНИХ ВИДІВ ШАВЛІЙ ФЛОРИ УКРАЇНИ	126
4.1 Обґрунтування вибору екстрагенту для одержання екстрактів з листя <i>S. officinalis</i>	126
4.2 Розробка принципової схеми одержання екстрактів із листя <i>S. officinalis</i>	132
4.3 Фітохімічне дослідження екстрактів із листя <i>S. officinalis</i>	134
4.3.1. Дослідження вмісту фенольних сполук	134
4.3.2 Дослідження вмісту амінокислот	136
4.3.3. Дослідження протизапальної активності одержаних екстрактів.	138
4.3.4 Дослідження антимікробної активності одержаних екстрактів ...	139
4.4 Перспективи використання модифікованих екстрактів із листя <i>S. grandiflora</i> та <i>S. verticillata</i> для створення протизапальних лікарських засобів	140
4.4.1 Дослідження вмісту фенольних сполук	141
4.4.2 Дослідження вмісту амінокислот	143
4.4.3 Дослідження протизапальної активності	144
4.4.4 Дослідження антимікробної активності.....	145
РОЗДІЛ 5 ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ СТАНДАРТИЗАЦІЇ ЛИСТЯ <i>S. GRANDIFLORA</i> , <i>S. VERTICILLATA</i> ТА СУХОГО МОДИФІКОВАНОГО ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ <i>S. OFFICINALIS</i>	149
5.1 Розробка проєкту МКЯ на листя <i>S. grandiflora</i> L.....	149
5.2. Розробка проєкту МКЯ на листя <i>S. verticillata</i> L.....	154
5.3 Стандартизація шавлії лікарської листя екстракту сухого	160
ВИСНОВКИ.....	172
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	175
ДОДАТКИ.....	193

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АЕС – атомно-емісійна спектроскопія;
БАР – біологічно активні речовини;
ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;
ГЗ – градуювальник зразок;
ГХ-МС – газова хроматографія – мас-спектрометрія;
ДФУ – Державна фармакопея України;
ЛПВЩ – ліпопротеїни високої щільності;
ЛПНЩ – ліпопротеїни низької щільності;
ЛР – лікарська рослина;
ЛРС – лікарська рослинна сировина;
МКЯ – методи контролю якості;
МОЗ – міністерство охорони здоров'я;
НАМН – Національна академія медичних наук;
НД – нормативна документація;
НПЗЗ – нестероїдні протизапальні засоби;
НФаУ – Національний фармацевтичний університет;
ПХ – паперова хроматографія;
РСЗ – робочий стандартний зразок;
СФ – спектрофотометрія;
ТУ – технічні умови;
ТШХ – тонкошарова хроматографія;
ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок;
УФ-спектр – ультрафіолетовий спектр;
ЦНДЛ – Центральна науково-дослідна лабораторія;
ЦНС – центральна нервова система.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Сучасна наукова спільнота приділяє велику увагу вивченню, розробці і впровадженню у практику лікарських препаратів для лікування захворювань, що супроводжуються розвитком запального процесу. Запалення є типовим патологічним процесом, що лежить в основі багатьох захворювань, широко розповсюджене, супроводжуються тяжкими клінічними проявами і є причиною часткової чи повної втрати працездатності великих груп населення. У всьому світі НПЗЗ щорічно приймає близько трьохсот мільйонів людей і ця цифра постійно збільшується. Водночас застосування НПЗЗ є також одною з найбільш частих причин виникнення побічних ефектів медикаментозної терапії. В США побічні ефекти від застосування НПЗЗ займають 15 місце за частотою причин смертності. Так, у США тільки внаслідок НПЗЗ-гастропатій кожного року помирає близько 16500 хворих, а у Великобританії – близько 2000. Розробка та впровадження нових протизапальних засобів з мінімальною побічною дією є актуальним завданням сучасної фармацевтичної галузі.

Перспективним напрямом є розробка лікарських засобів протизапальної дії з лікарської рослинної сировини. Для лікарських засобів рослинного походження характерна комплексна дія різних груп БАР, широкий спектр фармакологічної активності та низький рівень прояву побічних реакцій. Це дозволяє проводити ефективну та безпечну фармакотерапію різних станів. Особливу увагу привертають представники роду шавлія, які здавна використовують у традиційній та офіційній медицині для лікування багатьох захворювань та для зняття запального процесу різної етіології. Найбільш відомою сировиною цього роду є шавлії лікарської листя.

Шавлія лікарська (*S. officinalis* L.) є добре вивченою ефірноолійною рослиною, яку широко використовують для виготовлення лікарських засобів та спеціальних харчових продуктів. За останні 10 років накопичено значний масив даних щодо хімічного складу та фармакологічних властивостей БАР інших

представників роду *Salvia* L., який включає більше 900 видів з усього світу, 21 вид зростає в Україні [2, 3].

За результатами хемотаксономічного аналізу роду Шавлія (*Salvia* L.) флори України встановлено, що всі види характеризуються наявністю монотерпеноїдів, таких як α - та β -пінен, похідних камфану (камфен, камфора, борнеол), *n*-цимен, 1,8-цинеол, лімонен, гідроксикоричних кислот – похідних кофейної кислоти (кофейна і розмаринова кислоти) та флавоноїдів – похідних лютеоліну та апігеніну (цинарозид, космосеїн, гіспідулін та цирсимаритин). Найбільш перспективними видами для використання у фармацевтичній промисловості були визначені *S. grandiflora*, *S. cernua*, *S. pratensis*, *S. nemorosa* та *S. verticillata*, які містять значну кількість фенольних сполук та терпеноїдів [4]. З огляду на вищевикладене, пошук і дослідження найбільш перспективних видів роду Шавлія (*Salvia* L.) флори України для створення на їх основі нових лікарських засобів є актуальним завданням сучасної фармації.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційну роботу виконано відповідно до плану проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України, як фрагмент комплексної наукової роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (номер державної реєстрації 0114U000946).

Мета і завдання дослідження

Метою роботи було фармакогностичне вивчення та стандартизація листя перспективних видів роду Шавлія флори України, фітохімічний та фармакологічний аналіз екстрактів, одержаних на їх основі, для встановлення перспективи створення нових лікарських засобів з протизапальною дією.

Для досягнення цієї мети були поставлені такі завдання:

- проаналізувати та узагальнити дані первинних джерел з ботанічної характеристики, ареалів розповсюдження, вивчення хімічного складу та застосування у медицині перспективних видів роду Шавлія флори України;
- використовуючи хемотаксономічні дослідження визначити найбільш

перспективні види роду Шавлія флори України;

- провести фармакогностичне вивчення листя перспективних видів роду Шавлія флори України;
- розробити схеми одержання екстрактів з листя досліджуваних видів роду Шавлія флори України;
- провести дослідження хімічного складу екстрактів, одержаних з листя досліджуваних видів роду Шавлія флори України;
- дослідити протизапальну та антибактеріальну активність одержаних екстрактів з листя досліджуваних видів;
- провести стандартизацію та розробити проекти методів контролю якості на листя перспективних видів роду Шавлія флори України та екстрактів на їх основі.

Об'єкт дослідження: фармакогностичне вивчення листя перспективних видів роду Шавлія флори України, а саме *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*, фітохімічний та фармакологічний аналіз екстрактів на їх основі для створення нових лікарських засобів з протизапальною активністю.

Предмет дослідження: Виявлення, ідентифікація та кількісний вміст БАР у листі перспективних видів роду Шавлія флори України, екстрактах, одержаних на їх основі; параметри стандартизації листя перспективних видів та екстрактів; протизапальна та антимікробна активність екстрактів.

Методи дослідження

Для вирішення поставлених завдань були застосовані сучасні методи: тонкошарова хроматографія (ТШХ), паперова хроматографія (ПХ), високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), хромато-мас-спектрометрія (ГХ-МС), спектрофотометрія (СФ) в УФ та видимій областях спектру; дослідження біологічної активності проводили за допомогою методів *in vivo* (протизапальна активність – на моделі гострого запального карагенінового набряку) та *in vitro* (антибактеріальна активність – методом дифузії в агар). Статистичну обробку одержаних результатів досліджень здійснювали за допомогою комп'ютерної програми Excel-7.0 (Microsoft Corp., США).

Наукова новизна одержаних результатів

Уперше проведено комплексне фармакогностичне дослідження перспективних видів роду Шавлія флори України: *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*, у порівнянні з фармакопейною сировиною – *S. officinalis* листям.

Для листя *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata* проведено дослідження морфолого-анатомічної будови методом світлової мікроскопії та вперше виявлено спільні та діагностичні ознаки.

Уперше у листі *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata* вивчений вміст макро- та мікроелементів, 15 амінокислот, 17 речовин фенольної природи (6 флавоноїдів, 3 гідроксикоричних та 8 сальвіанолових кислот), 8 сапонінів та 243 летких речовин, визначено їх кількісний вміст. Встановлено, що найбільший вміст флавоноїдів характерний для листя *S. verticillata*, який в 1,5 рази більший, ніж у листі фармакопейного виду *S. officinalis*. Тому, листя *S. verticillata* є перспективним джерелом одержання лікарських засобів на основі флавоноїдів, а саме похідних лютеоліну. Вміст гідроксикоричних кислот найбільший у листі *S. grandiflora*, що майже у 4 рази більший, ніж у сировині фармакопейного виду *S. officinalis*. Тому, листя *S. grandiflora* є перспективним джерелом одержання лікарських засобів на основі гідроксикоричних кислот, а саме розмаринової кислоти.

У результаті вивчення сполук терпеноїдної природи листя, квіток та стебел досліджуваних видів шавлії виявлено 243 летких сполуки, з яких ідентифіковано 149. Домінуючими сполуками серед речовин терпеноїдної природи є: циклофенхен, камфен, 1,8-цинеол, α - та β -туйон, камфора борнеол, каріофілен, гумулен, вірідифлорол, сабінен, піранон, β -пінен, фітол, колавенол, β -копаєн, лоліолід, псевдолімонен та спатуленол. Серед домінуючих речовин 8 були виявлені вперше: циклофенхен, вірідифлорол, сабінен, піранон, фітол, колавенол, лоліолід та псевдолімонен.

Уперше розроблено способи одержання сухих екстрактів з шавлії лікарської листя з вираженою протизапальною активністю, які захищені патентами України на корисну модель 92310, 138320 та на винаходи 110990, 121367. Доведено, що

найбільш перспективною субстанцією є екстракт, який був модифікований амінокислотою L-лізином.

Уперше в одержаних сухих екстрактах з шавлії лікарської листя виявлено та встановлено кількісний вміст 14 речовин фенольної природи (6 флавоноїдів, 3 гідроксикоричних та 5 сальвіанолових кислот). Домінуючими сполуками у всіх екстрактах були рутин, апігенін, лютеолін-7-О-глюкозид та розмаринова кислота. Вперше в одержаних екстрактах було виявлено вміст 15 амінокислот, з яких 8 є незамінними.

Досліджено протизапальну активність одержаних екстрактів на моделі гострого запального набряку, викликаного субплантарним введенням розчину карагеніну. Показано, що при видаленні амінокислот з екстракту спостерігається значне зниження протизапальної активності, водночас введення амінокислоти L-лізин призводить до значного підвищення протизапальної активності до 93 %. Найбільш ефективною дозою для одержаних екстрактів є 50 мг/кг. Встановлено, що амінокислоти значно впливають на фармакодинаміку протизапальної активності екстрактів з листя шавлії та можуть потенціювати їх ефективність.

Методом дифузії в агар досліджено антибактеріальну активність одержаних екстрактів та встановлено, що всі одержані екстракти володіють антибактеріальною активністю, а введення амінокислоти L-лізину забезпечує більш виражену антимікробну дію.

Практичне значення отриманих результатів

Проведене фармакогностичне дослідження листя *S. grandiflora* та *S. verticillata* флори України довело можливість використання цієї сировини у фармацевтичній та медичній практиці, що дозволяє розширити номенклатуру вітчизняної ЛРС.

За результатами досліджень розроблено проекти МКЯ на листя *S. grandiflora* та *S. verticillata* та сухий екстракт з листя *S. officinalis*, який був модифікований L-лізином.

Розроблено схеми одержання сухих екстрактів з листя *S. officinalis*, *S. grandiflora* та *S. verticillata*, у тому числі модифікованих з використанням амінокислоти L-лізину.

Розроблену схему одержання сухого модифікованого екстракту з листя *S. officinalis* апробовано на обладнанні ТОВ «КФК «Грін фарм Косметик». Проєкти технічних умов та проєкти МКЯ на розроблені субстанції передано для подальшого впровадження у виробництво компаніями ТОВ «КФК «Грін фарм Косметик» (м. Харків, Україна) та Grupharmexport SRL (м. Брюссель, Бельгія).

Результати досліджень упроваджено в навчальний процес та науково-дослідну роботу кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету; кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету; кафедри фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії Київського медичного університету; кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського; кафедри фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача

Дисертаційна робота є самостійною завершеною працею. Автором особисто здійснено патентно-інформаційний пошук, проаналізовано та систематизовано літературні дані, проведено дослідження з вивчення якісного складу та кількісного вмісту БАР у об'єктах дослідження. Розроблено схеми одержання екстрактів з листя шавлії лікарської та перспективних видів цього роду флори України. Визначено основні показники якості сировини; розроблено проєкти МКЯ на сировину та сухі екстракти. Проведено графічну та статистичну обробку одержаних результатів, написано всі розділи дисертаційної роботи. Постановку мети, завдань, узагальнення результатів, формулювання основних положень та висновків здійснено за участі наукового керівника. Дослідження фармакологічних властивостей одержаних субстанцій проведено на базі ЦНДЛ НФаУ під

керівництвом професора Кіреєва І. В. та асистента Верховодової Ю.В. Співавторами наукових праць є науковий керівник та науковці, спільно з якими проведено дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня, а саме: Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій (м. Харків, 24-25 квітня 2014 р.); VIII Національний з'їзд фармацевтів України (м. Харків, 13-16 вересня 2016 р.); Актуальні питання створення нових лікарських засобів (м. Харків, 21 квітня 2016 р.); Sciences and Practice 2018: the 9th International Pharmaceutical Conference, dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy (Kaunas, Lithuania, 09th November, 2018); Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів (м. Тернопіль, 27-28 вересня 2018 р.); Sciences and Practice 2019: the 10th International Pharmaceutical Conference (Kaunas, Lithuania, 15th November, 2019); Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку (м. Харків, 19 вересня 2019 р.); PLANTA+. Досягнення та перспективи (м. Київ, 20-21 лютого 2020 р.).

Обсяг і структура дисертації

Обсяг основного тексту дисертації складає 140 сторінок, складається з анотації, вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 7 додатків. Робота ілюстрована 25 таблицями та 75 рисунками. Список використаних джерел містить 160 найменувань, з них 70 кирилицею та 90 латиницею.

РОЗДІЛ 1 РОСЛИНИ РОДУ ШАВЛІЯ (*SALVIA* L.) – ДЖЕРЕЛА БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ТА ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Загальна характеристика представників роду Шавлія

Рід шавлія є найбільшим у родині *Lamiaceae*. До його складу входять більше 900 видів з усього світу [68,89, 124]. Рослини цього роду переважно ефірноолійні та багаторічні [51, 155]. Багато видів роду Шавлія походять з середземноморського регіону. Деякі види цього роду використовуються в усьому світі, як ароматичні спеції чи в традиційній фітотерапії [70, 116, 155]. Назва «Шавлія» походить від латинського слова «salvare», що в перекладі означає «мати добре здоров'я, зціляти, зберігати», тому вже виходячи з назви стає зрозумілим медичне значення представників цього роду. З давніх часів різні види роду *Salvia* L. використовувались для лікування понад шістдесят різних хвороб, від болю до епілепсії. Найпоширенішими напрямками використання були застуда, бронхіт, туберкульоз, крововиливи та порушення менструального циклу.

У медицині застосовують *S. officinalis* листя (рис. 1.1). Шавлія лікарська має численні поширені назви. Найвідомішими є шавлія, шавлія лікарська, шавлія садова, золота шавлія, кухонна шавлія, справжня шавлія, кулінарна шавлія, шавлія далматська та шавлія широколистова. Культивовані форми включають пурпурну та червону шавлії. У Туреччині *S. officinalis* широко відома як "adaçayı", що означає "острівний чай". У Леванті шавлію називають "марамія" [103, 115, 116].

Сировину *S. officinalis* заготовляють протягом літа, у серпні-вересні збирають листя рослин першого року, в наступні роки – у червні-липні у період дозрівання насіння. В цей час у листі *S. officinalis* накопичується найбільша кількість ефірної олії. Не раніше середини осені проводиться другий збір. Листя обривають разом з черешками завдовжки не менше 2 см у міру їх наростання до 4 разів за сезон [53, 78].



Рис. 1.1 Шавлія лікарська, *Salvia officinalis*

Сировину сушать у затінку на відкритому повітрі, шарами по 3 – 5 см. Для збереження максимальної кількості ефірної олії сировину сушать штучно у сушильних шафах при температурі не вище 60 °С. Висушене листя відділяють від інших частин та домішок шляхом обмолочування. Пакують сировину у тюки або в мішки по 25-50 кг [69, 72].

1.2 Хімічний склад представників роду Шавлія

Ефірна олія представників роду шавлія має різний склад, що пов'язано з генетичними, кліматичними, сезонними та екологічними факторами [77]. Деякі сполуки такі, як флавоноїди, терпеноїди та ефірні олії входять до складу багатьох видів роду шавлія [155]. Вважається що найбільший вміст ефірної олії характерний для шавлії лікарської (*S. officinalis*) в порівнянні з іншими видами цього роду [66, 116].

Основними компонентами листя *S. officinalis*, хоча і присутніми в різних концентраціях, є: 1,8-цинеол, камфора, борнеол, борніл ацетат, камфен, α - і β -туйон, ліналоол, α - і β -каріофіллен, α -гумулен, α - і β -пінен, віридифлорол, пімарадієн, сальвіанолова кислота, розмаринова кислота, карнозолова кислота, урсолова кислота та ін [72, 13]. Дослідження вказують, що біологічні властивості ефірної олії обумовлені вмістом камфори, 1,8-цинеолу, α - і β -туйону [66]. Ефірна олія шавлії містить близько 20м % камфори і паралельно із збільшенням листя вміст камфори також збільшується [87].

Шавлія є природнім джерелом флавоноїдів і поліфенольних сполук (наприклад, карнозинова, розмаринова та кавова кислоти), які володіють сильними антиоксидантами, антирадикальними та антибактеріальними властивостями [80]. Більшість фенольних кислот у представників роду шавлія є похідними кавової кислоти, яка є будівельним матеріалом для багатьох метаболітів рослин [114]. Кавова кислота відіграє головну роль у біохімічних процесах рослин родини *Lamiaceae*, і зустрічається в основному у формі димеру відомого як розмаринова кислота [114]. Карнозинова і розмаринова кислоти, які містяться у високих концентраціях в екстрактах з рослин роду шавлія проявляють потужні антиоксидантні властивості [100]. Урсолова кислота, яка також входить до складу шавлії, проявляє виразну протизапальну дію, а в препаратах шавлії вона розглядається як компонент контролю якості протизапальних властивостей різних засобів [110, 111, 153].

Хроматографічними методами у листі представників роду шавлія флори України було виявлено 60 сполук фенольної природи та 185 сполук терпеноїдної природи. Хімічний профіль роду характеризують фенольні сполуки: кофейна та розмаринова кислоти, флавоноїди: цинарозид, космосіїн, гіспідулін та цирсимаритин і терпеноїди: α - та β -пінен, похідні камфану (камфен, камфора та борнеол), *n*-цимен, 1,8-цинеол і лімонен [96, 112].

1.3 Фармакологічна активність БАР представників роду Шавлія

Настій шавлії лікарської традиційно використовують при лікуванні порушень травлення та кровообігу, бронхітів, кашлю, астми, стенокардії, запалення горла і ротової порожнини, депресії, надмірної пітливості, захворювань шкіри та багатьох інших [21, 72, 73, 78, 116]. Ефірна олія шавлії лікарської використовується для лікування широкого спектру захворювань нервової, серцево-судинної систем та системи кровообігу, дихальної, травної систем, метаболічних та ендокринних захворювань. Крім того ефірна олія шавлії лікарської володіє вітрогінними, спазмолітичними, антисептичними та в'язучими властивостями [62, 96, 118].

Ефірні олії є дуже важливими об'єктами для скринінгу протипухлинної, антимікробної, антиоксидантної та антирадикальної активності. Дослідження вказують, що найсильнішими антиоксидантами ефірної олії є α - і β -туйон, борнілацетат, камфора, ментон та 1,8-цинеол. В цьому ж дослідженні ефірна олія меліси лікарської (*Melissa officinalis*) та шавлії лікарської (*S. officinalis*) продемонстрували більшу антиоксидантну активність у порівнянні з іншими рослинами родини губоцвіті (*Lamiaceae*) [66, 44].

1.3.1 Антиоксидантна активність БАР представників роду Шавлія

Антиоксиданти відіграють дуже важливу роль в захисті організму від оксидативного стресу та пошкоджень вільними радикалами, які є причиною багатьох захворювань таких як діабет, захворювання серця, онкологічні захворювання, порушення функцій мозку, ослаблення імунної системи та ін. [74, 76, 90]. При проведенні досліджень антиоксидантної активності багатьох рослинних екстрактів було з'ясовано, що в основному фенольні сполуки відповідають за антиоксидантну та антирадикальну активність [79, 90]. Фенольні сполуки такі як карнозол, карнозолова та розмаринова кислоти, розмадіаль, розманол, епірозманол, метилкарнозат і лутеолін-7-О-глюкопіранозид проявляють високу антиоксидантну активність і зазвичай екстрагуються з листя

шавлії етанолом [107]. Фенольні сполуки можуть стимулювати власні ендогенні антиоксидантні системи чи проявляти пряму антиоксидантну дію [14].

Антиоксидантні властивості шавлії ретельно вивчались і була встановлена залежність між антиоксидантною активністю і вмістом розмаринової та карнозолової кислот [122, 123, 157]. Крім того, сальвіанолова кислота, яка є димером розмаринової кислоти, виділеної з екстракту шавлії, показала високу антиоксидантну активність і є вагомим акцептором вільних радикалів [133]. Показано, що водний екстракт листя *S. officinalis* має антиоксидантний та противірусний ефекти та на фоні його прийому покращується антиоксидантний статус печінки [129].

1.3.2 Вплив БАР представників роду Шавлія на ЦНС

Серед багатьох рослинних екстрактів, представники роду Шавлія відомі своїм позитивним впливом при порушеннях пам'яті, депресії і церебральній ішемії [71, 83, 152]. *S. officinalis*, *S. lavandulaefolia*, і *S. miltiorrhiza* використовувались для відновлення втрачених чи знижених психічних функцій, наприклад при хворобі Альцгеймера [71, 101, 152]. Ефірна олія шавлії лікарської інгібує активність ацетилхолінестерази на 46 %, тим самим впливаючи на одну з основних патогенетичних ланок розвитку цього захворювання [121].

Дослідження вказують, що екстракти з листя шавлії лікарської покращують пам'ять та когнітивні функції [132]. Рандомізоване подвійне сліпе клінічне дослідження показало, що етанольні екстракти із шавлії лікарської (*S. officinalis*), а також шавлії іспанської (*S. lavandulaefolia*) є ефективними при лікуванні легкої та помірної форми хвороби Альцгеймера і дослідження пацієнтів не виявили жодних побічних ефектів від даних екстрактів [88]. Повідомляється, що призначення екстракту *S. lavandulaefolia* є ефективним для покращення настрою та швидкості запам'ятовування, а ефірна олія шавлії покращує запам'ятовування слів [101].

У ряді досліджень вивчався вплив ефірних олій на настрій та процеси запам'ятовування [133]. Ефірна олія *S. officinalis* призводила до суттєвого покращення якості пам'яті (результати одержанні з системи когнітивних досліджень препаратів – CDR, (Cognitive Drug Research system)) [133]. Результати показують, що ефірні олії різних видів шавлії проявляють деякі ефекти, які проявляються після перорального прийому трав [133]. Антиоксидантні та протизапальні властивості *S. officinalis* та *S. lavandulaefolia* можуть забезпечити довготривалу протекцію в патогенезі деменції, а їх здатність покращувати настрій можуть бути використані для лікування прогресуючої деменції, при якій головною проблемою є порушення настрою та хвилювання [132]. Немає даних щодо негативних ефектів пов'язаних з *S. officinalis* чи *S. lavandulaefolia* незважаючи на багаторічний досвід використання [132]. Розмаринова кислота, як компонент шавлії проявляє нейропротекторний, антиоксидантний та антиапоптичний ефект проти токсичних бета-амілоїдних бляшок, що може забезпечувати нейропротекторний ефект шавлії. Тому, можливе використання розмаринової кислоти (низькотоксичної природної сполуки) для лікування хвороби Альцгеймера [122].

1.3.3 Застосування представників роду Шавлія для корекції метаболічного профілю при цукровому діабеті

S.officinalis використовують як традиційний засіб для лікування діабету у багатьох країнах світу, а її здатність знижувати рівень глюкози була продемонстрована при дослідженнях на тваринах [145]. Встановлено, що метанольні екстракти листя *S.officinalis* суттєво знижують рівень глюкози у сироватці крові у щурів з діабетом I типу, без впливу на вироблення інсуліну підшлунковою залозою [89]. Було встановлено також що водний екстракт шавлії лікарської проявляє інсуліно-подібну активність [102].

Дослідження свідчать про збільшення антиоксидантного захисту та покращення ліпідного профілю внаслідок вживання чаю з шавлії лікарської. При

цьому не виникало гепатотоксичного та інших побічних ефектів таких як зміна кров'яного тиску, частоти серцевих скорочень та змін ваги тіла, які можуть мати непрямий вплив на покращення діабетичного стану [14]. Настій шавлії лікарської проявляв таку ж активність як метформін, який є пероральним лікарським засобом для лікування діабету II типу, працюючи шляхом зниження продукції глюкози у печінці та збільшення активності інсуліну [145]. У багатьох дослідженнях, екстракт шавлії проявляв гіпоглікемічний ефект у тварин з діабетом і в подальших дослідженнях необхідно враховувати додаткові терапевтичні ефекти цієї рослини [102].

1.3.4 Застосування представників роду Шавлія при онкологічних захворюваннях

Онкологічні процеси характеризуються аномальним ростом клітин, що призводить до неконтрольованої проліферації і в деяких випадках до поширення в інші частини тіла [132]. Важливим фактором у проліферації і поширенні ракових клітин є здатність даних клітин до продукції великої кількості нових кров'яних судин. Цей процес відомий як ангиогенез [37]. Більшість первинних щільних пухлин є залежними від ангиогенезу для виживання, росту, інвазії і метастазування [138]. У дослідженнях було виявлено, що екстракт шавлії лікарської у фармакологічних концентраціях інгібує ангиогенез *in vivo*, що може бути новою стартовою точкою в пошуку нових антиангіогенних засобів [132]. Урсолова кислота знайдена в шавлії ефективно інгібує ангиогенез, інвазію ракових клітин та процеси метастазування і пригнічує колонізацію легенів клітинами меланоми B16 *in vivo* [141].

Колоректальний рак (КРР) є поширеним типом раку і значною причиною смертності в західних суспільствах. Він розвивається через генетичні та епігенетичні зміни, які перетворюють нормальні клітини в проліферативні. При вивченні впливу настою трави шавлії лікарської на профілактику раку товстої

кишки у щурів було встановлено, що водний екстракт *S. officinalis* значно зменшує оксидативне H_2O_2 -індуковане враження ДНК *in vitro* [86].

Деякі дитерпеноїди виділені з коренів *S. officinalis* викликали цитотоксичний ефект та пошкодження ДНК карциноми *Caco-2* товстого кишківника у людини, і людських клітин гепатоми *HepG2* в дослідженнях *in vitro* [109]. Сесквітерпенова фракція *S. officinalis*, яка містить α -гумулен проявляє високу цитотоксичну активність по відношенню до людських клітин карциноми простати *LNCaP* [96, 109]. Також транс-каріофілен, який є головним компонентом сесквітерпенової фракції *S. officinalis*, демонструє високу цитотоксичну активність по відношенню до меланоми і клітин ниркової аденокарциноми [96].

1.3.5 Використання представників роду Шавлія для корекції рівня холестерину та при ожирінні

Метаболічний профіль *S. miltiorrhiza* (китайської шавлії) є таким самим як і у *S. officinalis* і недавні дослідження демонструють, що екстракт *S. miltiorrhiza* призводить до зниження рівня холестерину, ЛПНЩ та тригліцеридів одночасно збільшуючи рівень ЛПВЩ у плазмі крові дослідних щурів [145].

Надлишкова вага та ожиріння є важливими факторами ризику в розвитку серйозних захворювань таких, як цукровий діабет II типу, серцево-судинні захворювання, хронічні захворювання нирок та багато інших [89]. Регуляція всмоктування жиру є ефективним способом контролю ваги тіла та ожиріння [132].

Панкреатична ліпаза, як відомо відіграє важливу роль у переварюванні ліпідів [132]. У декількох дослідженнях БАР проти ожиріння, вивчався вплив активних компонентів *S. officinalis* на активність панкреатичної ліпази і переварювання ліпідів [107]. Метанольний екстракт листя шавлії лікарської інгібував активність панкреатичної ліпази і пригнічував підвищення рівня тригліцеридів у сироватці крові мишей при загрузці оливковою олією [107]. Компонентами виділеними з метанольного екстракту *S. officinalis*, які інгібують активність панкреатичної ліпази є два дитерпени: карнозолова кислота і карнозол.

Карнозолова кислота значно інгібує збільшення рівня тригліцеридів, у мишей з нагрузкою оливковою олією, і знижує приріст маси тіла та акумуляцію епідимального жиру у мишей протягом 14-ти денної високожирової дієти [107].

1.3.6 Використання БАР представників роду шавлія при лікуванні гормональних порушень

Менопауза розглядається як фізіологічний механізм адаптації до змін гормонального балансу [136]. До симптомів менопаузи відносять приливи, безсоння, нічне потовиділення, головокружіння, головні болі та серцебиття. Ці симптоми свідчать про адаптацію організму до зниження рівня естрогену в тілі, який впливає на ряд центральних нейромедіаторів [136].

Шавлію (*S. officinalis*) традиційно використовували при лікуванні підвищеної пітливості та приливів при менопаузі, а також для полегшення інших симптомів пов'язаних з менопаузою [48]. Ефективність шавлії для лікування приливів під час менопаузи була доведена відкритим багатоцентровим клінічним випробуванням [78]. Свіжоприготований засіб з шавлії демонстрував клінічно значущий вплив на лікування приливів та симптомів пов'язаних з менопаузою [48]. Однократний прийом свіжого екстракту шавлії показав достовірне клінічне значення з точки зору безпеки, ефективності та переносимості при лікуванні приливів та клімактеричних симптомів підтверджених статистичним аналізом та клінічно значущими твердженнями лікарів та пацієнтів. Результати дослідження дають наукове обґрунтування використанню шавлії в традиційній медицині, та пропонують цінний варіант пацієнтам та лікарям, які шукають альтернативні підходи до лікування приливів та інших клімактеричних симптомів [48].

1.3.7 Антибактеріальна активність БАР представників роду Шавлія

Дослідження антибактеріальної активності шавлії відносно бактерій, які призводять до псування харчових продуктів проведені *in vitro* вказують, що

водний екстракт шавлії проявляє значний антибактеріальний ефект і є найбільш активний по відношенню до *Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter cloacae*, і *Proteus sp* [84, 85, 129]. Це робить ефірну олію шавлії хорошою альтернативою традиційним антибіотикам та харчовим консервантам [116, 158]. Результати дослідження підтверджують, що водно-спиртовий екстракт шавлії лікарської інгібує ріст деяких бактерій, які є причиною карієсу, таких, як *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus rhamnosus*, та *Actinomyces viscosus*, тому він може використовуватись як натуральний засіб лікування захворювань зубів та ротової порожнини [106]. При порівнянні шавлії та інших рослинних екстрактів з синтетичними консервантами підтвердилось, що водний екстракт *S. officinalis* може використовуватись в біотехнології як натуральний консервант у харчовій промисловості [129]. Дослідження антибактеріальної активності ефірної олії *S. officinalis* довело, що ефірна олія у високих концентраціях проявляє кращу активність ніж антибіотики [116].

1.3.8. Використання БАР представників роду шавлія при порушеннях моторики ШКТ

На підставі медичного використання листя шавлії при діареї і спазмах органів черевної порожнини, вивчалась антидіарейна та спазмолітична дія екстракту з листя шавлії в моделях *in vitro* та *in vivo*. Дослідження демонструють, що екстракт проявляє захист від діареї, шляхом пригнічення моторики кишківника завдяки наявності в складі екстракту компонентів, які розслабляють гладку мускулатуру кишечника. Дані дослідження вказують, що екстракт *S. officinalis* може проявляти антидіарейний та спазмолітичний ефекти опосередковано, можливо шляхом активації потенціалзалежних K^+ каналів разом з слабкою антагоністичною дією до іонів Ca^{2+} . Тому це дослідження забезпечує фармакологічну базу для медичного використання *S. officinalis* при захворюваннях кишківника, які супроводжуються підвищеною моторикою, коліками та діареєю [72].

1.4 Лікарські засоби, до складу яких входять БАР шавлія лікарська

На ринку України зареєстровано 3 рослинні збори, до складу яких входить листя шавлії. 5 фармацевтичних виробників випускають фасовану сировину – шавлії листя (табл 1.1) [19, 31, 47].

Тверді лікарські форми представлені 12 препаратами та спеціальними харчовими продуктами, які на 67 % іноземного виробництва (табл. 1.2). Ці засоби чинять протизапальну, антисептичну, антимікробну, протигрибкову, бактерицидну, противірусну, в'язучу, відхаркувальну, сечогінну дії, підвищують секреторну функцію шлунково-кишкового тракту. Використовуються в комплексному лікуванні простудних захворювань, для полегшення дихання і зменшення першіння в горлі, при осиплості голосу, для нормалізації стану і функціонування органів верхніх дихальних шляхів, полегшують біль у горлі, при запальних захворюваннях рота і горла (ангіна, фарингіт, ларингіт, катаральні явища з боку верхніх дихальних шляхів), кровоточивості ясен (в т. ч. при пародонтозі), підвищують опірність організму до інфекцій. Застосовують як допоміжний засіб у комплексному лікуванні клімактеричного синдрому, при психоемоційному навантаженні. Препарати шавлії лікарської у рідких лікарських формах наведені у табл. 1.3.

Таблиця 1.1

Рослинні збори, до складу яких входить шавлія лікарська

Назва лікарського засобу	Форма випуску	Склад лікарського засобу	Дія лікарського засобу та застосування лікарського
1	2	3	4
Бронхофіт (Bronchophyt)ООО НПФФ «Эйм», Харків, Україна	збір, пачка 100г.	- корневища айру –9 г; - корені алтею – 9 г; - квітки липи – 9 г; - квітки бузини чорної – 8 г; - корневища та корені оману – 7 г; - квітки нагідок – 9 г; - листя кропиви – 8 г; - листя м'яти холодної – 8 г; - квітки ромашки – 7 г; - корені солодки – 9 г; - трава чебрецю – 8 г; - листя шавлії – 9 г.	Має відхаркувальну, протизапальну, жарознижуючу дію.
Елекасол (Elicasolum) «Ліктрави», Житомир, Україна	Збір, фільтр-пакет 1,5 г, пачка №10/ 20	- трава материнки – 10 %, - квітки ромашки – 10 %, - корені солодки – 20 %, - листя шавлії – 20 %, - листя евкаліпту прутовидного – 20 %, - квітки календули (нагідок аптечних) – 20 %.	Має протикашльову, відхаркувальну, протизапальну дію.

Продовж. табл. 1.1

1	2	3	4
Гастрофіт (Gastrophyt) ООО НПФФ «Эйм», Харків, Україна	Збір, пакет п/е 100 г, вклад. у пачку.	- кореневища айру – 6 г; - корені алтею – 7 г; - квітки бузини чорної – 6 г; - квітки цмину піскового – 7 г; - трава звіробою – 6 г; - квітки ногідок – 7 г; - листя кропиви – 7 г; - листя м'яти холодної – 7 г; - трава полину гіркого – 5 г; - квітки ромашки – 7 г; - корені солодки – 8 г; - плоди софори японської – 8 г; - трава деревію – 6 г; - листя шавлії лікарської – 6 г; - плоди шипшини – 7 г.	Має протизапальну, обволікаючу дію, підвищує секрецію залоз і функцію шлунку. Застосовується при гастритах зі зниженою та підвищеною кислотністю.
Шавлії листя ТОВ «Тернофарм». Шавлії листя АТ «Лубнифарм».	1 пакет містить шавлії листя (<i>Salviae officinalis</i> folium) 50 г. 1 пачка містить шавлії листя (<i>salviae officinalis</i> folium) 40 або 50 г.	шавлії листя (<i>Salviae officinalis folium</i>)	Біологічно активні речовини листя ущільнюють епітеліальні тканини, знижують проникність клітинних мембран, зміцнюють стінки ушкоджених кровоносних судин. Чинять в'язучу, протизапальну, антисептичну та кровоспинну дію.

Таблиця 1.2

Лікарські препарати та спеціальні харчові продукти на основі БАР шавлії лікарської у твердих та м'яких формах

Назва лікарського засобу	Форма випуску	Склад лікарського засобу	Дія лікарського засобу та застосування лікарського
1	2	3	4
Екстракт шавлії з вітаміном С Др. Тайсс (Sage extract with vitamin C Dr. Theiss) «Naturwaren» Німеччина	Табл. д/смок., № 12; Табл. д/смок., № 24.	- екстракт листя шавлії густий 50 мг; - олія шавлії – 6 мг; - кислота аскорбінова – 20 мг; Інші складові: кислота лимонна, сироп глюкози, сахароза, вода.	Має протизапальну, антисептичну, в'язучу, відхаркувальну дію.
Іслор МЕРКУРІЙ КФ ТОВ Україна	Льодяники .	Цукор, патока крохмальна, кислота лимонна, екстракт ісландського моху (3,7 %), екстракт шавлії (3,7 %), екстракт солодки (1,9 %), екстракт імбиру (1,9 %), екстракт алтея (1 9 %), екстракт чебрецю (чебрецю) (1,9 %), ароматизатори, натуральні барвники.	Дієтична добавка до раціону харчування, яка може бути рекомендована в якості додаткового джерела біологічно активних речовин рослинного походження для нормалізації стану і функціонування органів верхніх дихальних шляхів.

Продовж. табл. 1.2

1	2	3	4
Хлорофіллакс-Ультравірк ГЕЛІНГХЕМ СПП Германія	Льодяники.	1 пастила містить Активні інгредієнти: сік ехінацеї пурпурової - 40 мг, масло евкаліпта кулястого - 10,0 мг, аскорбінова кислота (вітамін С) - 6,0 мг, масло шавлії лавандолістої - 1,0 мг, масло лимона - 1,0 мг Допоміжні речовини: наповнювачі: гуміарабік, мальтит; барвник: мідні комплекси хлорофілів; підсолоджувач: ацесульфам калію глазуруючі агенти: пальмова і кокосова олії, бджолиний віск;	Активні інгредієнти, що входять до складу пастилок, забезпечують надійну превентивний захист слизових оболонок глотки і ротової порожнини, ефективно і тривало дезінфікують, зволожують, заспокоюють дратівливим слизову ротової порожнини і горла. Евкаліпт - натуральний антисептик традиційно відомий як один з кращих засобів для полоскання і санації слизової оболонки рота і глотки. Масло шавлії - має протизапальні та антимікробні властивості. Ехінацея - традиційний і ефективний засіб для підвищення імунітету, захисних функцій організму при простудних захворюваннях.

Продовж. табл. 1.2

1	2	3	4
		вода очищена.	Вітамін С і масло лимона - природні імуномодулятори сприяють підвищенню захисних сил організму, що особливо актуально в період поширення ГРВІ.
Нео-ангін шавлія Дивафарма ГмбХ, Німеччина.	Льодяники	1 льодяник містить 2,4-дихлорбензилового спирту 1,2 мг; амільметакрезолу 0,6 мг; левоментолу 5,9 мг; допоміжні речовини: олія м'яти перцевої, ізомальт, кислота винна, олія шавлії, понсо 4R (Е 124), хіноліновий жовтий (Е 104), патентований синій V (Е 131).	«Нео-Ангін® шавлія» активний щодо широкого спектра грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів in vitro; проявляє протигрибкову активність. Ефективність лікарського засобу зумовлена наявністю двох антибактеріальних компонентів широкого спектра дії, які полегшують біль у горлі та зменшують дію бактерій, що має наслідком бактерицидний ефект. 2,4-дихлорбензиловий спирт чинить бактериостатичну дію за рахунок

Продовж. табл. 1.2

1	2	3	4
			зневоднення бактеріальної клітини. Левоментол доповнює дію двох інших складових препарату анагезуючим ефектом, зумовленим стимуляцією холодкових рецепторів слизової оболонки.
Ангі Септ Др Тайсс льодяники зі смак. Шавлії Др. Тайсс Натурварен ГмбХ/ Dr. Theiss Naturwaren GmbH Німеччина	Льодяники № 12; №24.	1 льодяник містить: сахароза, глюкози сироп (суха речовина), вода очищена, кислота лимонна безводна, карамель сульфіту аміаку (Е 150d), олія шавлієва, олія евкаліптова;	Комбінований антисептичний препарат, що застосовується при інфекційно-запальних захворюваннях порожнини рота і глотки. Основний активний компонент – 2,4-дихлорбензиловий спирт – чинить антисептичну дію, зменшують біль і чинять антибактеріальну та протизапальну дію.
Шавлія з подорожником Др.Тайсс Др. Тайсс Натурварен	Таблетки д/розсмокт. №24	1 таблетка містить: Цукор, сироп глюкози, вода, екстракт шавлії, аскорбінова кислота, екстракт	Застосовується як спеціальна харчова добавка до їжі - додаткового джерела вітаміну С, джерела

Продовж. табл. 1.2

1	2	3	4
ГмбХ/ Dr. Theiss Naturwaren GmbH Німеччина		подорожника, масло шавлії (ароматизатор), лимонна кислота (підкислювач)	флавоноїдів і дубильних речовин. Запальні захворювання порожнини рота і горла (ангіна, фарингіт, ларингіт, катаральні явища з боку верхніх дихальних шляхів), кровоточивість ясен (в т.ч. при пародонтозі).
Шавлія з ромашкою і медом Др.Тайсс Др. Тайсс Натурварен ГмбХ/ Dr. Theiss Naturwaren GmbH Німеччина	Таблетки д/розсмокт. №24	1 таблетка містить: Цукор, сироп глюкози, вода, екстракт шавлії, аскорбінова кислота, екстракт ромашки, мед, масло шавлії (ароматизатор), масло ромашки (ароматизатор).	Рекомендується як джерело дубильних речовин, ефірних олій, фенольних сполук. Таблетки для розсмоктування Шавлія з ромашкою і медом застосовуються при комплексному лікуванні простудних захворювань для полегшення дихання і зменшення неприємних відчуттів у горлі (першіння). Екстракт шавлії в комбінації з медом благотворно впливає на верхні дихальні шляхи і має заспокійливу дію при подразненні горла, усуває осиплість і захриплість.

Продовж. табл. 1.2

1	2	3	4
Шавлії таблетки для нормалізації роботи верхніх дихальних шляхів ТОВ «Красота та Здоров'я» м.Харків, Україна.	Таблетки д/розсм. по 2,5 г. блістер №8	1 таблетка містить: ефірну олію шавлії - 0.0125 г, екстракт шавлії - 0.015 м	Таблетки з шавлією мають в'язучу, антисептичну, протизапальну і відхаркувальну дію. Продукт проявляє високу протигрибкову активність. Препарат підвищує секреторну функцію шлунково-кишкового тракту.
Синулік ФОРСАЖ ПЛЮС, Україна	Капсули.	1 капсула містить: Екстракт трави шавлії - 35 мг, екстракт трави вербени - 35 мг, екстракт квіток бузини - 35 мг; екстракт квіток первоцвіту з чашечками - 35 мг, екстракт трави шавлії - 35 мг, вітамін С (аскорбінова кислота) - 30 мг.	Біологічно активні сполуки в складі компонентів засобу виявляють протизапальну, секретолітичну, а також антибактеріальну і противірусну активність, сприяють зміцненню імунітету і підвищенню опірності організму до інфекцій.
Сальвірен ЛАБОРАТОРІОС ЛІКОНСА С.А.	Капсули	1 капсула містить -екстракт журавлини (<i>Vaccinium macrocarpon</i>) - 175 мг,	Дієтична добавка до основного раціону харчування, яка може бути рекомендована як додаткове джерело

Продовж. табл. 1.2

1	2	3	4
Іспанія		-екстракт шавлії (<i>Salvia officinalis</i> L.) - 50 мг, -аскорбінову кислоту (вітамін С) - 40 мг,	флавоноїдів (проантоціанідини), в тому числі флавонолів та їх глікозидів (кверцетину), органічних кислот, вітаміну С, сальвіну з метою запобігання проникненню бактерій в слизові оболонки сечовивідних шляхів та профілактиці розвитку бактеріальних інфекцій і рецидивів хронічних неспецифічних інфекцій сечовивідних шляхів.
Клімапін (Klimarin), Лабораторія «Ірис», ОАО "Хімфармзавод "Червона зірка", Харків, Україна	Капсули по 0,3 г №30	- глоду колючого плоди - 0,102, - насіння кропу городнього - 0,003, - трава пустирника - 0,05, - трава материнки звичайної - 0,017, - шишки хмелю - 0,068, - листя шавлії лікарської - 0,03, - листя кропиви двудомної - 0,03.	Застосовується як допоміжний засіб у комплексному лікуванні клімактеричного синдрому легкого і середнього ступеня вираженості, що супроводжується підвищеним рівнем тривожності, в предменопаузальному і менопаузальному періодах в час припливів і потовиділення, вегето-судинної дистонії, легкого і помірного безсоння неорганічного характеру, астено-невротичним синдромом або нейроциркуляторна дистонія, при психоемоційному навантаженні.

Продовж. табл. 1.2

1	2	3	4
Фітолізін (Phytolysin) «Herbapol», Польща	Паста д/перор. заст., сусп. д/ перор. заст. Туба 100 г.	- екстракт лікарських рослин – 67,2 г/100 г; - олія шавлії – 1 г/100 г; - олія м'яти перцевої – 0,5 г/100 г; - олія сосни звичайної – 0,2 г/100 г; - олія апельсинова – 0,15 г/100 г;	Виявляє сечогінну, протизапальну, спазмолітичну дію. Застосовують для розрихлення сечових конкрементів та полегшення їх виведення з сечею.

Таблиця 1.3

Рідкі лікарські форми препаратів на основі БАР шавлії лікарської

Назва лікарського засобу	Форма випуску	Склад лікарського засобу	Дія лікарського засобу та застосування лікарського
1	2	3	4
Клімапін (Klimarin), Лабораторія «Ірис», ОАО "Хімфармзавод "Червона зірка", Харків, Україна	Настоянка, банка 100 мл; Настоянка, фл. 100 мл	- глоду плоди –3 г/100 мл; - хмелю супліддя – 2 г/100 мл; - собачої кропиви трава – 1,5 г/100 мл; - листя кропиви –1 г/100 мл; - листя шавлії – 1,5/100 мл; - трава материнки звичайної – 0,5/100 мл; - листя або трава беладонни – 0,5/100 мл; Вміщує екстракт спиртовий рідкий з суміші рослинної сировини.	Зменшує потовиділення, має седативну, спазмолітичну дію. Застосовують для зниження ризиків проявів клімактеричного синдрому.
Стоматофіт (Stomatophyt) «Phytopharm Klenka», Польща	Розчин д/полоскання ротової порожнини фл. 45 мл, № 1 Розчин д/полоскання ротової порожнини фл. 120 мл, № 1	- кора дуба – 13 г/100 г; - квітки ромашки – 13 г/100 г; - листя шавлії – 13 г/100 г; - трава арніки – 6,5 г/100 г; - трава чебрецю – 6,5 г/100 г; - трава м'яти перцевої –6,5 г/100 г; - кореневища аїру – 6,5 г/100 г.	Володіє протизапальною, в'язучою, антимікробною та жизивляючою дією.

Продовж. табл. 1.3

1	2	3	4
Стоматофіт А (Stomatophyt A) «Phytopharm Klenka», Польща	Розчин д/ротової порожнини фл. 25 мл, № 1	- кора дуба – 1,794 г/25 мл; - квітки ромашки – 1,794 г/25 мл; - листя шавлії – 1,794 г/25 мл; - трава арніки – 0,832 г/25 мл; - трава чебрецю – 0,832 г/25 мл; - трава м'яти перцевої – 0,832 г/25 мл; - кореневища аїру – 0,832 г/25 мл; - бензакаїн – 0,512 мг/25 мл.	Має протизапальну, в'язучу, антимікробну та загоювальну дію.
Простатофіт (Prostatofit) “Эйм”, Харків, Україна	Настойка складна банка склян. 100 мл; Настойка складна банка полімер 100 мл; Настойка складна фл. полімер 100 мл	1мл настойки складної містить: біологічно активні речовини з: корінь кропиви 0,04 г кореневище лепехи 0,02 г квіток ромашки 0,02 г трави буркуну 0,02 г трави чистотілу 0,02 г трави пустиннику 0,02 г бруньок берези 0,02 г плодів софори японської 0,02 г листя шавлії 0,02 г	Препарат впливає на нормалізацію обміну речовин у передміхуровій залозі й коректує процес сечовипускання. Простатофіт має протиапальну, знеболюючу (анальгетичну) і спазмолітичну дію. Простатофіт застосовують для лікування хронічних простатитів, у комплексній терапії початкової стадії доброякісної гіперплазії передміхурової залози, а також неспецифічних запалювальних

Продовж. табл. 1.3

1	2	3	4
			захворювань сечовивідних шляхів
Вокара Ріхард Біттнер АГ. Фельдкірхен, Австрія.	Краплі оральні. 20 мл у флак.-крап. 50 мл у флак.-крап.	діючі речовини: 100 мл препарату містить: Salvia D1 7 мл, Belladonna D6 10 мл, Phytolacca D6 10 мл, Lachesis D12 10 мл, Mercurius solubilis Hahnemanni D12 10 мл; допоміжна речовина: етанол 43 % (м/м).	Препарат має виражену місцеву та загальну протизапальну дію. Лікування запальних захворювань ротоглотки: ангін (у т. ч. Венсана-Плаута), хронічного тонзиліту, фарингітів, ларингітів, стоматитів, гінгівітів, у т. ч. з явищами регіонарної лімфаденопатії та лімфаденіту.
Шавлії настойка ТОВ «ДКП «Фармацевтична фабрика». с. Станишівка, Україна	Настойка фл.40 мл.	1 флакон містить настойки шавлії листя (Salviae folia) (1:5) (екстрагент – етанол 70 %) 40 мл.	Біологічно активні речовини шавлії листя (ефірна олія, дубильні речовини, сапоніни, фітонциди, смоли) чинять протимікробну, протизапальну, в'язучу, дезінфікуючу дію.
Хлорофілін з екстрактом ромашки і шавлії ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я».	спрей д/рот. порож. по 20 мл у балон.	Олія м'яти, екстракт ромашки, екстракт шавлії, екстракт ромашки, вода очищена, гліцерин, полісорбат 80, екстракт листя евкалипта, олія м'яти, ніпагін, ніпазол	Поліпшення функціонального стану порожнини рота і глотки при сезонних простудних захворюваннях. Антисептична і антибактеріальна активність

Продовж. табл. 1.3

1	2	3	4
м.Харків, Україна			ЕВКАЛІПТА Антимікробна і загальнозміцнююча активність ШАВЛІЇ Протизапальна активність РОМАШКИ
Інгаліпт-Здоров'я форте ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я». м.Харків, Україна	спрей д/рот. порож. по 30 мл у балон. розчин д/рот. порож. по 50 мл у фл.	1 балон (30 мл) містить стрептоциду розчинного 0,75 г, сульфатіазолу натрію у перерахуванні на сульфатіазол натрію безводний 0,54 г, тимолу 0,015 г, олії евкаліптової 0,015 г, олії м'яти перцевої 0,015 г, шавлії лікарської листя екстракту рідкого (1:10) (екстрагент — етанол 70 %) 1,26 г, ромашки екстракту рідкого (6:10) (екстрагент — етанол 50 %) 1,26 г; 1 флакон (50 мл) містить стрептоциду розчинного 1,25 г, сульфатіазолу натрію у перерахуванні на сульфатіазол натрію безводний 0,9 г, тимолу 0,025 г, олії евкаліптової 0,025 г, олії м'яти перцевої 0,025 г, шавлії лікарської листя екстракту рідкого (1:10)	Комбінація вказаних компонентів препарату забезпечує комплексну патогенетичну терапію запальних захворювань слизової оболонки ротової порожнини і верхніх дихальних шляхів. Препарат виявляє протизапальний, протимікробний і протигрибковий ефекти; активний щодо грампозитивних і грамнегативних бактерій, а також грибів роду Candida.

Продовж. табл. 1.3

1	2	3	4
		(екстрагент — етанол 70 %) 2,1 г, ромашки екстракту рідкого (6:10) (екстрагент — етанол 50 %) 2,1 г; допоміжні речовини: етанол 96 %, цукор-рафінад, гліцерин, полісорбат, вода очищена.	
Апіпродукт Антисептичний екстракт прополісу водний з шавлією ПП «Апіпродукт» м.Київ, Україна.	Екстракт фл.20 мл.	Очищений від домішок прополіс, шунгітова очищена вода збагачена сріблом, настойка листя шавлії.	Підвищуються захисні функції організму; Має знеболюючі, протимікробні, протизапальні та особливо вираженні бактерицидні властивості; Якісно усуває запальні процеси, особливо діє в ротовій порожнині на слизову оболонку та ясна. Сприяє зняттю запальних процесів, особливо в ротовій порожнині та її слизової оболонки, ясен (стоматити, гінгівіти, пародонтоз мигдаликів, фарингіт, тонзиліт), та верхніх шляхів дихання.

Продовж. табл. 1.3

1	2	3	4
			Під час запалення у ротовій порожнині добре прибирає гнилий запах; Рекомендовано до використання як ополіскувач ротової порожнини.
Беліса ТОВ «ДКП «Фармацевтична фабрика». Україна.	краплі ор. по 40 мл у флак. з проб.-крап.	діючі речовини: 1 мл препарату містить водно-спиртового екстракту (1:3) (екстрагент – етанол 40 %) із суміші: пасифлори трави (Passiflorae herba) 100 мг; липи квіток (Tiliae flores) 100 мг; материнки трави (Origanum herba) 66,7 мг; шавлії листя (Salviae officinalis folia) 33,3 мг; меліси трави (Melissae herba) 33,3 мг; допоміжні речовини: крім екстрагенту, відсутні.	Комбінований лікарський засіб рослинного походження. Беліса чинить седативну, гіпотензивну, спазмолітичну та протизапальну дії. Препарат спричиняє збільшення сечовиділення та жовчовиділення, регулює обмін речовин (вуглеводів і жирів), поліпшує загальний стан організму.

Рідкі лікарські форми представлені 10 препаратами: настоянками, краплями, екстрактами, спреями, розчинами для полоскання. Ці препарати мають широкий спектр використання. В основному використовуються для лікування клімактеричного синдрому, для нормалізації обміну речовин у передміхуровій залозі, у комплексній терапії початкової стадії доброякісної гіперплазії передміхурової залози та запальних захворювань сечовидільних шляхів, для лікування запальних захворювань ротоглотки та при простудних захворюваннях. Використовуються як седативний, гіпотензивний та спазмолітичний засоби.

Інші засоби, до складу яких входять БАР шавлії лікарської, представлені ополіскувачами, бальзамами, гелями, оліями та ін (табл. 1.4).

В основному вони також проявляють протизапальну, антибактеріальну та антисептичну дію та ін.

Основна активність препаратів та спеціальних харчових продуктів на основі БАР *S. officinalis* – протизапальна, антисептична, антимікробна, протигрибкова, бактерицидна, противірусна, в'язуча, відхаркувальна та сечогінна. Препарати шавлії лікарської використовуються для лікування клімактеричного синдрому, для нормалізації обміну речовин у передміхуровій залозі, у комплексній терапії початкової стадії доброякісної гіперплазії передміхурової залози та запальних захворювань сечовидільних шляхів, для лікування запальних захворювань ротоглотки та при простудних захворюваннях. Використовуються як седативний, гіпотензивний та спазмолітичний препарати.

Таблиця 1.4

Інші засоби на основі БАР шавлії лікарської

Назва лікарського засобу	Форма випуску	Склад лікарського засобу	Дія лікарського засобу та застосування лікарського
1	2	3	4
Ополіскувач для порожнини рота Лісовий Бальзам	Ополіскувач для порожнини рота фл. 250 мл. та 400 мл.	Aqua, Glycerin, PEG-40 Hydrogenated Castor Oil, Pinus Sibirica Seed Oil, Salvia Officinalis (Sage) Leaf Extract, Abies Sibirica Leaf Extract, Aloe Barbadensis Leaf Juice, Urtica Dioica (Nettle) Leaf Powder, Chamomilla Recutita (Matricaria) Flower Extract, Achillea Millefolium Extract, Hypericum Perforatum Flower/Leaf/Stem Extract, Chelidonium Majus Extract, Sodium Fluoride, Aroma, Cetylpyridinium Chloride, Citric Acid, Disodium EDTA, Phenoxyethanol, PVM/MA Copolymer, Sodium Benzoate, Sodium Hydroxide, Sodium Saccharin, Sodium Sulfite, Benzyl Alcohol, Eugenol, Limonene, Linalool, CI 19140, CI 42090.	Екстракт шавлії допомагає зняти запалення ясен, завдяки антибактеріальній дії перешкоджає розвитку патогенних бактерій у порожнині рота; олія кедрових горішків сприяє зняттю запалення, свербіння і зміцнює тканини ясен, стимулює процес відновлення тканин пародонту; відвар 5-ти цілющих трав (ромашки, деревію, звіробою, чистотілу і кропиви) зміцнює ясна, забезпечує додатковий профілактичний захист, забезпечує антимікробну і протизапальну дію.

Продовж. табл. 1.4

1	2	3	4
Бальзам для ясен (Веледа) Шавлія «WELEDA» Німеччина	Бальзам фл. 30 мл., №1	Вода, спирт, рослинний гліцерин, витяжки з кореня ратанії (Ratanhiatriandra), мірри (Commiphoramyrtha), квіток ромашки (Matricaria chamomilla), шавлії (Salvia officinalis), кори кінського каштана (Aesculus hippocastanum), суміш натуральних ефірних масел, срібло (Argentumnitricum), флюорит (Fluroit), кізерит (Kieserit).	Бальзам містить екстракт шавлії, який надає протизапальну дію. Використання продукту сприяє усуненню кровоточивості і подразнення ясен. Ромашка діє як потужний антисептик, заспокоює і знімає запалення. Корінь ратанії підвищує пружність ясен.
Гель для вмивання Зелена аптека Шавлія ЕЛЬФА НВО ФАРМАЦЕВТИЧНА ФАБРИКА, Україна	Гель для вмивання фл. 270 мл.	Aqua, Lauryl Glucoside, Sodium Laureth Sulfate, Glycerin, PEG-7 Glyceryl Cocoate, Sodium Chloride, Cocamidopropyl Betaine, Disodium EDTA, Hydrolyzed Wheat Gluten, Allantoin, Panthenol, Propylene Glycol, Parfum, Diazolidinyl Urea, Salvia Officialist Leaf Extract, Methylchloroisothiazolinone, Citric Acid, Methylparaben, Propylparaben.	Протеїни пшениці повертають захисні функції, властиві шкірі. Натуральний екстракт шавлії має протизапальні властивості. Алантаїн і Д-пантенол, додатково введені в формулу, надають пом'якшувальну і заспокійливу дію.

Продовж. табл. 1.4

1	2	3	4
Мило рідке Зелена Аптека Шавлія протизапальне для інтимної гігієни ЕЛЬФА НВО ФАРМАЦЕВТИЧНА ФАБРИКА, Україна	Мило рідке фл. 370 мл.	Aqua, Sodium laureth sulfate, Cocamidopropyl betaine, Sodium chloride, coco-glucoside, Glyceryl oleate, Peg-4 rapeseedamide, Salvia officinalis leaf extract, allantoin, Peg-7 glyceryl cocoate, Polyquaternium-7, Panthenol, Disodium edta, Citric acid, Parfum, Propylene glycol, Sodium benzoate, Benzyl alcohol, Methylchloroisothiazolinone, Methylisothiazolinone, Limonene.	Екстракт шавлії заспокоює шкіру, має протизапальну дію. Пантенол і алантоїн пом'якшують і звожують шкіру, прискорюють регенерацію невеликих ушкоджень слизової оболонки.
Пінка Зелена Аптека Шавлія і лаванда для інтимної гігієнимл	фл. 150 мл.	Aqua, Disodium laureth sulfosuccinate, Sodium laureth sulfate, Cocamidopropyl betaine, Cocamide dea, Glycereth-2 cocoate, Allantoin, Panthenol, Salvia officinalis leaf extract, Lavandula angustifolia herb extract, Polysorbate 20, Citric acid, Parfum, Propylene glycol, Sodium benzoate, Benzyl alcohol, Methylchloroisothiazolinone, Methylisothiazolinone, hexyl cinnamal, Linalool, Butylphenyl	Екстракт шавлії дезодорує, надає свіжість. Екстракт лаванди має антисептичну дію.

Продовж. табл. 1.4

1	2	3	4
		methyl- propional, limonene.	
Олія ефірна ТОВ «КФК ГРІН ФАРМ КОСМЕТИК», Україна.	фл. 10 мл	Ефірна олія шавлії.	Властивості: протизапальна, антисептична, відхаркувальна, спазмолітична, розслаблююча, тонізуюча, репеллентна, заспокійлива, покращує роботу мозку, сприяє загоєнню ран, усуває м'язові і ревматичні болі, виводить з організму шкідливі речовини, сприяє позбавленню від наркотичної залежності, вирівнює гормональний фон, позитивно впливає на імунітет, ефективно пригнічує лактацію, нормалізує менструальний цикл, усуває бактеріальні інфекції, знижує пітливість, ефективно знімає набряклість, прибирає емоційну напругу, запобігає випаданню волосся.

На території України зареєстровано близько 30 препаратів на основі БАР представників роду *Salvia*. Вітчизняні засоби представлені в основному зборами, фасованою сировиною та лікувальною косметикою. Це зумовлює актуальність дослідження представників роду *Salvia* флори України та розробки вітчизняних лікарських засобів на їх основі.

1.5 Токсичність засобів на основі БАР представників роду Шавлія

Наскільки відомо немає даних про негативні ефекти пов'язані з використанням *S. lavandulaefolia* та *S. officinalis*, незважаючи на їх використання протягом багатьох років [121, 160]. Використання препаратів на основі БАР представників роду шавлія в терапевтичних дозах є безпечним; проте можуть проявлятися побічні ефекти при передозуванні, що можливо пов'язано з високим вмістом туйону [78].

Камфора і туйон можуть проявляти нейротоксичний ефект [135], а карнозинова, розмаринова кислоти і карнозол в певних дозах можуть бути генотоксичними [107, 129].

Дослідження гострої токсичності екстрактів, одержаних з листя та *S. officinalis* та трави *Salvia patens* L і *Salvia verticillata* L. вказують на можливість віднесення їх до класу практично нетоксичних речовин. [5, 7].

Однократний прийом препаратів на основі БАР представників роду *Salvia* добре переноситься без побічних ефектів. Профіль безпеки рослин роду *Salvia* був проаналізований в довгострокових дослідженнях на пацієнтах, зокрема: з хворобою Альцгеймера, жінок в менопаузі, чоловіків похилого віку з захворюваннями простати, пацієнтів з цукровим діабетом II типу та пацієнтів з гіперліпідемією. Загалом у дослідженнях взяли участь 140 пацієнтів і всі вони отримували різні екстракти шавлії. За результатами проведеного аналізу було встановлено лише незначні побічні ефекти. У двох пацієнтів спостерігалось підвищення артеріального тиску, проте ці пацієнти уже страждали від артеріальної гіпертензії до початку дослідження.

Зустрічались рідкі повідомлення про легкі шлунково-кишкові розлади та один випадок висипань на шкірі [109].

Результати аналізу фармацевтичного ринку України вказують на перспективність дослідження представників роду *Salvia* флори України для створення нових лікарських засобів на їх основі.

Висновки до розділу 1

1. Рід шавлія є найбільшим у родині *Lamiaceae*. До його складу входять більше 900 видів з усього світу.

2. У листі представників роду шавлія флори України виявлено 60 сполук фенольної природи та 185 – терпеноїдної природи. Хімічний профіль роду характеризують фенольні сполуки: кофейна та розмаринова кислоти, флавоноїди: цинарозид, космосійн, гіспідулін та цирсимаритин і терпеноїди: α - та β -пінен, похідні камфану (камфен, камфора та борнеол), *n*-цимен, 1,8-цинеол і лімонен.

3. Біологічно активним речовинам представників роду *Salvia* L. характерний широкий спектр фармакологічної активності, зокрема: антиоксидантна активність, покращення пам'яті та когнітивних функцій, гіпоглікемічна та інсуліноподібна активність, здатність інгібувати ангіогенезис та проліферацію, зниження рівня холестерину, зменшення симптомів при менопаузі та в клімактеричному періоді, антибактеріальна, антидіарейна та спазмолітична активність.

4. Основна активність препаратів та спеціальних харчових продуктів на основі БАР *S. officinalis* – протизапальна, антисептична, антимікробна, протигрибкова, бактерицидна, противірусна, в'яжуча, відхаркувальна та сечогінна. Препарати шавлії лікарської використовуються для лікування клімактеричного синдрому, для нормалізації обміну речовин у передміхуровій залозі, у комплексній терапії початкової стадії доброякісної гіперплазії передміхурової залози та запальних захворювань сечовидільних шляхів, для лікування запальних захворювань ротоглотки та при простудних

захворюваннях. Використовуються як седативний, гіпотензивний та спазмолітичний препарати.

5. На території України зареєстровано близько 30 препаратів на основі БАР представників роду *Salvia*. Вітчизняні засоби представлені в основному зборами, фасованою сировиною та лікувальною косметикою. Це зумовлює актуальність дослідження представників роду *Salvia* флори України та розробки вітчизняних лікарських засобів на їх основі.

РОЗДІЛ 2.

ВІДОМОСТІ ПРО ПРИЛАДИ, МАТЕРІАЛИ, МЕТОДИКИ І РЕАКТИВИ

Об'єктами дослідження було листя *S. officinalis*, листя, стебла та квітки *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*, які було заготовлено на базі ботанічного саду Львівського національного університету імені Івана Франка (вул. Черемшини 44, м. Львів, 79014), під керівництвом старшого наукового співробітника, кандидата біологічних наук Скибіцької Марії Іванівни, та сухі екстракти, одержані з листя *S. officinalis*, *S. grandiflora* та *S. verticillata*.

Хроматографування проводили з використанням різних марок паперу «Filtrak» (FN 1, 3, 7, 14) та пластинок Merck Silicagel F254.

При проведенні досліджень застосовували методи висхідної паперової та тонкошарової хроматографії [15, 16, 17, 18, 26, 104, 105]. Величина R_f , що наведена на хроматограмах, є середньою величиною п'яти/шести визначень.

1. Для приготування систем хроматографування використовували розчинники двох класифікацій: «Чистий для аналізу» або «Хімічно чистий»; пропорції розчинників, що вказані цифрами, взяті в об'ємних одиницях.

2. Речовини на одержаних хроматограмах визначали до і після обробки реактивами за їх забарвленням у денному світлі та за флуоресценцією в УФ-світлі за довжини хвилі 366 і 254 нм.

3. Оптичну густину досліджуваних розчинів вимірювали на спектрофотометрі Evolution TM 60S UV-Visible (Thermo Fisher Scientific, USA) у кюветах з товщиною шару 10 мм.

4. Мікроскопічний аналіз листя досліджуваних видів проводили методом світлової мікроскопії [42, 43]. Діагностичні мікроскопічні ознаки фіксували за допомогою мікроскопу «Granum» при збільшенні $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$ разів. Фотографії робили на фотоапараті Sony DSC-W80.

5. Вміст макро- та мікроелементів в досліджуваних об'єктах визначали на базі Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів»

Національної академії наук України на атомно-емісійному спектрофотометрі ДФС-8, який обладнаний вимірювальним комплексом фотоелектричної реєстрації емісійних спектрів, що складається з: плат лінійних приладів із зарядним зв'язком – ПЗЗ фотоприймачів; плат аналого-цифрових перетворювачів, плат синхронізації та управління і базовим комп'ютером. Дугу змінного струму отримували за допомогою генератора ІБС-28 [2, 9, 32, 41].

Серію ГЗ з добавками досліджуваних елементів $1 \cdot 10^{-2}$ – $1 \cdot 10^{-5}$ мас. % готували шляхом ретельного перемішування основи ГЗ і солей або оксидів досліджуваних елементів, відповідних складу об'єктів дослідження. Основою для ГЗ була суміш оксидів і солей металів такого складу: SiO_2 – 36 %; CaCO_3 , K_2SO_4 – по 40 %; Na_2SO_4 , KH_2PO_4 – по 30 %; KCl – 14 %; MgO – 10 %.

Наважки і фторопластові кулі розташовували під фторопластовим стаканом з кришкою. Складники основи змішували на кульовому млині зі швидкістю обертання барабану 80 об/хв протягом 6 годин. Одержану суміш прожарювали в кварцових тиглях у муфельній печі за температури 500 °С протягом 5 годин, потім розтирали у ступці з фторопласту протягом 4 годин у присутності спирту і 2 год після випаровування спирту.

Досліджувані зразки готували наступним чином: наважку об'єкту дослідження масою не менш 3 г розміщували в кварцовому тиглі, змочували 10 мл 5 % розчину H_2SO_4 , сушили за температури 100 °С в сушильній шафі, а потім на електричній плиті до позбавлення парів сульфатної кислоти. Тигель розміщували в холодній муфельній печі, температуру печі плавно доводили до 500 °С і прожарювали продовж однієї години, після чого його охолоджували та зважували.

Під час роботи застосовували електроди графітові спектральні «ОСЧ» 7-3 діаметром 6 мм і довжиною 50-60 мм. ГЗ і підготовлені проби розміщували в кратерах верхніх (глибина 5 мм, діаметр 1,9 мм) і нижніх (глибина 4 мм, діаметр 4,5 мм) електродів.

Виставляли наступні умови випарювання порошків: сила струму дуги

змінного струму – 16А, фаза підпалу – 60 °С, частота підпалювальних імпульсів – 100 розрядів на секунду, аналітичний проміжок – 2 мм, ширина щілини – 0,012 мм, експозиція – 60 с.

6. Попередня ідентифікація основних груп БАР проводилась методами ПХ та ТШХ.

Попередня ідентифікація амінокислот. Попередній хроматографічний аналіз якісного складу амінокислот у досліджуваних об'єктах проводили методом висхідної хроматографії у системі розчинників *n*-бутанол – оцтова кислота – вода (4 : 1 : 2). Для порівняння застосовували стандартний набір амінокислот (ТУ 6-09-3147-83) у концентрації 0,1 %. Обробку хроматограм здійснювали 0,2 % розчином нінгідрину в ацетоні та висушували у сушильній шафі за температури 60-80 °С. Амінокислоти ідентифікували порівнюючи значення R_f з ймовірними зразками при паралельному хроматографуванні [1, 10, 120, 159].

Аналіз вмісту фенолкарбонових кислот проводили двовимірною ПХ у системах розчинників: 1 напрям – *n*-бутанол – кислота оцтова – вода (БОВ) (4:1:2), 2 напрям – оцтова кислота 5 %; хроматограми обробляли 3 % спиртовим розчином заліза (III) хлориду [22, 24, 39, 52].

Присутність похідних гідроксикоричних кислот вивчали методом двомірної ПХ у системах - *n*-бутанол – кислота оцтова – вода (БОВ) (4 : 1 : 2) (1 напрям) та 15 % кислота оцтова (2 напрям) з вірогідними зразками гідроксикоричних кислот (Sigma Chemical Company, США). Хроматограми обробляли 3 % спиртовим розчином феруму (III) хлориду, розчином бромкрезолового зеленого.

Наявність речовин флавоноїдної природи визначали методами ПХ і ТШХ у системах органічних розчинників: *n*-бутанол – кислота оцтова – вода (БОВ) (4 : 1 : 2), хлороформ – кислота оцтова – вода (13 : 6 : 2), хлороформ – метанол (9 : 1) з вірогідними зразками флавоноїдів (Sigma Chemical Company, США). Наявність флавоноїдів виявляли за флуоресценцією в УФ-світлі до і після обробки хроматограм парами аміаку, 10 % спиртовим розчином калію

гідроксиду та 1 % спиртовим розчином алюмінію хлориду [8, 12, 18, 25].

Для ідентифікації основних БАР у екстрактах також використовували метод тонкошарової хроматографії на пластинах із шаром силікагелю (0,2 мм) (Merck, Німеччина). Для цього 0,5 г екстракту розчиняли у 10 мл 60 % *спирту Р*, витримували протягом 2 годин, періодично перемішуючи, і фільтрували. Як розчин порівняння використовували 5 мг ФСЗ лютеолін-7-О-глюкозиду і 5 мг ФСЗ кислоти хлорогенової у 10 мл метанолу *Р*. Хроматографування проводили у системі розчинників: кислота мурашина безводна *Р* – кислота оцтова льодяна *Р* – вода *Р* – етилацетат *Р* (11 : 11 : 7 : 100). Об'єм проби становив 10 мкл, який наносили смугами 10 мм. Рухома фаза проходила 13 см від лінії старту. Пластинки сушили на повітрі, нагрівали при температурі 100 °С протягом 5 хв. Теплу пластинку обприскували розчином 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти *Р* у метанолі *Р*, потім розчином 50 г/л макрогону 400 *Р* у метанолі *Р*, та переглядали в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Присутність терпенів виявляли методом ТШХ на пластинках із шаром силікагелю *Р* [15, 97, 98]. *Випробовуваний розчин*. 0,05 г етилацетатного екстракту струшували з 5 мл 96 % спирту *Р* протягом 5 хв і фільтрували над близько 2 г натрію сульфату безводного *Р*. *Розчин порівняння*. 20 мкл туйону *Р* і 25 мкл цинеолу *Р* розчиняли у 20 мл 96 % спирту *Р*. Випробовуваний розчин та розчин порівняння наносили окремими смугами по 20 мкл кожен на лінію старту.

Пластину розміщували у камері з розчинниками: етилацетат *Р* – толуол *Р* (5:95). При проходженні розчинником 15 см від лінії старту, пластину діставали з хроматографічної камери, сушили на повітрі, обробляли розчином 200 г/л кислоти фосфорномолібденової *Р* у 96 % спирті *Р*. Нагрівали при температурі від 100 °С до 105 °С протягом 10 хв. Переглядали при денному світлі [15, 33, 34, 62, 66].

7. Визначення кількісного вмісту основних груп БАР спектрофотометричним методом.

Вміст похідних гідроксикоричних кислот у сировині визначали спектрофотометричним методом, у перерахунку на розмаринову кислоту [28, 35, 37, 38, 40]. Вихідний розчин. До 0,200 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12), додавали 80 мл *етанолу (50 %, об/об) Р*, нагрівали зі зворотнім холодильником на водяній бані протягом 30 хв, охолоджували і фільтрували. Фільтр ополіскували 10 мл *етанолу (50 %, об/об) Р*, фільтрат і промивні води об'єднували у мірній колбі і доводили об'єм розчину *етанолом (50 %, об/об) Р* до 100 мл. *Випробовуваний розчин.* До 1,0 мл вихідного розчину додавали 2 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*, потім додавали 2 мл *натрію гідроксиду розчину розведеного Р*, доводили об'єм розчину *водою Р* до 10 мл і перемішували. *Компенсаційний розчин.* 1,0 мл вихідного розчину доводили *водою Р* до 10,0 мл. Оптичну густину (2.2.25) випробуваного розчину вимірювали відразу за довжини хвилі 505 нм [15].

Вміст суми похідних гідроксикоричної кислоти в об'єктах дослідження (X), у перерахунку на розмаринову кислоту, обчислювали у % за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 2,5}{m} \quad (2.1)$$

де *A* – оптична густина випробуваного розчину за довжини хвилі 505 нм;

m – маса наважки випробуваної сировини, у грамах.

Використовували питомий показник поглинання розмаринової кислоти, що дорівнює 400.

Вміст похідних гідроксикоричних кислот визначали спектрофотометричним методом в перерахунку на хлорогенову кислоту. Максимум поглинання ДСЗ хлорогенової кислоти спостерігається при 327 нм, тому виміри проводили при цій довжині хвилі.

0,1 г (точна наважка) екстракту вміщували в колбу ємністю 25 мл, розчиняли в 20 % спирті та доводили тим же розчинником до мітки. 1,0 мл

отриманого розчину переносили у мірну колбу ємністю 25 мл, доводили об'єм 20 % спиртом до мітки, перемішували та фільтрували. Вимірювали оптичну густину отриманого розчину на спектрофотометрі Spacol 1500 при довжині хвилі 327 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм.

Паралельно 1,0 мл ДСЗ хлорогенової кислоти вносили у мірну колбу ємністю 50,0 мл, доводили об'єм до мітки 20 % етанолом, перемішували та вимірювали оптичну густину в таких же умовах, що і дослідний розчин. Розчином порівняння був 20 % етанол.

Вміст суми похідних гідроксикоричної кислоти в екстрактах у відсотках (X) у перерахунку на хлорогенову кислоту та повітряно-суху сировину, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a_1 \cdot 1 \cdot 50 \cdot 100 \cdot (100 - w)} \quad (2.2)$$

де A_1 – оптична густина дослідного розчину;

A_0 – оптична густина розчину ДСЗ кислоти хлорогенової;

a_1 – наважка сировини у грамах;

a_0 – наважка ДСЗ кислоти хлорогенової у грамах;

w – втрата в масі при висушуванні у відсотках.

Примітка. Приготування розчину ДСЗ кислоти хлорогенової. Близько 0,05 г (точна наважка) кислоти хлорогенової (ДСТ 6-09-14-66) вносили у мірну колбу ємністю 100 мл, розчиняли у розчині 20 % етанолу, доводили об'єм розчину тим же розчинником до мітки і перемішували.

Визначення вмісту флавоноїдів в об'єктах дослідження проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на лютеолін [45, 46, 59, 63]. *Вихідний розчин І.* 0,200 г здрібненої на порошок сировини поміщали у колбу місткістю 200 мл, додавали 40 мл етанолу (60 % об/об) Р, нагрівали у водяній бані при температурі 60 °С

протягом 10 хв, обережно струшуючи, охолоджували і фільтрували крізь тампон із вати у мірну колбу місткістю 100 мл. Поміщали тампон із вати із залишком сировини у ту саму колбу місткістю 200 мл, додавали 40 мл *етанолу (60 %, об/об) P*, знову нагрівали у водяній бані при температурі 60 °C протягом 10 хв обережно струшуючи, охолоджували і фільтрували у ту саму мірну колбу місткістю 100мл. Колбу місткістю 200 мл і фільтр обполіскували *етанолом (60 %, об/об) P*, промивну рідину переносили у ту саму мірну колбу місткістю 100 мл, доводили об'єм суміші *етанолом P (60 %, об/об)* до 100 мл і фільтрували. *Випробуваний розчин*. 5,0 мл вихідного розчину 1 поміщали у круглодонну колбу та упарювали насухо під зниженим тиском. Одержаний залишок за допомогою 8 мл суміші *метанол P – оцтова кислота безводна P (10 : 100)* переносили у мірну колбу місткістю 25 мл. Круглодонну колбу обполіскували 3 мл суміші *метанол P – оцтова кислота безводна P (10 : 100)* і промивну рідину поміщали у ту саму мірну колбу місткістю 25 мл. До одержаного розчину додавали 10,0 мл розчину, що містить 25,0 г/л *борної кислоти P*, 20,0 г/л *щавлевої кислоти P* у *мурашиній кислоті безводній P*, і доводили об'єм розчину *оцтовою кислотою безводною P* до 25,0 мл. *Компенсаційний розчин 1*. 5,0 мл вихідного розчину 1 поміщали у круглодонну колбу та упарювали насухо під зниженим тиском. Одержаний залишок за допомогою 8 мл суміші *метанол P – оцтова кислота безводна P (10 : 100)* переносили у мірну колбу місткістю 25 мл. Круглодонну колбу обполіскували 3 мл суміші *метанол P – оцтова кислота безводна P (10 : 100)* і промивну рідину поміщали у ту саму мірну колбу місткістю 25 мл. До одержаного розчину додавали 10,0 мл *мурашиної кислоти безводної P* і доводили об'єм розчину *оцтовою кислотою безводною P* до 25,0 мл. *Вихідний розчин 2*. 0,015 г (точна наважка) ФСЗ ДФУ лютеолін 7-глюкозиду або 0,010 г (точна наважка) ФСЗ ДФУ лютеоліну поміщали у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняли у 70 мл *метанолу P*, доводили об'єм розчину тим самим розчинником до позначки і перемішували. *Розчин порівняння*. 1,0 мл вихідного розчину 2 переносили у мірну колбу місткістю 25мл, додавали

10,0 мл розчину що містить 25,0 г/л борної кислоти P , 20,0 г/л щавлевої кислоти P у мурашиній кислоті безводній P , і доводили об'єм розчину оцтовою кислотою безводною P до 25,0 мл. Компенсаційний розчин 2. 1,0 мл вихідного розчину 2 переносили у мірну колбу місткістю 25 мл, додавали 10,0 мл мурашиної кислоти безводної P і доводили об'єм розчину оцтовою кислотою безводною P до 25,0 мл. Оптичну густину випробуваного розчину вимірювали через 30 хв після приготування за довжини хвилі 410 нм відносно компенсаційного розчину 1. Паралельно вимірювали оптичну густину розчину порівняння відносно компенсаційного розчину 2 [15].

Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на лютеолін і суху сировину, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot 20 \cdot P}{A_0 \cdot a_1 \cdot 100} \quad (2.2),$$

де A_1 – оптична густина випробуваного розчину за довжини хвилі 410 нм,

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

a_0 – маса наважки ФСЗ ДФУ лютеоліну, у грамах,

a_1 – маса наважки випробуваної сировини, у грамах,

P – вміст лютеолін у ФСЗ ДФУ лютеолін 7-глюкозиду, у відсотках.

Визначення вмісту суми фенольних сполук проводили у перерахунку на галову кислоту. 0,1 г екстракту вносили у мірну колбу ємністю 25,0 мл, доводили об'єм 40 % етанолом до мітки та перемішували. 1,0 мл отриманого розчину вносили у мірну колбу на 25 мл та доводили тим же розчинником до мітки. Вимірювали оптичну густину за довжини хвилі 270 нм. Як розчин порівняння використовували 40 % етанол [108, 117, 126, 156].

Вміст суми фенольних сполук (X) в об'єктах дослідження у перерахунку на кислоту галову обчислювали у відсотках за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 50 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 100}{540 \cdot m \cdot 1 \cdot 2 \cdot (100 - w)} \quad (2.3)$$

де A – оптична густина дослідного розчину;

m – маса наважки сировини, у грамах;

540 – коефіцієнт питомого поглинання розчину кислоти галової у 40 % спирті за довжини хвилі 270 нм [80];

w – втрата в масі при висушуванні сировини, у відсотках.

8. Визначення якісного складу та кількісного вмісту БАР методом ВЕРХ та ГХ-МС.

*Дослідження амінокислотного складу об'єктів дослідження проводили методом ВЕРХ на хроматографі Agilent Technologies (модель 1100). Для хроматографування використовували колонку АА 200 × 2,1 мм і захисну передколонку; рухома фаза – розчин А (20 мМ натрію ацетату та 0,018 % триетиламін, доведений до рН 7,2 1-2 % оцтовою кислотою, з додаванням 0,3 % тетрагідрофурану) та розчин В (40 % CH_3CN , 40 % MeOH та 20 % 100 мМ натрію ацетату, доведений до рН 7,2 1-2 % оцтовою кислотою); об'ємна швидкість потоку – 0,45 мл/хв; температура колонки – 40 °С; детектування проводили за допомогою УФ-детектора після передколонкової дериватизації спочатку *o*-фталевим альдегідом (ОРА-реактив), а потім 9-флуоренілхлорформатом (ФМОС-реактив) для проявлення проліну [1]. Ідентифікацію амінокислот проводили за часом утримування стандартів відповідних амінокислот (ТУ 6-09-3147-83) [10, 41, 120, 159].*

Дослідження фенольних сполук листя досліджуваних видів роду шавлія проводили методом ВЕРХ за такою методикою [56, 156]: 5 г сухої сировини (точна наважка) подрібненої до розміру часток 2-3 мм, заливали 70 мл 50 % етанолу та настоювали при кімнатній температурі протягом доби. Після цього екстракт фільтрували крізь паперовий фільтр в мірну колбу на 100 мл. Одержаний екстракт використовували для аналізу.

Вивчення складу фенольних сполук проводили методом ВЕРХ на

хроматографі Shimadzu LC20 Prominence у модульній системі, оснащій чотирьохканальним насосом LC20AD, термостатом колонок CTO20A, автоматичним пробовідбірником SIL20A, діодно-матричним детектором SPDM20A і ChemStation LC20 в таких умовах: колонка Phenomenex Luna C18(2), розміром 250 мм х 4,6 мм, розмір часток 5 мкм; температура колонки – 35 °С; довжина хвилі детектування – 330 нм (гідроксикорчні кислоти, глікозиди флавоноїдів), 370 нм (аглікони флавоноїдів), 280 нм (дубильні речовини), 340 нм (кумарини); швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв; об'єм проби, що вводилась – 5 мкл. Рухома фаза: Елюент А: 0,1 % розчин трифтороцтової кислоти у воді; Елюент Б: 0.1 % розчин трифтороцтової кислоти в ацетонітрилі. Ідентифікацію компонентів проводили за часом утримування та за відповідністю УФ-спектрів речовинам-стандартам [11, 18, 29, 49].

Дослідження сапонінів в листі досліджуваних видів роду шавлія проводили методом ВЕРХ за такою методикою [56]: 5 г сухої сировини (точна наважка) подрібненої до розміру часток 2-3 мм, заливали 50 мл метанолу та настоювали при кімнатній температурі протягом доби. Після цього екстракт фільтрували крізь паперовий фільтр в мірну колбу на 100 мл. Одержаний екстракт використовували для аналізу.

Визначення якісного складу та кількісного вмісту сапонінів проводили методом ВЕРХ за допомогою хроматографа Shimadzu LC20 Prominence в модульній системі, оснащій чотирьохканальним насосом LC20AD, термостатом колонок CTO20A, автоматичним пробовідбірником SIL20A, діодно-матричним детектором SPDM20A і ChemStation LC20 в таких умовах: колонка X-Bridge C18, розміром 150 мм*4,6 мм з розміром зерна 5 мкм (фірма Waters); температура колонки – 30 °С; довжина хвилі детектування – 205 нм; швидкість потоку рухомої фази – 1,0 мл/хв; об'єм проби, що вводився – 20 мкл. Рухома фаза: метанол для ВЕРХ : 0,2 % розчин амонію ацетату (рН 6,75) у співвідношенні (80 : 20). Режим елюювання: ізократичний. Ідентифікацію компонентів проводили за часом утримування

та за відповідністю УФ-спектрів речовинам-стандартам. Спектри тритерпенових сапонінів мають максимум поглинання за довжини хвилі 200-210 нм, тому детектування даної групи сполук проводили при 205 нм. Кількісне визначення індивідуальних компонентів в метанольних екстрактах сировини суховершків проводили з використанням зовнішніх РСЗ кислоти олеанолової, урсолової та стандартизованих екстрактів сапонінвміщуючої рослинної сировини – кори берези повислої (*Betulae pendulae cortex extract*) та листя шавлії лікарської (*Salviae off. foliae extract*). Дані екстракти характеризувались точним значенням вмісту бетуліну, кислоти бетулінової, лупеолу [67, 113, 140, 151].

Дослідження летких речовин у об'єктах дослідження проводили методом ГХ-МС за наступною методикою: наважку 2,0 (точна наважка) рослинного матеріалу поміщали у пробірку об'ємом 20 мл, заливали 10 мл метанолу (Sigma-Aldrich) та залишали на одну добу. Екстракт фільтрували за допомогою шприцевого фільтра, отриманий фільтрат хроматографували.

Газовий хроматограф Agilent 7890B із мас-спектрометричним детектором 5977B та системою охолодженої інжекції Gerstel CIS 4. Хроматографічна колонка DB-5ms довжиною 30 м х 250 мкм х 0,25 мкм. Швидкість газу-носія (гелій) – 1,3 мл/хв. Об'єм інжекції – 0,5 мкл. Використана пульсова інжекція з поділом потоку у співвідношенні 1:5. Температура блоку введення проб – 200°C → 12°C/с → 265°C. Температура термостата: програмована, 70°C (затримка 1 хв) → 10°C/хв → 270°C (затримка 4 хв.). Загальний час хроматографування – 25 хв. Температура інтерфейсу ГХ/МС – 275°C; джерела іонів – 230°C; квадрупольного мас-аналізатора – 150°C. Тип іонізації: електронний удар при енергії електронів 70 еВ. Діапазон масових чисел, що був сканований: 30-700 *m/z*. Для ідентифікації компонентів використана бібліотека мас-спектрів NIST14 [91, 92, 142, 143, 146].

9. Визначення антимікробної активності екстрактів. Вивчення антибактеріальної активності одержаних екстрактів проводили

методом дифузії в агар у лабораторії біохімії мікроорганізмів та живильних середовищ Інституту мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова під керівництвом к.біол.н. Осолодченко Т. П. Відповідно до рекомендацій ВООЗ для оцінки активності препаратів використовували рефренс-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* 6538 ATCC, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* NCTC 4636, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa* 9027 ATCC, *Basillus subtilis* ATCC 6633 і *Candida albicans* 885/653 ATCC. Для дослідження використовували 1 % розчини екстрактів [4, 14, 55, 60, 75, 81]. Препаратом порівняння був 1 % розчин хлорофіліпту.

10. Протизапальну активність досліджуваних екстрактів вивчали на дослідних щурах на моделі гострого запального набряку, викликаного субплантарним введенням в задню лапку щура 0,1 мл 1 % розчину карагеніну. Дослідження виконували на безпородних білих щурах масою 200 - 250 г по 6 тварин у дослідних і по 5 контрольній та порівняльній групах. Вимірювання об'єму лапки здійснювали за допомогою онкомера до початку досліду та щогодинно протягом 4 годин. Заявлені сполуки вводили у дозах 50, 70 мг / кг внутрішньошлунково за 60 хвилин до введення карагеніну. Ступінь пригнічення набряку (протизапальну активність) порівнювали з початковим об'ємом лапки, з контрольною групою та групою препарату порівняння диклофенаком у дозі 8 мг/кг (ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» Україна, табл. 25 мг) [6, 20, 23, 27, 57, 58, 61, 99].

РОЗДІЛ 3

ФІТОХІМІЧНИЙ ТА ФАРМАКОГНОСТИЧНИЙ АНАЛІЗ ЛИСТЯ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ *SALVIA* ФЛОРИ УКРАЇНИ

3.1 Виявлення перспективних видів роду *Salvia* флори України

Рід *Salvia* L. нараховує понад 900 видів, розповсюджених на всій земній кулі. В Україні зростає 21 вид. Усі види цього роду є ефіроолійними. Шавлія лікарська і шавлія мускатна ввійшли у культуру. Хімічний склад інших видів шавлії і можливість їх використання у фармацевтичній та медичній практиці майже не вивчені.

Спираючись на літературні данні, результати наукових досліджень Кошового О. М. [32] та власних досліджень, було проведено додаткове оновлене хемотаксономічне дослідження 17 видів роду Шавлія (*Salvia* L.): *S. officinalis*, *S. sclarea*, *S. grandiflora*, *S. scabiosifolia*, *S. glutinosa*, *S. aethiopis*, *S. pratensis*, *S. stepposa*, *S. Sibthorpii*, *S. illuminata*, *S. nemorosa*, *S. pendula*, *S. sylvestris*, *S. nutans*, *S. austriaca*, *S. verticillata* та *S. cernua* для визначення перспективних видів та встановлення можливості створення на їх основі нових лікарських засобів.

У результаті вивчення хімічного складу роду Шавлія (*Salvia* L.) флори України, встановлено, що рід характеризується наявністю монотерпеноїдів, гідроксикоричних кислот – похідних кофейної кислоти та флавоноїдів – похідні лютеоліну та апігеніну.

Для хемотаксономічного дослідження роду *Salvia*, у 17 видах роду Шавлії було проаналізовано 5719 станів 301 хімічної ознаки, характерних для терпеноїдів та фенольних сполук з різних морфо-таксономічних груп. Розраховані коефіцієнти оригінальності, інформаційну вагу ознак, суми позитивних нормальних та кваліфікованих станів ознак, що використовувались надалі для обчислення у систематиці, а також коефіцієнти парної і групову спорідненість. За результатами проведеного

апигенін та діосметин (лютеол-7-О-глюкозид). Друга група включає *S. pratensis* L., *S. stepposa* Schost., *S. Sibthorpii* Sm., *S. illuminata*, *S. nemorosa* L., *S. nutans* L., які характеризуються вмістом α -пінену, 1,8-цинеолу, лімонену, цис-неофітадієну, кофейної кислоти та її похідних, розмаринової кислоти, гіспідуліну і цирсимарітину. Третя група таксонів (*S. glutinosa* L., *S. nemorosa* L., *S. austriaca* Jacq. та *S. verticillata* L.) відрізняється вмістом *n*-цімену, 1,8-цинеолу, лімонену, цис-2-гексен-1-ол ацетату, β -туйону, камфори, борнеолу, *n*-цімен-8-олу, γ -ситостерину, лютеолін-7-О-глюкозиду, кофейної кислот та її похідних, розмаринової кислоти. Четверта група (*S. aethiopis* L., *S. sylvestris* L., *S. pendula* Besser) містить α -пінен, α -оксид пінену, α -туйон, *n*-цімен-8-ол, карвакрол, неролідол, гексагідрофарнезилацетон, виридифлорол, ізокаріофіл-3,8(13)-дієн-5-ол, лютеолін-7-О-глікозид, апигенін-7-О-глікозид, апигенін.

Дендрограма (рис. 3.1) показує розподіл досліджуваних таксонів на кілька груп, які утворили гілки, у основі яких *S. nemorosa*, *S. austriaca* та *S. sibthorpii*, що містять 1,8-цинеол, розмаринову кислоту та віценін-2 у значній кількості. Гілка з *S. aethiopis* у своїй основі представлена видами, які не містять 1,8-цинеол або містить його у незначній кількості, і характеризується наявністю апигеніну та гіспідуліну. На відміну від інших груп видів, гілка з *S. stepposa* у основі характеризується наявністю кверцетину та рутину. Для видів групи з *S. austriaca* у основі, характерна наявність терпеноїдів – похідних камфану та *n*-цимену на відміну від інших видів, флавоноїдів – гіспідуліну і похідних апигеніну.

Новизна досліджень полягає у тому, що на базі морфологічних та хімічних характеристик 17 видів шавлій, які присутні у флорі України, було проведено хемотаксономічні дослідження та встановлено чотири основні групи видів, що дало змогу вирішити низку дискусійних питань щодо ідентичності видів, показати деякі аспекти еволюційного розвитку видів шавлії в українській флорі, створити передумови для цілеспрямованого пошуку біологічно активних речовин серед представників цього роду.

Найвищий вміст терпеноїдів спостерігається в листі *S. officinalis*, *S. grandiflora* та *S. scabiosifolia*; високий вміст гідроксикоричних кислот – у листі *S. pratensis*, *S. illuminata*, *S. austriaca* та *S. verticillata*; найвищий вміст флавоноїдів та фенольних сполук виявлено у листі *S. grandiflora*, *S. pratensis*, *S. illuminata*, *S. nemorosa*, *S. pendula*, *S. sylvestris*, *S. nutans*, *S. verticillata* та *S. cernua*. Найбільш перспективними видами флори України для використання у фармацевтичній промисловості є *S. grandiflora*, *S. cernua*, *S. pratensis*, *S. nemorosa* та *S. verticillata*, які здебільшого пов'язані з *S. officinalis* і містять значну кількість фенольних сполук та терпеноїдів.

Враховуючи поширеність цих видів на території України та перспективи їх введення у культуру, для подальших досліджень було обрано сировину *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*.

3.2 Макроскопічний аналіз листя *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*

3.2.1 Макроскопічний аналіз листя *S. grandiflora*

Листки (як на неплідних пагонах, так і на стеблах) від довгасто-яйцеподібних (нижні) до довгасто-яйцеподібно-ланцетних. Листки неплідних пагонів, нижні і середні стеблові листки з волохато-шерстистим черешком 2 – 8,5 см завдовжки, пластинка в них 2 – 10 (іноді більше) см завдовжки, 1 – 6 см завширшки, при основі трохи нерівнобока, закруглена або коротко клиноподібна, на верхівці тупа (лише в найнижчих листків) або здебільшого коротко- чи відтягнуто-загострена, з країв дрібно-зарубчасто-пилчаста, на поверхні зверху зеленувата, коротко волосиста, лише в молодих листків сірувато-шерстиста, зісподу сірувато-шерстиста, і лише в дуже молодих листків білувата від опушення, з обох боків засіяна не дуже помітними крапчастими залозками, досить тонко сітчасто-зморшкувата. Верхні стеблові листки короткочерешкові, здрібнені (рис 3.2).



Рис. 3.2 Шавлія великоквіткова, *S. grandiflora* L.

Покривні листки при основі суцвіть яйцеподібно-трикутні або ланцетні, 7 – 21 мм завдовжки, 5 – 11 мм завширшки, нижні при основі з дуже коротким і широким черешком, з країв помітно зазубрені, як і середні – ззовні сірувато-шерстисті або волосисті, зсередини біля основи і вище білуваті, оголені, верхні сидячі, цілокраї, напівперетинчасті; приквіткові листки довгасто-яйцеподібно-ланцетні, опуклі, близько 4 – 5,5 мм завдовжки, 1,5 – 2,5 мм завширшки, перетинчасті, зовні волосисті, зсередини голі.

3.2.2 Макроскопічний аналіз листя *S. pratensis*

Нижні листки *S. pratensis* (рис. 3.3) зібрані в прикореневу розетку або в пучки на вкорочених неплідних пагонах, довгочерешкові, довгасто- або

трикутно-яйцеподібні, 5 – 36 см завдовжки, ураховуючи й черешок, 2,5 – 10 см завширшки, з черешками 2,5 – 20 см завдовжки.



Рис. 3.3 Шавлія лучна, *S. pratensis* L.

Пластинка листка при основі неглибоко серцеподібна або короткоклиноподібна, з країв подвійно зарубчасто-зубчаста, нерідко пірчасто-надрізна (і тоді ширша), трикутно-яйцеподібна, зверху майже гола, зісподу досить коротко-волосиста; стеблові листки в кількості двох, рідше трьох пар, нижні схожі на прикореневі листки, верхні багато дрібніші, сидячі, довгасто-ланцетні; покривні листки при несправжніх кільцях яйцевподібно-ланцетні, з сидячою і стеблеобгортною основою та з відтягнуто-загостреною верхівкою, цілокраї, коротші за квітки, волосисті і залозисті.

3.2.3 Макроскопічний аналіз листя *S. verticillata*

Листки *S. verticillata* (рис. 3.4) черешкові, яйцеподібні або трикутно-яйцеподібні, нижні та середні часто ліроподібні; черешок у нижніх листків до 7 – 9 см завдовжки, у верхніх – коротенький.

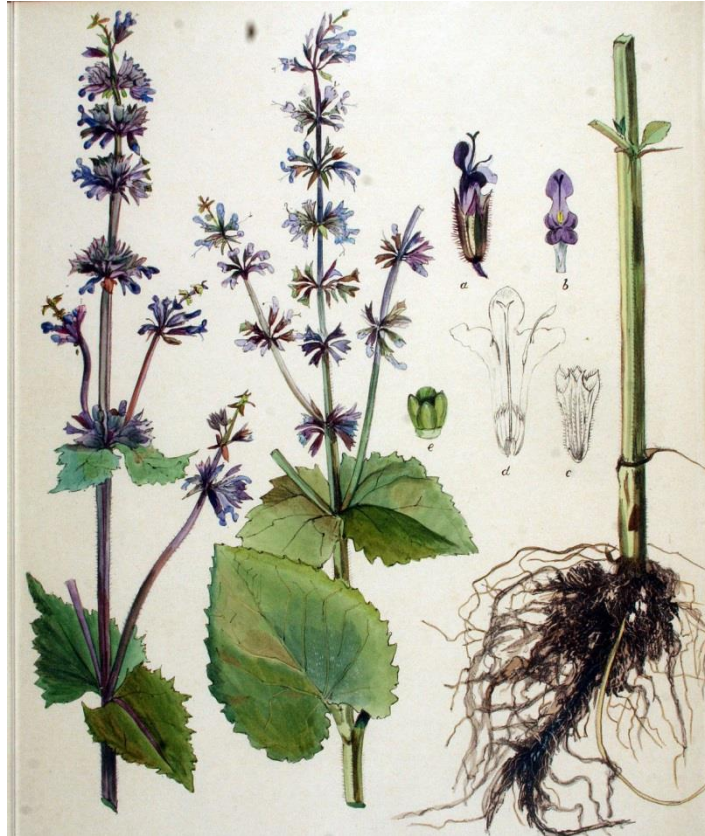


Рис. 3.4 Шавлія кільчаста *S. verticillata* L.

Пластинка з неглибоко- або невиразносерцеподібною основою і короткозаготреною або (у верхніх листків) гострою верхівкою, з країв дуже нерівнозарубчасто-зубчаста, в нижній частині у деяких листків надрізна або глибоко розсічена, з двома, іноді з чотирма довгасто-яйцеподібними лопатями; покривні листки сидячі, трикутно-яйцеподібні, загострені, цілокраї, війчасті, коротші за квітки, після цвітіння відігнуті вниз.

3.3 Мікроскопічний аналіз листя *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*

Макро- та мікроскопічне вивчення листя шавлії лікарської було проведено у достатньому обсязі, а результати є у відкритому доступі та наведені у Державній фармакопеї України, тому доцільно провести мікроскопічний аналіз саме для нефармакопейних видів рослин.

Дослідження морфолого-анатомічної будови листя досліджуваних видів шавлії проводили із застосуванням методу світлової мікроскопії (розділ 2, п. 4).

3.3.1 Результати дослідження морфолого-анатомічної будови листя *S. verticillata*

Листкова пластинка (рис. 3.5 – 3.16). Листкова пластинка дорзовентрального типу. Клітини верхньої епідерми багатокутні, паренхімні (рис. 3.5, 1). Оболонки клітин мають намистоподібні потовщення (рис. 3.5, 2). Вздовж жилок клітини з більш довгими стінками (більш прозенхімні), прямостінні. Складчастість кутикули повздовжньо-зморшкувата. Нижня епідерма представлена звивистостінними, паренхімними клітинами з рівномірно потовщеними оболонками (рис. 3.8, 1). Продиховий апарат діацитного типу. Продихи численні з нижнього боку листкової пластинки (рис. 3.11, 1). З верхнього боку також наявні ефіроолійні залозки чисельні з нижнього боку (рис. 3.8, 2), з верхнього менше. Будова залозок характерна для видів родини *Lamiacea*. Голівка складається з 6-8 радіально розташованих клітин. Добре помітна ніжка. Головчасті волоски двох типів. Перщі мають двоклітинну голівку та одноклітинну ніжку (рис. 3.9, 1). У волосків другого типу голівка одноклітинна на багатоклітинній (частіше 2 клітинні) ніжці. Прості волоски численні, складаються з 4-6 клітин, з потовщеними оболонками (рис. 3.12). Зустрічаються волоски зі спалими

стінками (рис. 3.12, 1; рис. 3.14, 1). Кутикула гладенька або бородавчаста. Термінальна клітина довга із загнутих кінчиком, або пряма з гострою верхівкою (рис. 3.12, 2). Базальні клітини (клітини біля основи волоска) мають більш потовщені стінки (рис. 3.13, 1).

На поперечному зрізі добре помітні всі шари в структурі листової пластинки. Стовпчаста паренхіма дворядна (рис. 3.16, 1). Клітини вузькі, щільно прилягають одна до одної. Губчастий мезофіл складається з клітин, які щільно прилягають, міжклітинників мало (рис. 3.16, 2). Епідермальні клітини вздовж жилок прозенхімні.

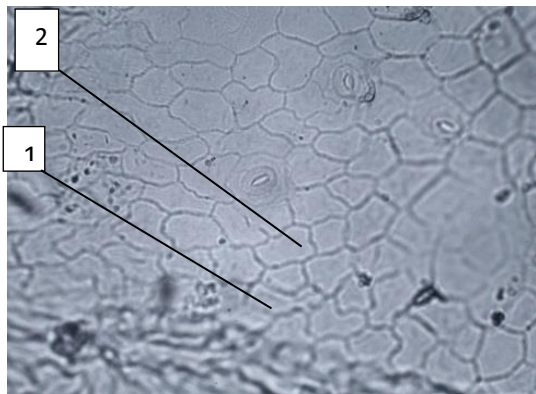


Рис. 3.5 Верхня епідерма листка.
Клітини епідерми (1).
Намистоподібні потовщення (2)

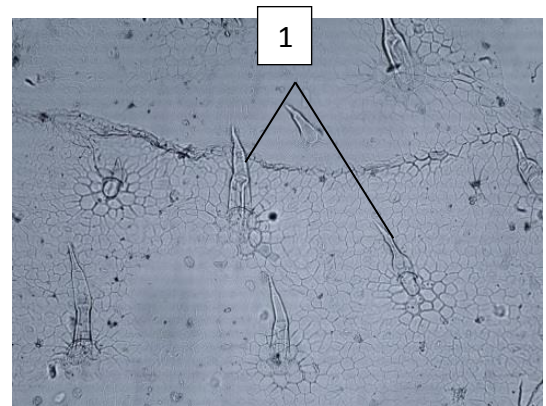


Рис. 3.6 Верхня епідерма листка
Прості волоски(1)

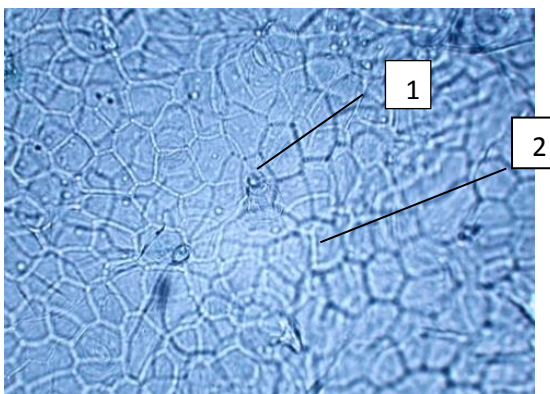


Рис. 3.7 Верхня епідерма листка.
Залозисті волоски (1, 2)

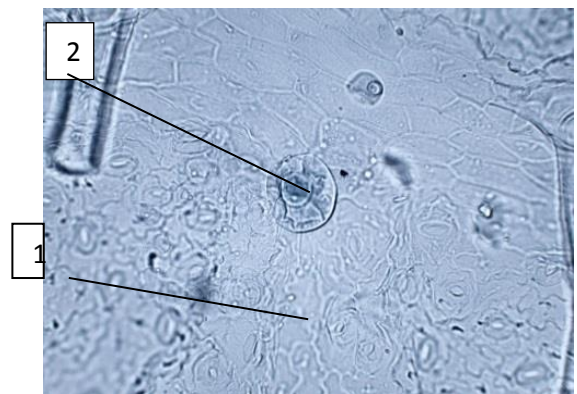


Рис. 3.8 Нижня епідерма листка.
Потовщені оболонки епідерми (1)
Ефірноолійна залозка (2)

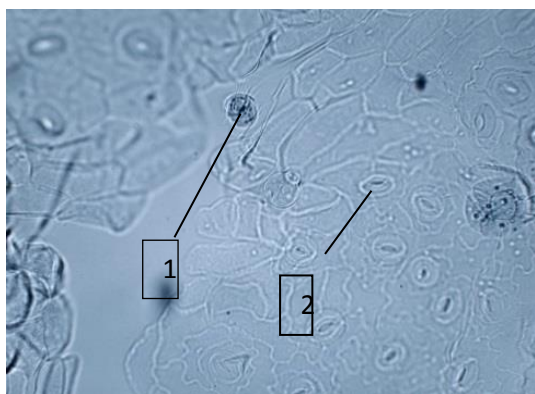


Рис. 3.9 Нижня епідерма листка.
Залозистий волосок (1)
Продуктивний апарат (2)



Рис. 3.10 Нижня епідерма листка.
Залозистий волосок (1)



Рис. 3.11 Нижня епідерма листка.
Продуктивний апарат (1)

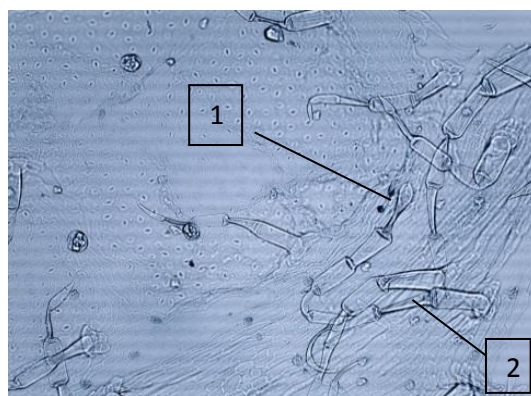


Рис. 3.12 Нижня епідерма листка.
Прості волоски (1,2)

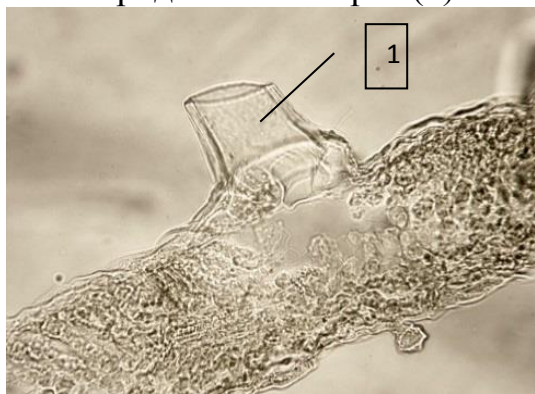


Рис. 3.13 Основа волоска (1)



Рис. 3. 14 Поперечний зріз листової
пластини.
Простий волосок зі спалими стінками
(1)

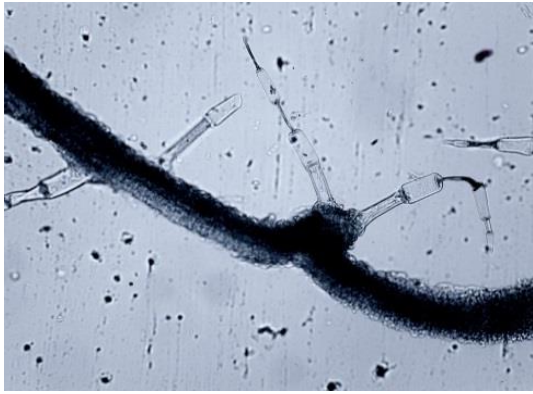


Рис. 3.15 Поперечний зріз листкової пластини. Волосок.

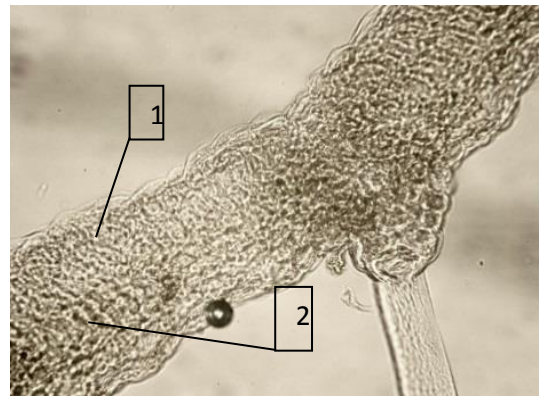


Рис. 3.16 Поперечний зріз листкової пластини. Основа волоска.
Паренхіма (1)
Мезофіл (2)

Центральна жилка однопучкова. Випукла з абаксального боку (рис. 3.17). Провідний пучок колатерального типу. Ксилема розташована з верхнього боку (рис. 3.18, 1), флоема з нижнього (рис. 3.17, 1). З абаксального боку під епідермою 2-3 шари коленхіматозної паренхіми. Провідний пучок оточений клітинами багатокутньої форми – основна паренхіма (рис. 3.17). Вздовж центральної жилки зустрічаються базальні клітини від волосків що відпали (рис. 3.19, 1).

Черешок (рис. 3.20-3.22). Із стебла в листок входить три провідних пучки. Центральний пучок великий, два бічні дрібні. В центральній частині з абаксального боку черешок більш округлий, з верхнього (адаксіального) – з борозенкою посередині. Два дрібні провідних пучки розташовані в бічних виростах (бокові бугорки).

Під епідермою розташовані 2-3 шари кутової коленхіми. В бічних бугорках до 7 шарів кутової коленхіми. Клітини основної паренхіми великі, тонкостінні, багатокутні. З нижнього боку до пучка прилягають 3-5 шарів склеренхіми. Судини ксилеми спіральні. Клітини епідерми черешка паренхімно-прозенхімні, гострокутні (рис. 3.20, 1). Продихи рідкі, дрібні, на бічній стороні черешка. Зустрічаються всі види трихом (рис. 3.21; 3.22).

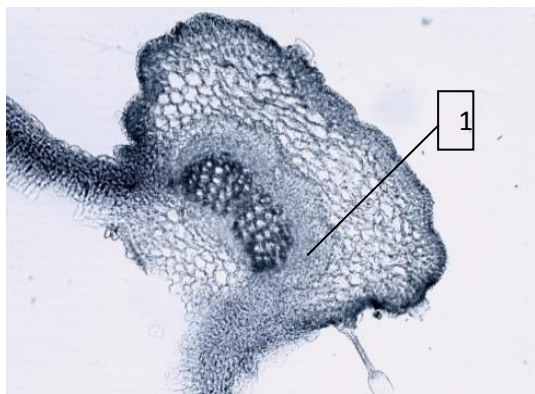


Рис. 3.17 Центральна жилка.
Флоема (1)

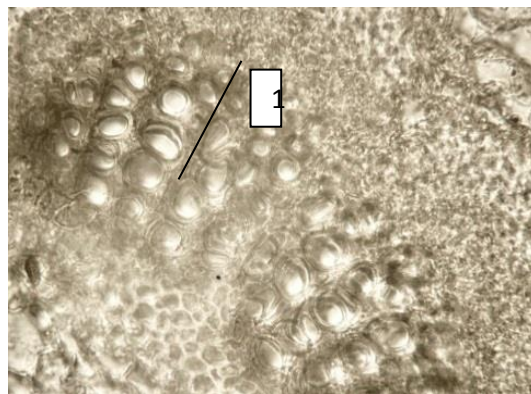


Рис. 3.18 Центральна жилка.
Ксилема (1)

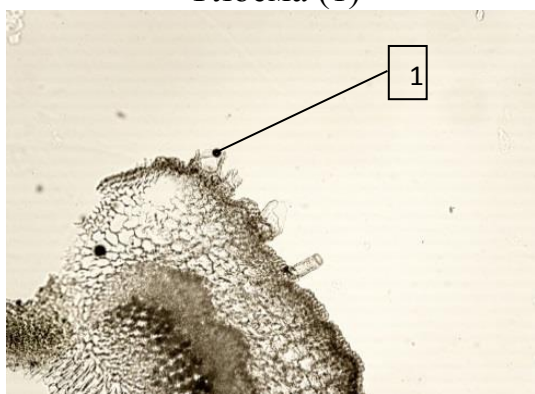


Рис. 3.19 Центральна жилка.
Волоски (1)



Рис. 3.20 Епідерма черешка.

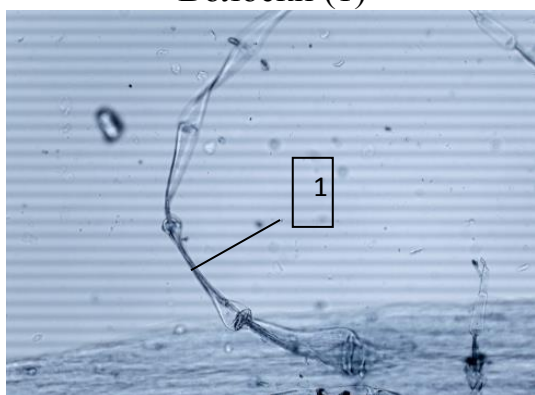


Рис. 3.21 Епідерма черешка. Волосок
(1)

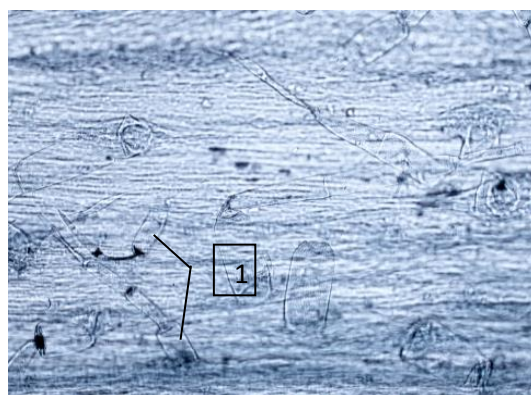


Рис. 3.22 Епідерма черешка. Волоски
(1)

3.3.2 Результати дослідження морфолого-анатомічної будови листя *S. grandiflora*

Листкова пластинка. Листкова пластинка дорзовентрального типу. Клітини верхньої епідерми прямо стінні, багатокутні, паренхімні (рис. 3.23). Оболонки мають намистоподібні потовщення. Вздовж жилок клітини епідерми паренхімно-прозенхімні, прямостінні (рис. 3.24). Клітини нижньої

епідерми слабозвивистостінні з рівномірно потовщеними оболонками. Кутикула складчаста. Продиховий апарат діацитного типу (рис. 3.23, 1). З абаксіального боку продихи численні. З адаксіального боку листка продихів менше. Волоски двох типів: прості та головчасті. Прості волоски багатоклітинні, містять до 6 клітин (рис. 3.25). Оболонки клітин потовщені. Зустрічаються волоски зі спалими стінками. Термінальна клітина видовжена, загострена, загнута. Основа волоска оточена розеткою епідермальних клітин (до 6 клітин). Залозисті волоски двох типів: перші - складаються з двоклітинної голівки та одноклітинної ніжки. У волосків другого типу голівка одноклітинна на багатоклітинній (частіше 2 клітини) ніжці. Будова залозок характерна для видів родини *Lamiaceae*. Голівка складається з 6-8 радіально розташованих клітин. Добре помітна ніжка. Залозок багато на нижній поверхні листка (рис. 3.25, 3; 3.26, 1).

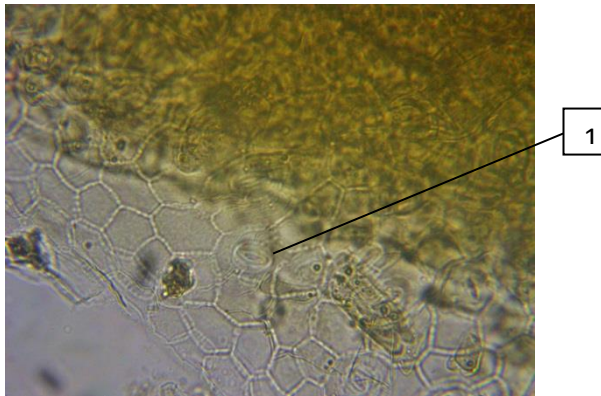


Рис. 3.23 Верхня епідерма.
Продиховий апарат діацитного
типу (1).



Рис. 3.24 Клітини верхньої епідерми
вздовж жилки.

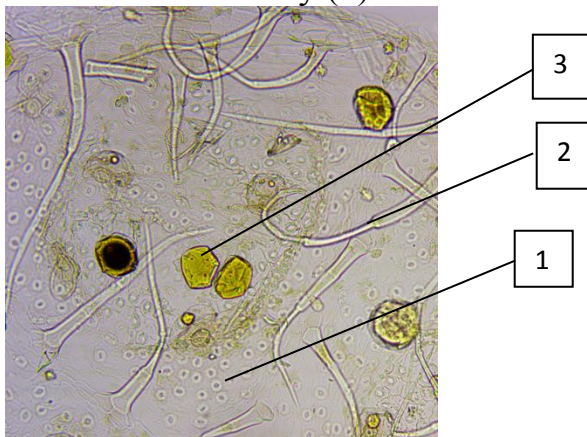


Рис. 3.25 Нижня епідерма. Продихи
(1). Простий волосок (2). Залозка (3).



Рис. 3.26 Нижня епідерма.
Залозка (1)

Листкова пластинка дорзивентрального типу, амфістоматична. Стовпчаста паренхіма дворядна. Клітини вузькі, щільно прилягають одна до одної. Губчастий мезофіл складається з клітин, які розташовані майже без міжклітинників.

Центральна жилка однопучкова (рис. 3.27). Провідний пучок колатерального типу (рис. 3.29). Під епідермою наявні 2 – 3 шари коленхіматозної паренхіми (рис. 3.28). Ксилема променева, добре розвинена, розташована ближче до адаксіального боку листкової пластини. Зі сторони флоєми розміщені 2 - 3 шари склеренхіми. Клітини основної паренхіми крупні, звивисті, тонкостінні.



Рис. 3.27 Центральна жилка



Рис. 3.28 Коленхіма. (Центральна жилка).



Рис. 3.29 Черешок (біля основи черешка).



Рис. 3.30 Черешок. Провідні пучки.

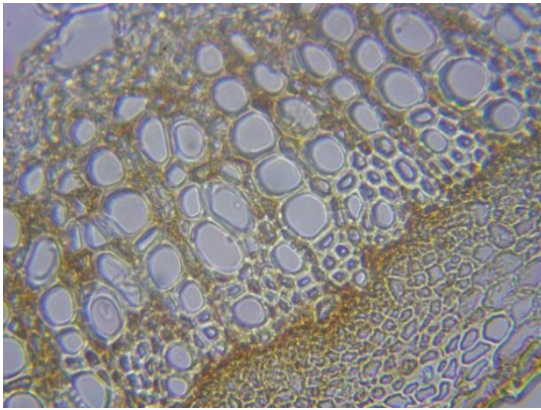


Рис. 3.31 Черешок. Провідний пучок

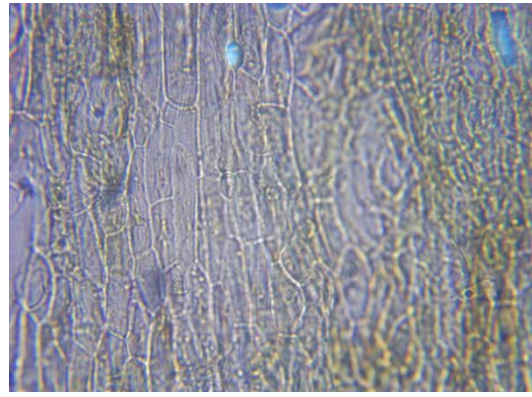


Рис.3.32 Черешок. Епідерма.

Черешок. Зі стебла в черешок входить 5 провідних пучків. В середній частині три провідні пучки зливаються, утворюючи крупний центральний провідний пучок. В бокових горбиках по 1 провідному пучку (рис. 3.30). По краях горбиків розташовано до 7 шарів кутової коленхіми (рис. 3.31). Вздовж центральної борозенки зустрічаються прості, багатоклітинні, гострокінцеві волоски та залозисті волоски.

Клітини епідерми черешка паренхімно-прозенхімні (рис. 3.32). Продихи зустрічаються рідко. Залозисті волоски більш рідкі в порівнянні з простими, але також спостерігаються.

3.3.3 Результати дослідження морфолого-анатомічної будови листя *S. pratensis*

Верхня епідерма представлена паренхімними багатокутними прямостінними клітинами з рівномірно потовщеними оболонками. Кутикула повздовжньо-зморшкувата (рис. 3.33, 3.34). Клітини нижньої епідерми слабозвивистостінні (рис. 3.35). Продиховий апарат діацитного типу (рис. 3.36). З нижнього боку листка продихів більше (рис. 3.35). Клітини вздовж краю листової пластини прозенхімні, витягнуті (рис. 3.33). Ефіроолійні залозки численні з нижнього боку (рис. 3.37). Будова залозок характерна для видів родини *Lamiaceae* (рис. 3.38). Прості волоски містять до 8 клітин, деякі

зі спалими стінками. Оболонки клітин потовщені. Вздовж жилки багато простих двоклітинних волосків з загостреною верхівкою. На зубцях листової пластини спостерігаються прості (до 5 клітин) волоски, злегка загнуті (рис. 3.39). Залозисті волоски двох видів. Перший вид, що має двоклітинну головку на одноклітинній ніжці, зустрічається частіше. Другий вид залозистих волосків має з одноклітинну головку на двоклітинній ніжці (рис. 3.43; 3.44).

Поперечний зріз листової пластини. Листкова пластинка дорзивентрального типу. Палісадна паренхіма дворядна. Клітини вузькі, розташовані щільно. Губчастий мезофіл – клітини розташовані достатньо щільно, міжклітинників небагато (рис. 3.41).

Центральна жилка – по центру два пучки. Ксилема промениста, добре виражена. Флоема обернена до нижньої поверхні. З боку флоєми ділянками розташовуються 6-7 шарів склеренхіми. З боку ксилеми суцільна ділянка склеренхіми (3-4 шари). Під епідермою спостерігається трьохшарова коленхіматозна паренхіма. Клітини основної паренхіми великі, неправильної форми, багатокутні (рис. 3.40, 3.42).

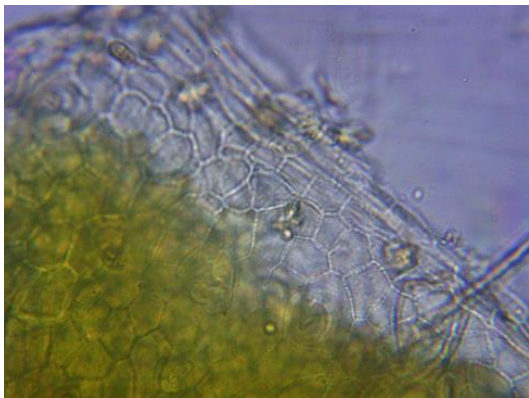


Рис. 3.33 Верхня епідерма молодого листка.

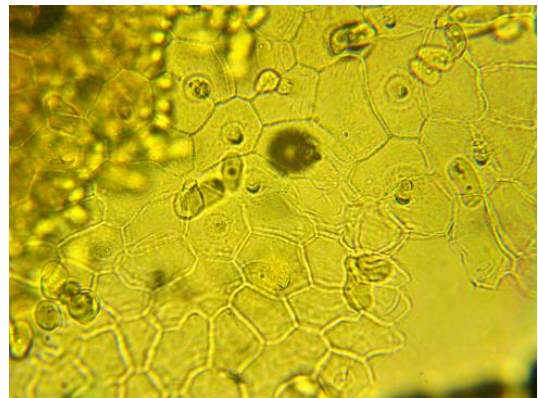


Рис. 3.34 Верхня епідерма.



Рис. 3.35 Нижня епідерма.

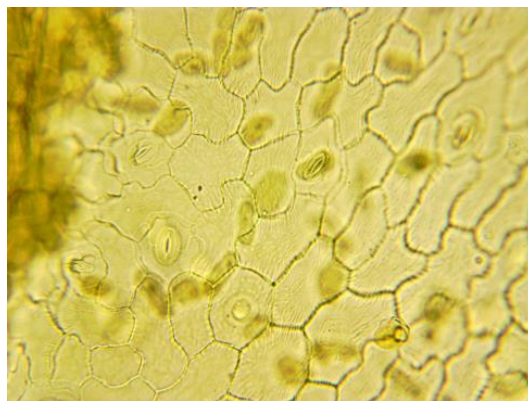


Рис. 3.36 Продиховий апарат.

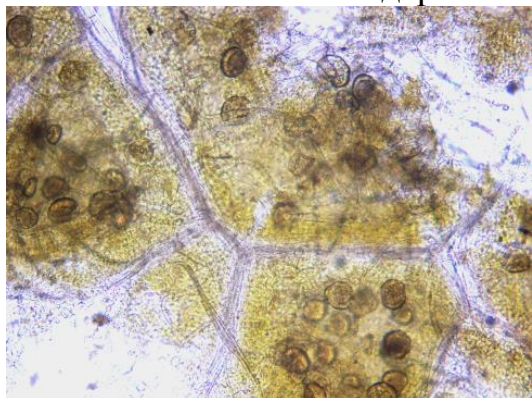


Рис. 3.37 Залозки. Молодий лист.

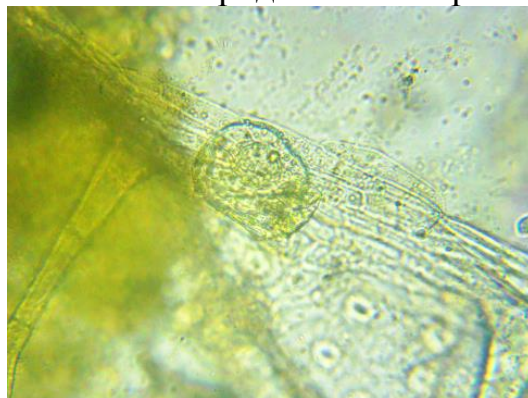


Рис. 3.38 Залозка.



Рис. 3.39 Епідерма нижньої центральної жилки.

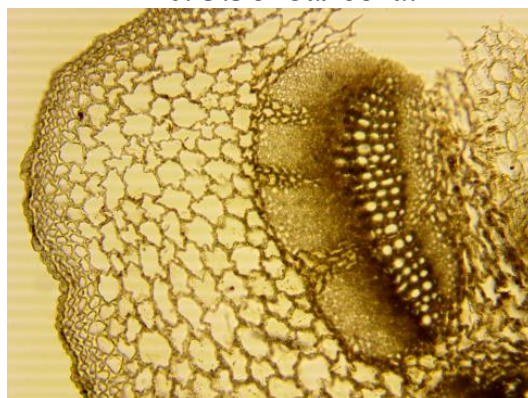


Рис. 3.40 Поперечний зріз. Центральна жилка.



Рис. 3.41 Поперечний зріз листкової пластини.



Рис. 3.42 Поперечний зріз. Центральна жилка.

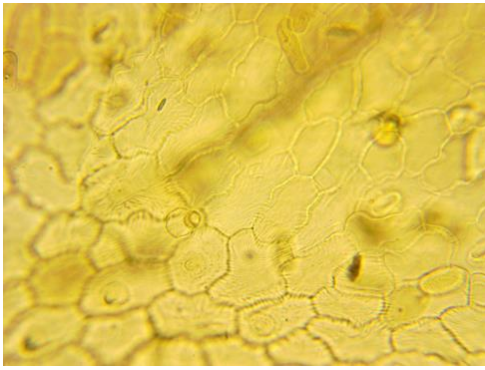


Рис. 3.43 Залозистий волосок.



Рис. 3.44 Залозистий волосок.



Рис. 3.45 Край листової пластини

Черешок в середній частині округло-овальної форми з двома горбиками з боків (ребрами) (рис. 3.48, 3.49). У горбиках добре розвинена коленхіма (до 10 шарів) (рис. 3.48, 3.49, 3.52). Під епідермою трьохшарова хлорофілоносна коленхіматозна паренхіма. По центру два провідних пучки, з боків від центральних пучків два дуже дрібних пучка, в горбиках ще по одному провідному пучку (рис. 3.49). Клітини епідерми черешка в центральній борозенці більш паренхімні, прямокутні (рис. 3.47). Клітини бічної поверхні прозенхімні. Волоски прості, в центральній частині залозисті (рис. 3.46).



Рис. 3.46 Епідерма черешка. Бокова частина.

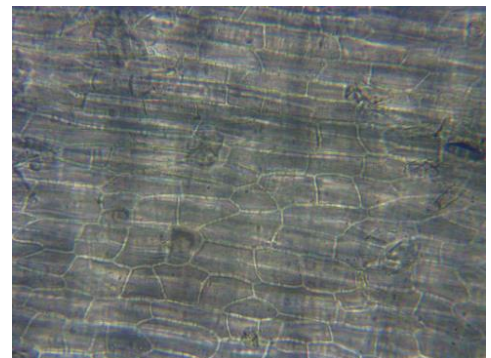


Рис. 3.47 Епідерма черешка.

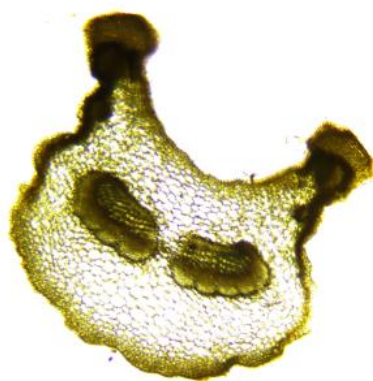


Рис. 3.48 Черешок молодого листка. Поперечний зріз.

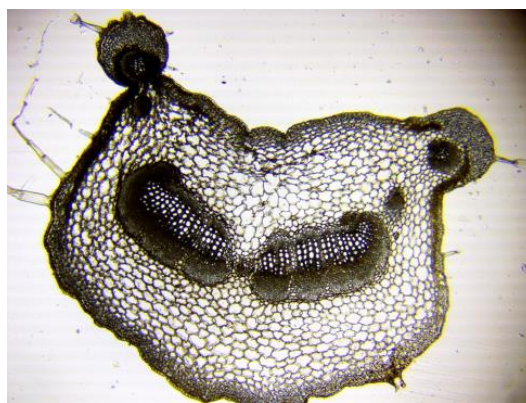


Рис. 3.49 Черешок. Поперечний зріз.

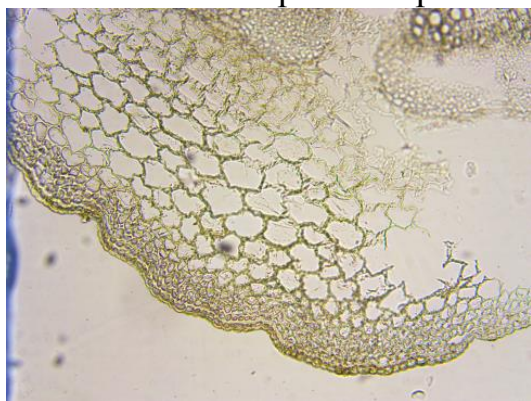


Рис. 3.50 Черешок. Поперечний зріз. Коленхіма.

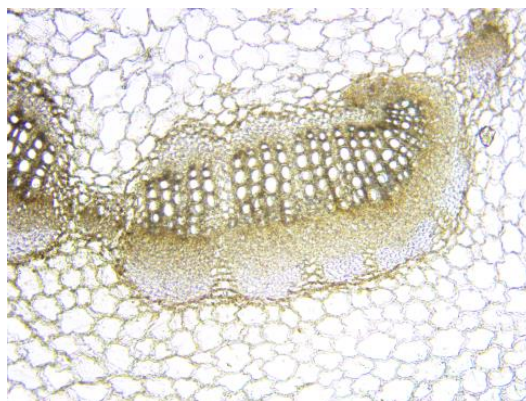


Рис. 3.51 Черешок. Поперечний зріз



Рис. 3.52 Поперечний зріз черешка. Коленхіма.

3.3.4 Визначення спільних та діагностичних ознак досліджуваних видів шавлії

За результатами мікроскопічних досліджень листя *S. verticillata*, *S. pratensis* та *S. grandiflora* визначена сукупність ознак, які можна вважати загальними для цих видів: дорзивентральний тип мезофілу листкової пластинки, діацитний тип продихового апарату, тип і будова ефіроолійних

залозок, залозистих волосків; наявність простих багатоклітинних волосків зі спалими оболонками клітин, термінальна клітина може бути пряма, загострена або з зігнутою верхівкою.

Діагностичними ознаками окремих видів можуть бути ступінь опушення трихомами, розташування і кількість ефіроолійних залозок, форма черешка, розміщення і кількість провідних пучків, форма центральної жилки на поперечному зрізі.

Порівняльний аналіз мікроскопічних ознак листя *S. officinalis* та листя *S. verticillata* виявив відмінності у будові простих волосків цих видів.

Листя *S. officinalis* мають багатоклітинні прості волоски з короткими базальними товстостінними (2-4) клітинами. Термінальна клітина волосків видовжена, із тонкими оболонками, частіше із зігнутою верхівкою.

S. verticillata має багатоклітинні (4-6 клітин) волоски з рівномірно потовщеними стінками. Базальна клітина має потовщені стінки та більш широку основу. Стінки волосків спадаються. Термінальна клітина може бути пряма, загострена або із зігнутою верхівкою. Кутикула волосків часто бородавчаста.

3.4 Хімічний аналіз листя *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*

3.4.1 Мікроелементний склад листя *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*

Дослідження макро- та мікроелементного складу листя досліджуваних видів шавлії проводили атомно-емісійним спектрографічним методом (розділ 2, п. 5).

Результати аналізу наведені в табл. 3.1.

Таблиця 3.1

**Результати елементного аналізу листя *S. officinalis*, *S. grandiflora*,
S. pratensis та *S. verticillata***

Елемент	Вміст елементу, мг/100г			
	<i>S.officinalis</i>	<i>S.grandiflora</i>	<i>S.pratensis</i>	<i>S. verticillata</i>
Fe	65,7 ± 2,23	78 ± 2,92	70 ± 2,5	100 ± 4,2
Si	330 ± 15,52	1040 ± 42,72	1110 ± 45,5	880 ± 34
P	145 ± 6,25	220 ± 9,51	180 ± 8	220 ± 9,2
Al	32,8 ± 1,22	130 ± 5,47	110 ± 4,5	55,8 ± 1,79
Mn	4,7 ± 0,22	7,8 ± 0,29	2,6 ± 0,12	9,5 ± 0,275
Mg	290 ± 13,75	390 ± 18,5	415 ± 18,75	560 ± 22,5
Pb	<0,03	0,13 ± 0,005	0,2 ± 0,008	0,22 ± 0,008
Ni	0,04 ± 0,001	0,07 ± 0,002	0,14 ± 0,006	0,07 ± 0,002
Mo	0,04 ± 0,001	0,1 ± 0,004	0,14 ± 0,005	0,22 ± 0,007
Ca	730 ± 36,51	1300 ± 55	1250 ± 52,5	1175 ± 48,75
Cu	0,43 ± 0,02	0,65 ± 0,02	0,83 ± 0,03	1,1 ± 0,04
Zn	14,6 ± 0,63	28,6 ± 0,93	34,7 ± 1,53	47,0 ± 1,35
Na	290 ± 13,5	117 ± 4,85	140 ± 6	1175 ± 45,72
K	2050 ± 98,55	3250 ± 152,5	4170 ± 195,5	2940 ± 132
Sr	2,9 ± 0,09	6,5 ± 0,25	4,8 ± 0,14	5,1 ± 0,018

Примітка. Вміст Co < 0,03; Cd < 0,01; As < 0,01; Hg < 0,01.

У всіх досліджуваних зразках листя *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata* визначено вміст макро- та мікроелементів. Отримані дані свідчать про значний вміст у листі всіх досліджуваних видів таких макро- та мікроелементів як: калій (2050 – 3250 мг/100 г), кальцій (730 – 1300 мг/100 г), натрій (117 – 1175 мг/100 г), силіцій (330 – 1110 мг/100 г), магній (290 – 560 мг/100 г) та фосфор (145 – 220 мг/100 г). Загальний вміст макро- та мікроелементів найбільший у листі *S. pratensis* та становить 7488,41 мг/100 г. Такі елементи, як арсен, кадмій, кобальт та меркурій, були поза межами можливостей виявлення цим методом, що свідчить про екологічну чистоту сировини та можливість її використання для одержання

лікарських засобів.

Отримані дані свідчать про однаковий склад макро- та мікроелементів у листі досліджуваних видів шавлії, який відрізняється тільки кількісним вмістом їх у кожному з видів. У всіх досліджуваних об'єктах найбільший вміст характерний для таких елементів як: силіцій, фосфор, магній, кальцій, натрій та калій. Вміст токсичних елементів, знаходиться у межах гранично припустимих концентрацій для сировини та харчових продуктів. Силіцій є одним з компонентів колагену, бере участь у формуванні хрящової тканини. Велика кількість кремнію міститься у волоссі та шкірі. Фосфор відіграє важливу роль в процесі мінералізації кісток, входить до складу аденозинтрифосфорної кислоти. Магній нормалізує роботу нервової системи, бере участь в синтезі ферментів та білків. Кальцій є основним мінеральним компонентом кісткової тканини, відповідає за виникнення нервового збудження, активує ряд ферментів, є важливим компонентом системи згортання крові. Натрій необхідний для підтримування водно-сольового балансу на клітинному рівні, нормалізації функції нирок та нервово-мязової діяльності. Калій – важливий компонент, який необхідний для функціонування процесу сечовиділення, нормальної роботи нирок, мозку, серця, ендокринних залоз та печінки, підтримки осмотичного тиску, бере участь у синтезі білків [2, 41, 144].

Високий вміст цих мікроелементів у листі усіх досліджуваних видів роду *Salvia* флори України вказує на позитивний вплив на сумарний фармакологічний ефект субстанцій на їх основі. Отримані данні елементного складу об'єктів дослідження використані при розробці методів контролю якості на ЛРС нефармакопейних видів роду *Salvia*.

3.4.2 Амінокислотний склад листя *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*

Попереднє хроматографічне вивчення якісного складу амінокислот у

листі представників роду шавлія флори України проводили методом висхідної ТШХ (розділ 2, п. 6). В листі досліджуваних видів цим методом було виявлено 4 амінокислоти: глутамінова та аспарагінова кислоти, пролін та лейцин.

Аналіз амінокислотного складу сировини досліджуваних видів проводили методом ВЕРХ на хроматографі фірми Agilent Technologies (модель 1100) (розділ 2, п. 7). Результати проведеного дослідження амінокислотного складу листя досліджуваних видів наведені у табл. 3.2.

Таблиця 3.2

**Амінокислотний склад листя *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis*
та *S. verticillata***

№ з/п	Амінокислота	Кількісний вміст, %			
		<i>S. offic.</i>	<i>S. grand.</i>	<i>S. prat</i>	<i>S. vert.</i>
1	Аспарагінова к-та	0,11 ± 0,004	0,14 ± 0,005	0,19 ± 0,009	0,16 ± 0,007
2	Треонін	0,04 ± 0,001	0,06 ± 0,002	0,09 ± 0,004	0,07 ± 0,003
3	Серин	0,03 ± 0,001	0,05 ± 0,002	0,07 ± 0,003	0,06 ± 0,002
4	Глутамінова к-та	0,11 ± 0,004	0,18 ± 0,003	0,21 ± 0,01	0,17 ± 0,008
5	Пролін	0,07 ± 0,003	0,05 ± 0,002	0,16 ± 0,007	0,06 ± 0,002
6	Гліцин	0,05 ± 0,002	0,08 ± 0,003	0,12 ± 0,005	0
7	Аланін	0,05 ± 0,002	0,09 ± 0,003	0,11 ± 0,005	0,09 ± 0,004
8	Валін	0,05 ± 0,001	0,08 ± 0,004	0,12 ± 0,006	0,21 ± 0,09
9	Ізолейцин	0,04 ± 0,001	0,07 ± 0,003	0,08 ± 0,003	0,06 ± 0,002
10	Лейцин	0,07 ± 0,002	0,12 ± 0,005	0,14 ± 0,006	0,11 ± 0,004
11	Тирозин	0,03 ± 0,001	0,05 ± 0,002	0,07 ± 0,003	0,07 ± 0,003
12	Фенілаланін	0,05 ± 0,001	0,08 ± 0,003	0,14 ± 0,004	0,08 ± 0,003
13	Гістидин	0,02 ± 0,001	0,03 ± 0,001	0,05 ± 0,002	0,04 ± 0,001
14	Лізін	0,05 ± 0,002	0,07 ± 0,003	0,09 ± 0,004	0,07 ± 0,003
15	Аргінін	0,04 ± 0,001	0,07 ± 0,002	0,09 ± 0,003	0,07 ± 0,002

У листі *S. officinalis*, *S. grandiflora* та *S. pratensis* було ідентифіковано 15 амінокислот (домінуючими є глутамінова та аспарагінова кислота, пролін і лейцин), у листі *S. verticillata* було ідентифіковано 14 амінокислот

(домінуючими є глутамінова кислота, аспарагінова кислота, валін та лейцин). У листі *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* і *S. verticillata* серед ідентифікованих амінокислот 6 є незамінними (треонін, валін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін та лізин), їх вміст становить 37,03, 39,34, 38,15 та 45,45 % від загальної кількості амінокислот відповідно.

3.4.3 Хроматографічний аналіз фенольних сполук листя *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*

Вивчення якісного складу та кількісного вмісту фенольних сполук проводили методом ВЕРХ на хроматографі Shimadzu LC20 Prominence (розділ 2, п. 8)[119, 123, 125, 130].

Результати дослідження фенольних сполук в листі досліджуваних видів роду *Salvia* наведені у табл. 3.3.

На рис. 3.53 – 3.56 наведено хроматограми, що одержані при визначенні фенольних сполук об'єктів дослідження.

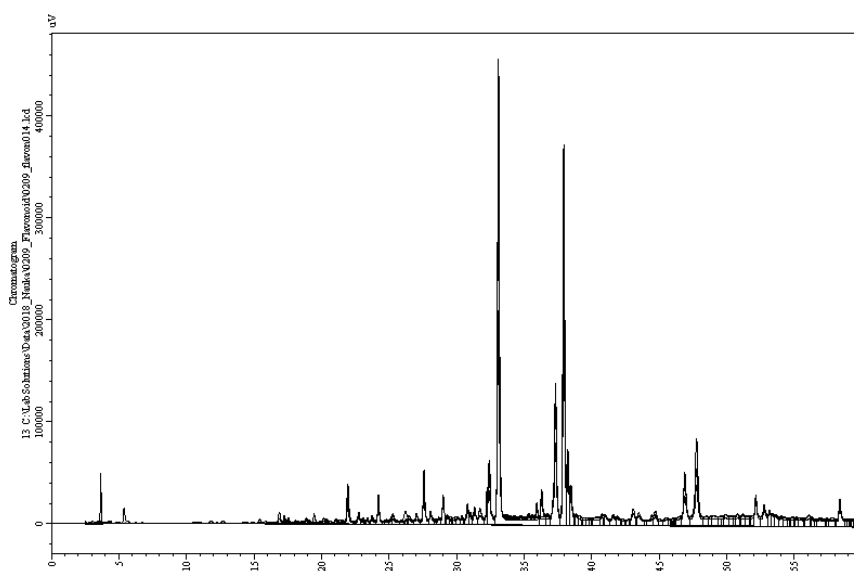


Рис. 3.53 Хроматограма, що одержана при визначенні фенольних сполук листя *S. officinalis*

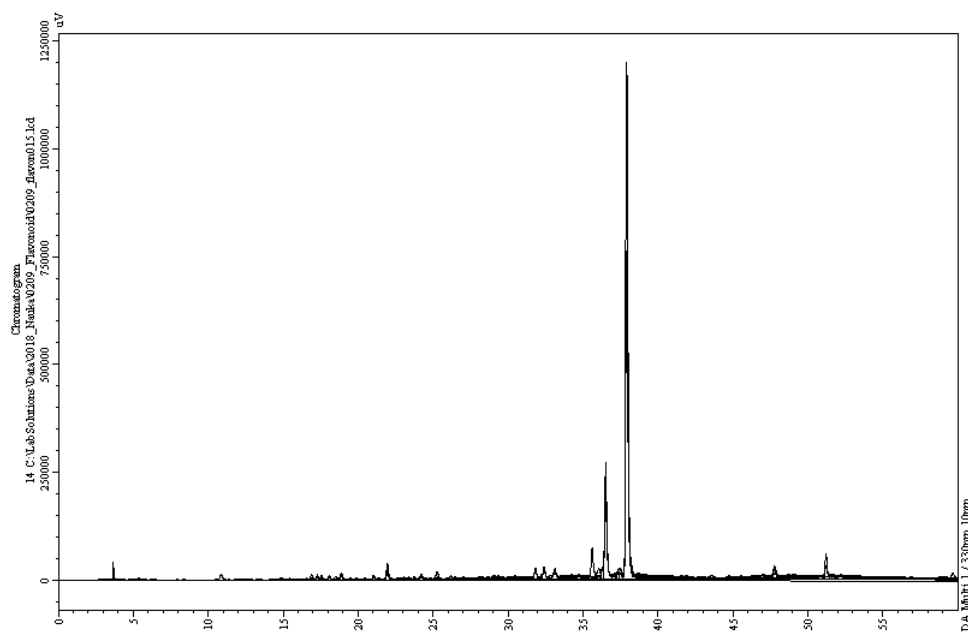


Рис. 3.54 Хроматограма, що одержана при визначенні фенольних сполук листя *S. grandiflora*

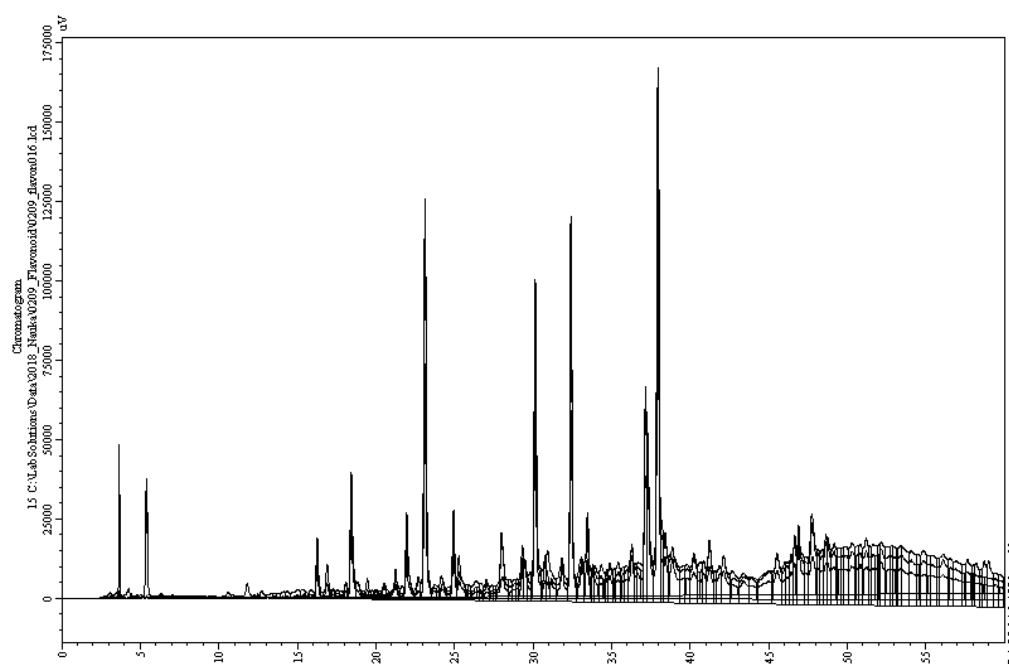


Рис. 3.55 Хроматограма, що одержана при визначенні фенольних сполук листя *S. pratensis*

Методом ВЕРХ було ідентифіковано та визначено кількісний вміст 17 речовин фенольної природи у листі представників роду *Salvia*. З них 6 речовин флавоноїдної природи, 3 гідроксикоричні кислоти та 8 сальвіанолових кислот.

У листі *S. officinalis* ідентифіковано 13 речовин фенольної природи, з них 5 флавоноїдів, 3 гідроксикоричні кислоти та 5 сальвіанолових кислот. Домінуючими були рутин, апігенін-7-глюкозид, лютеолін, лютеолін-7-глюкозид, розмаринова, літоспермова та сальвіанолова В кислоти. У листі *S. grandiflora* ідентифіковано 9 речовин фенольної природи, з них 5 флавоноїдів, 3 гідроксикоричні кислоти та 1 сальвіанолова кислота. Домінуючими були апігенін-7-глюкозид та розмаринова кислота. У листі *S. pratensis* ідентифіковано 14 речовин фенольної природи, з них 5 флавоноїдів, 3 гідроксикоричні кислоти та 6 сальвіанолових кислот. Домінуючими були апігенін-7-глюкозид, розмаринова, сальвіанолова F та сальвіанолова C кислоти. У листі *S. verticillata* ідентифіковано 12 речовин фенольної природи, з них 5 флавоноїдів, 3 гідроксикоричні кислоти та 4 сальвіанолові кислоти. Домінуючими були апігенін-7-глюкозид, апігенін, лютеолін-7-глюкозид, розмаринова та сальвіанолова D кислоти.

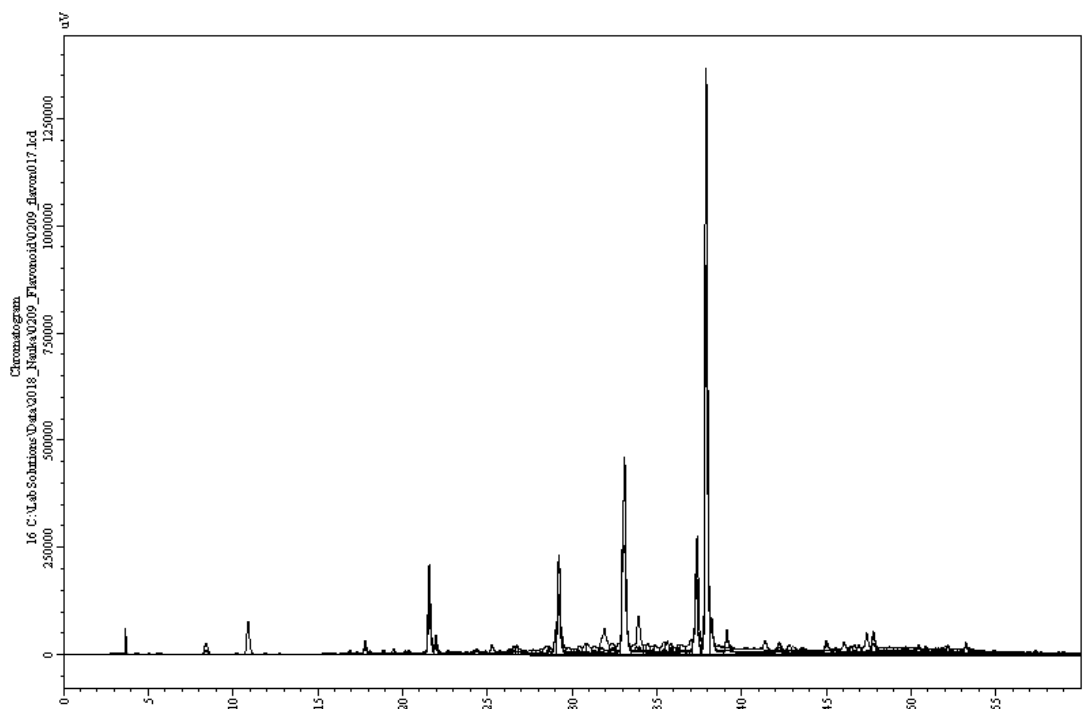


Рис. 3.56 Хроматограма, що одержана при визначенні фенольних сполук листя *S. verticillata*

Таблиця 3.3

Фенольний склад листя *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*

№ з/п	Речовина	Кількісний вміст, мг/г			
		<i>S. officinalis</i>	<i>S. grandiflora</i>	<i>S. pratensis</i>	<i>S. verticillata</i>
Флавоноїди					
1	Рутин	1,1 ± 0,05	0	0	0
2	Апігенін-7-глюкозид	0,41 ± 0,02	0,38 ± 0,01	0,36 ± 0,01	3,77 ± 0,18
3	Лютеолін	0,41 ± 0,02	0,11 ± 0,006	0,09 ± 0,004	0,01 ± 0,004
4	Апігенін	0	0,19 ± 0,008	0,07 ± 0,003	0,45 ± 0,02
5	Лютеолін-7-глюкозид	2,75 ± 0,12	0,2 ± 0,008	0,06 ± 0,002	3,24 ± 0,15
6	Катехін	0,22 ± 0,01	0,18 ± 0,007	0,1 ± 0,004	0,23 ± 0,01
Загальний вміст флавоноїдів		4,89 ± 0,24	1,06 ± 0,05	0,68 ± 0,03	7,7 ± 0,35
Гідроксикоричні кислоти					
7	Хлорогенова кислота	0,04 ± 0,002	0,04 ± 0,002	0,01 ± 0,0004	0,01 ± 0,0004
8	Кофейна кислота	0,20 ± 0,01	0,19 ± 0,009	0,15 ± 0,008	0,24 ± 0,01
9	Розмаринова кислота	1,02 ± 0,004	4,26 ± 0,2	0,56 ± 0,02	0,46 ± 0,02
Загальний вміст гідроксикоричних кислот		1,26 ± 0,05	4,49 ± 0,21	0,72 ± 0,03	0,71 ± 0,03
Похідні кофейної кислоти					
10	Літоспермова кислота	0,34 ± 0,01	0	0,17 ± 0,009	0
11	Сальвіанолова кислота G	0	0	0	0,1 ± 0,004
12	Сальвіанолова кислота F	0,03 ± 0,001	0	0,39 ± 0,01	0
13	Сальвіанолова кислота E	0	0	0,09 ± 0,004	0,003
14	Сальвіанолова кислота D	0	0	0	0,77 ± 0,03
15	Сальвіанолова кислота C	0,03	0	0,3 ± 0,01	0
16	Сальвіанолова кислота B	0,31 ± 0,01	0,14 ± 0,006	0	0,23 ± 0,01
17	Сальвіанолова кислота A	0,06 ± 0,002	0	0,03 ± 0,001	0
Загальний вміст сальвіанолових кислот		0,77 ± 0,03	0,14 ± 0,0007	0,97 ± 0,04	1,09 ± 0,05
Загальний вміст фенольних сполук		6,92 ± 0,33	5,69 ± 0,25	2,37 ± 0,11	9,50 ± 0,42

Загальний вміст флавоноїдів найбільший у листі *S. verticillata* та становить $7,7 \pm 0,35$ мг/г, що в 1,57 рази більше, ніж у фармакопейному виді *S. officinalis* ($4,89 \pm 0,24$ мг/г). Це вказує на доцільність використання листя *S. verticillata* як джерела БАР флавоноїдної природи. Загальний вміст

гідроксикоричних кислот найбільший в листі *S. grandiflora* та становить $4,49 \pm 0,21$ мг/г, що в 3,57 рази більше, ніж у фармакопейному виді *S. officinalis* ($1,26 \pm 0,05$ мг/г). Це вказує на доцільність використання листя *S. grandiflora* як джерела гідроксикоричних кислот, зокрема розмаринової кислоти. Загальний вміст сальвіанолових кислот найбільший в листі *S. verticillata* ($1,09 \pm 0,05$ мг/г) та *Salvia pratensis* ($0,97 \pm 0,04$ мг/г), що в 1,41 рази та 1,25 раз відповідно більше, ніж у фармакопейному виді *S. officinalis* ($0,77 \pm 0,03$ мг/г). Найбільший вміст суми всіх виявлених сполук фенольної природи характерний для листя *S. verticillata* та становить $9,50 \pm 0,42$ мг/г, що в 1,37 рази більше, ніж у фармакопейному виді *S. officinalis* ($6,92 \pm 0,33$ мг/г).

3.4.4 Визначення вмісту фенольних сполук у листі *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*

Кількісне визначення фенольних сполук у листі представників роду шавлія проводили також спектрофотометричним методом. Вміст суми похідних гідроксикоричних кислот визначали в перерахунку на розмаринову кислоту, вміст суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін, вміст суми фенольних сполук в перерахунку на галову кислоту. Для статистичної достовірності досліди проводили не менше п'яти разів (розділ 2, п. 9)[127, 128].

Гідроксикоричні кислоти. Гідроксикоричні кислоти вивчали методом двовимірної ПХ (розділ 2, п. 8). У листі представників роду Шавлія флори України виявлено: 3 похідні гідроксикоричної кислоти – кофейну, розмаринову та хлорогенову.

Кількісне визначення похідних гідроксикоричної кислоти проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на розмаринову кислоту (розділ 2, п. 9). Статистично оброблені результати кількісного визначення похідних гідроксикоричної кислоти наведені в табл. 3.4.

Флавоноїди. Для ідентифікації флавоноїдів у листі представників

роду Шавлія флори України використовували метод ТШХ (розділ 2, п. 8). На хроматограмі випробуваного розчину у центральній частині хроматограми проявляється зона з жовтою або оранжевою флуоресценцією на рівні зони стандарту лютеолін-7-О-глюкозиду і ще не менше 3 речовин флавоноїдної природи. В результаті хроматографічного аналізу було встановлено присутність 6 флавоноїдів у листі досліджуваних видів роду шавлія – апігенін, лютеолін, кверцетин, 3-метоксилüteолін, лютеолін-7-О-глюкозид і кверцетин-3-О-арабінозид.

Таблиця 3.4

**Кількісний вміст фенольних сполук листя досліджуваних видів
роду *Salvia* флори України**

Група БАР та використаний метод	Кількісний вміст, % в сухій сировині			
	<i>S.officinalis</i>	<i>S.grandiflora</i>	<i>S. pratensis</i>	<i>S.verticillata</i>
Похідні гідроксикоричних кислот				
Спектрофотометричний метод у перерахунку на розмаринову кислоту	$0,76 \pm 0,04$	$2,29 \pm 0,06$	$0,45 \pm 0,03$	$0,26 \pm 0,02$
Флавоноїди				
Спектрофотометричний метод у перерахунку на лютеолін	$1,11 \pm 0,03$	$0,75 \pm 0,04$	$0,82 \pm 0,02$	$1,78 \pm 0,05$
Сума фенольних сполук				
Спектрофотометричний метод у перерахунку на галову кислоту	$2,11 \pm 0,05$	$1,97 \pm 0,03$	$1,23 \pm 0,05$	$3,21 \pm 0,02$

Кількісне визначення флавоноїдів проводили спектрофотометричним методом в перерахунку на лютеолін після додавання реактиву, який містить 25.0 г/л кислоти борної Р, 20.0 кислоти щавлевої Р у кислоті мурашиній безводній Р, за довжини хвилі 410 нм (розділ 2, п. 9). Статистично оброблені результати кількісного визначення флавоноїдів наведені в таблиці 3.4.

Визначення вмісту суми фенольних сполук проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на галову кислоту за

довжини хвилі 270 нм (розділ 2, п. 9). Результати спектрофотометричного визначення кількісного вмісту сполук фенольної природи представлені в табл. 3.4.

За результатами спектрофотометричного вивчення вмісту фенольних сполук у листі нефармакопейних видів роду *Salvia* флори України встановлено, що найбільший вміст похідних гідроксикоричних кислот характерний для листа *S. grandiflora*, найбільший вміст сполук флавоноїдної природи та найбільший загальний вміст фенольних сполук характерний для листа *S. verticillata*, що відповідає результатам отриманим в результаті ВЕРХ аналізу цих об'єктів.

3.4.5 Хроматографічний аналіз вмісту сапонінів у листі *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*

Визначення якісного складу та кількісного вмісту сапонінів у листі представників роду *Salvia* проводили методом ВЕРХ (розділ 2, п. 10) [67, 131].

Результати дослідження сапонінів листа досліджуваних видів роду *Salvia* наведені у табл. 3.5. На рис. 3.57 – 3.60 наведено хроматограми, що одержані при визначенні сапонінів в об'єктів дослідження.

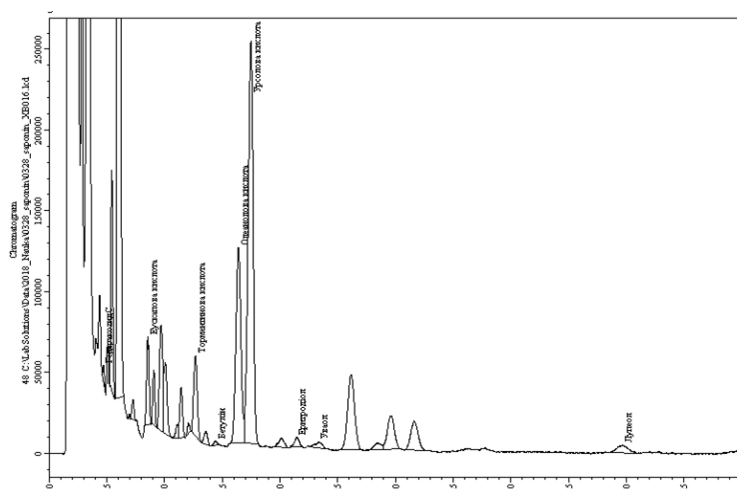


Рис. 3.57 Хроматограма, що одержана при визначенні сапонінів листа *S. officinalis*

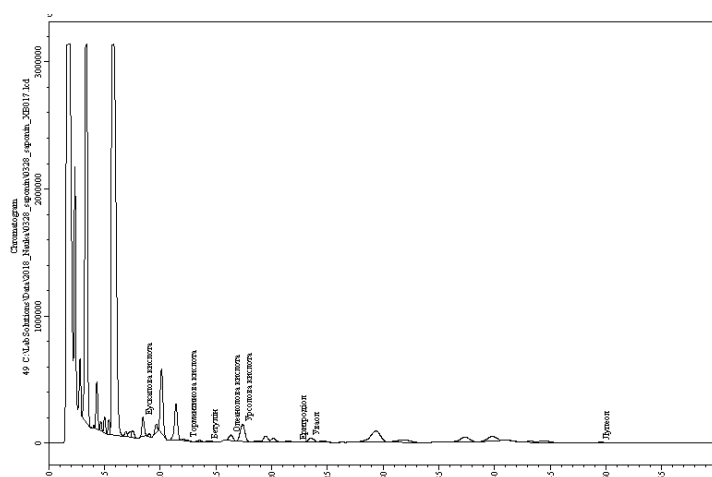


Рис. 3.58 Хроматограма, що одержана при визначенні сапонінів листя *S. grandiflora*

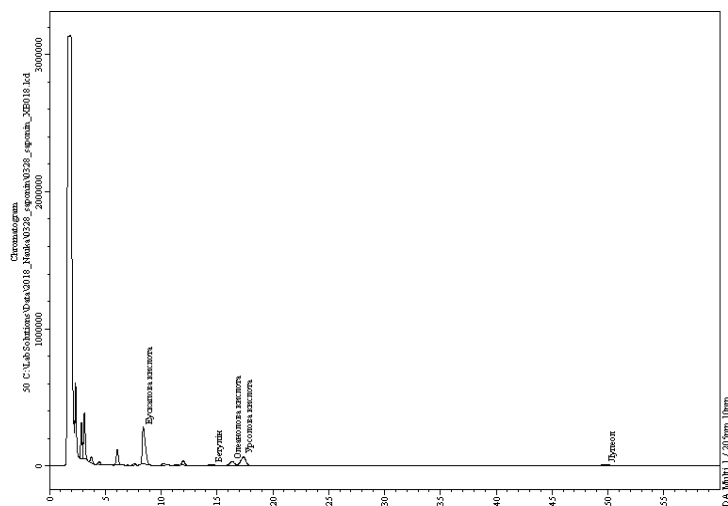


Рис. 3.59 Хроматограма, що одержана при визначенні сапонінів листя *S. pratensis*

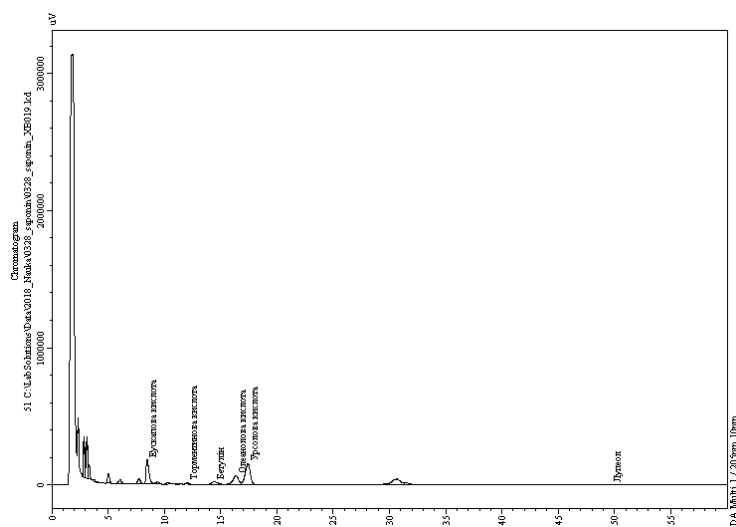


Рис. 3.60 Хроматограма, що одержана при визначенні сапонінів листя *S. verticillata*

Таблиця 3.5.

Вміст сапонінів у листі *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*

№ з/п	Речовина	Кількісний вміст мг/100г сировини			
		<i>S. officinalis</i>	<i>S. grandiflora</i>	<i>S. pratensis</i>	<i>S. verticillata</i>
1	Урсолова кислота	774,27 ± 35,71	425,44 ± 18,27	212,77 ± 9,63	526,44 ± 25,32
2	Еускапова кислота	83,49 ± 3,85	248,36 ± 10,41	546,72 ± 25,33	331,24 ± 15,56
3	Торментинова кислота	108,57 ± 4,78	6,61 ± 0,23	0	16,57 ± 0,72
4	Уваол	14,82 ± 0,57	110,42 ± 3,52	0	0
5	Олеанолова кислота	246,41 ± 10,27	80,33 ± 3,01	59,46 ± 1,97	157,89 ± 6,89
6	Еритродіол	11,43 ± 0,48	2,82 ± 0,13	0	0
7	Бетулін	26,12 ± 1,12	110,41 ± 4,52	157,98 ± 6,89	405,58 ± 19,28
8	Лупеол	80,81 ± 3,35	80,69 ± 3,03	252,08 ± 11,61	71,03 ± 3,55
Загальний вміст		1345,92 ± 64,29	1065,08 ± 43,25	1229,01 ± 51,45	1508,75 ± 65,44

У результаті проведеного аналізу було ідентифіковано та визначено кількісний вміст 8 сапонінів у листі представників роду *Salvia*.

В результаті проведеного аналізу вмісту сапонінів у листі *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata* було ідентифіковано та визначено кількісний вміст 8 сапонінів. Зокрема у листі *S. officinalis* ідентифіковано 8 сапонінів (домінуючими є урсолова та олеанолова кислоти), у листі *S. grandiflora* ідентифіковано 8 сапонінів (домінуючими є урсолова та еускапова кислоти), у листі *S. pratensis* ідентифіковано 5 сапонінів (домінуючими є лупеол, урсолова та еускапова кислоти), у листі *S. verticillata* ідентифіковано 6 сапонінів (домінуючими є бетулін, урсолова та еускапова кислоти). Загальний вміст сапонінів найбільший в листі *S. verticillata* та становить 1508,75 ± 65,44 мг/100 г.

3.4.6 Хроматографічний аналіз летких фракцій листя *S. officinalis*, листя, стебел та квіток *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*

Визначення якісного складу та кількісного вмісту летких речовин в об'єктах дослідження проводили методом ГХ-МС за допомогою хроматографа Agilent 7890В (розділ 2, п. 10). Результати дослідження летких речовин в листі досліджуваних видів роду *Salvia* наведені у табл. 3.6 [134].

На рис. 3.61 – 3.70 наведено хроматограми, що одержані при визначенні летких сполук об'єктів дослідження.

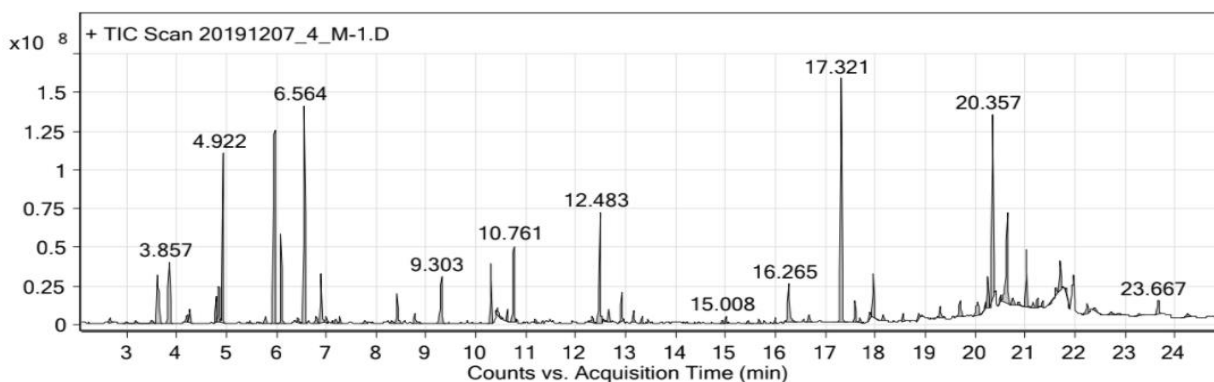


Рис. 3.61 Хроматограма, що одержана при визначенні летких сполук листя *Salvia officinalis*

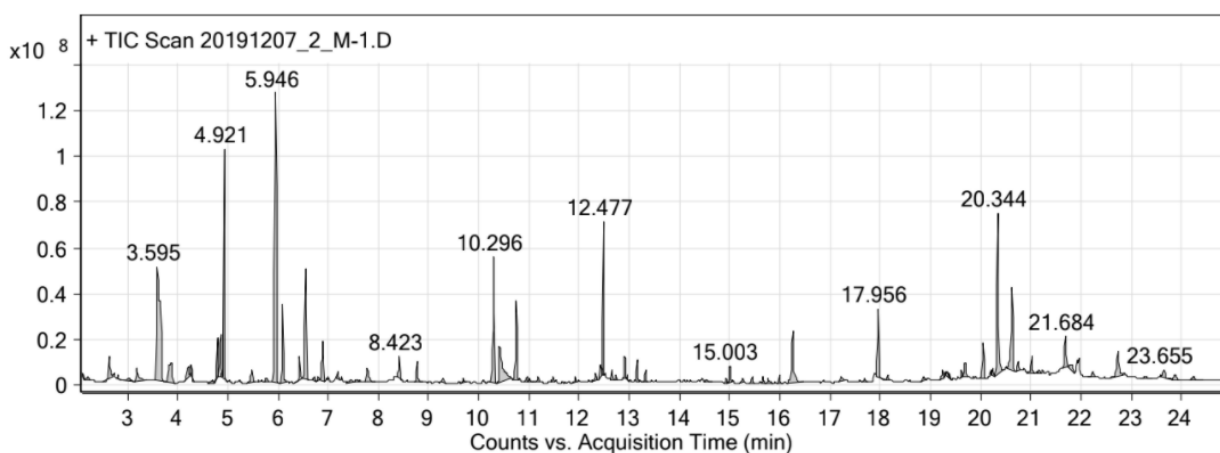


Рис. 3.62 Хроматограма, що одержана при визначенні летких сполук листя *Salvia grandiflora*

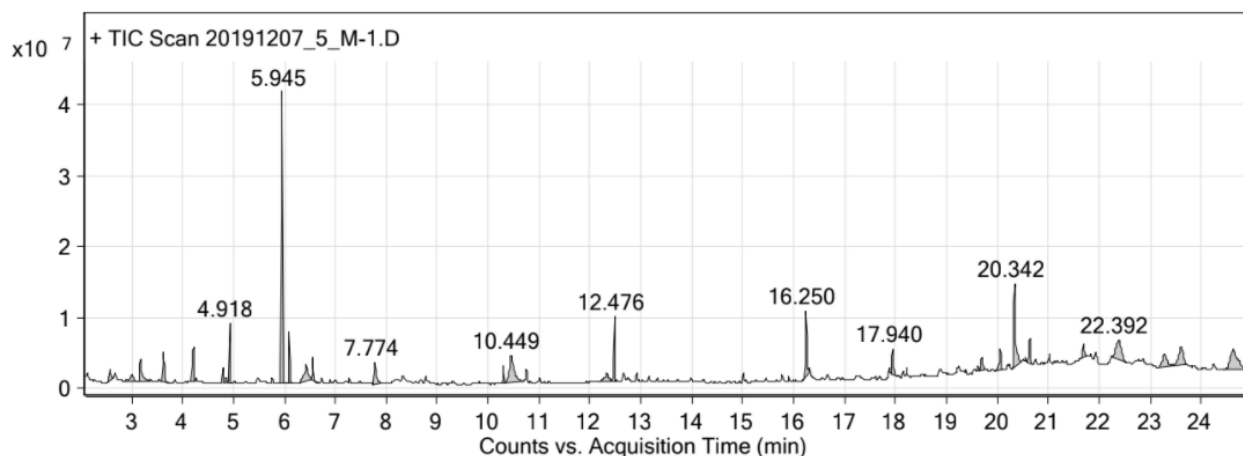


Рис. 3.63 Хроматограма, що одержана при визначенні летких сполук стебел *Salvia grandiflora*

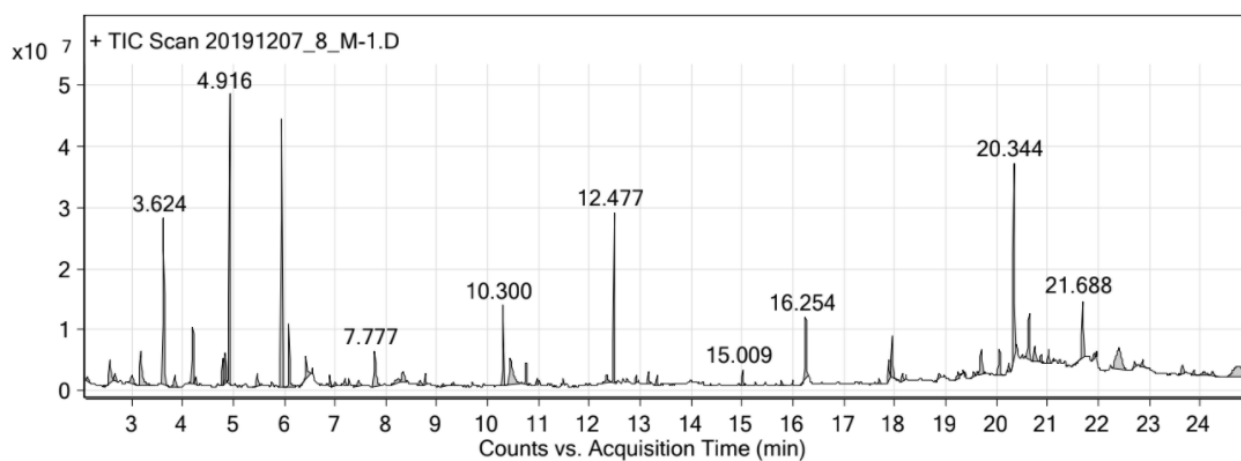


Рис. 3.64 Хроматограма, що одержана при визначенні летких сполук квіток *Salvia grandiflora*

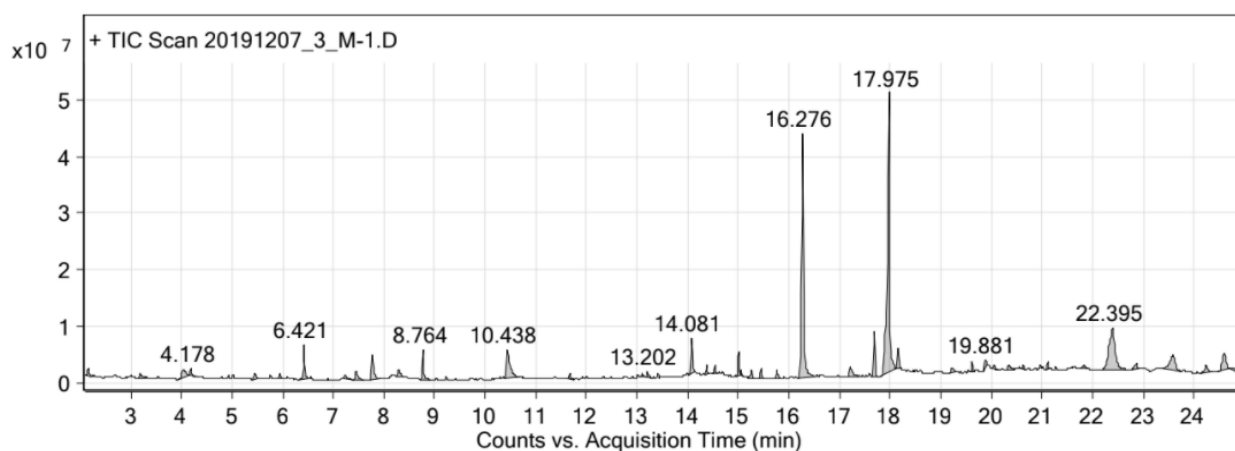


Рис. 3.65 Хроматограма, що одержана при визначенні летких сполук листя *Salvia pratensis*

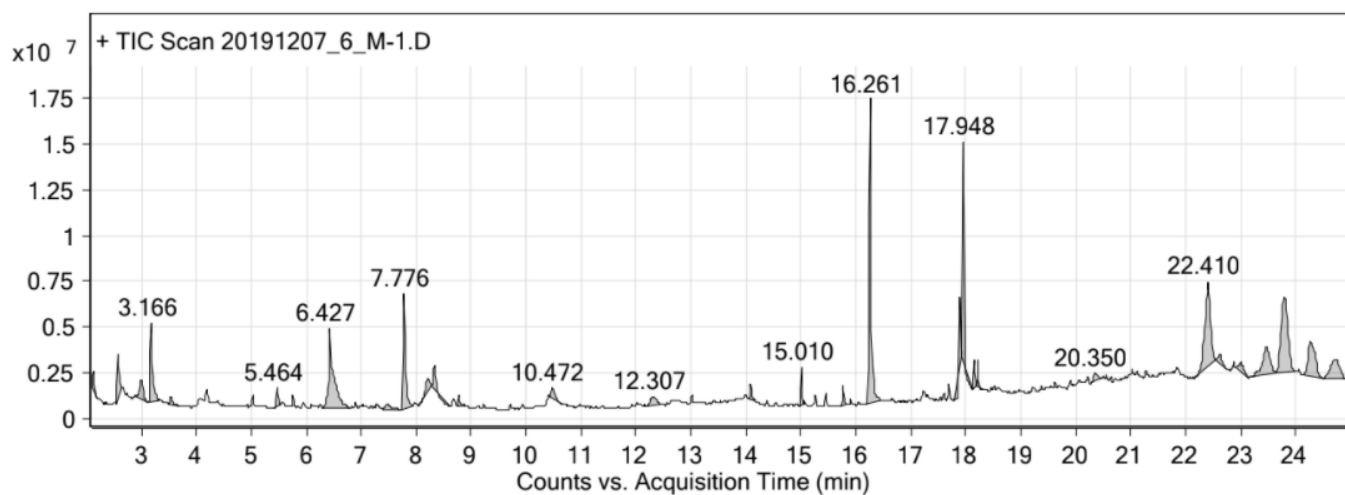


Рис. 3.66 Хроматограма, що одержана при визначенні летких сполук стебел *Salvia pratensis*

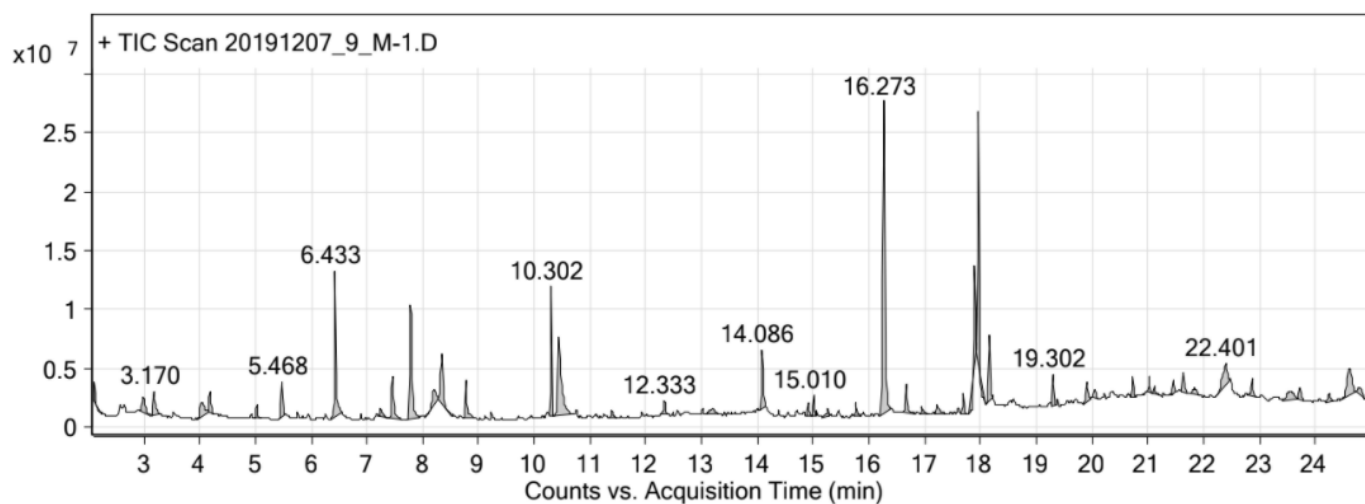


Рис. 3.67 Хроматограма, що одержана при визначенні летких сполук квіток *Salvia pratensis*

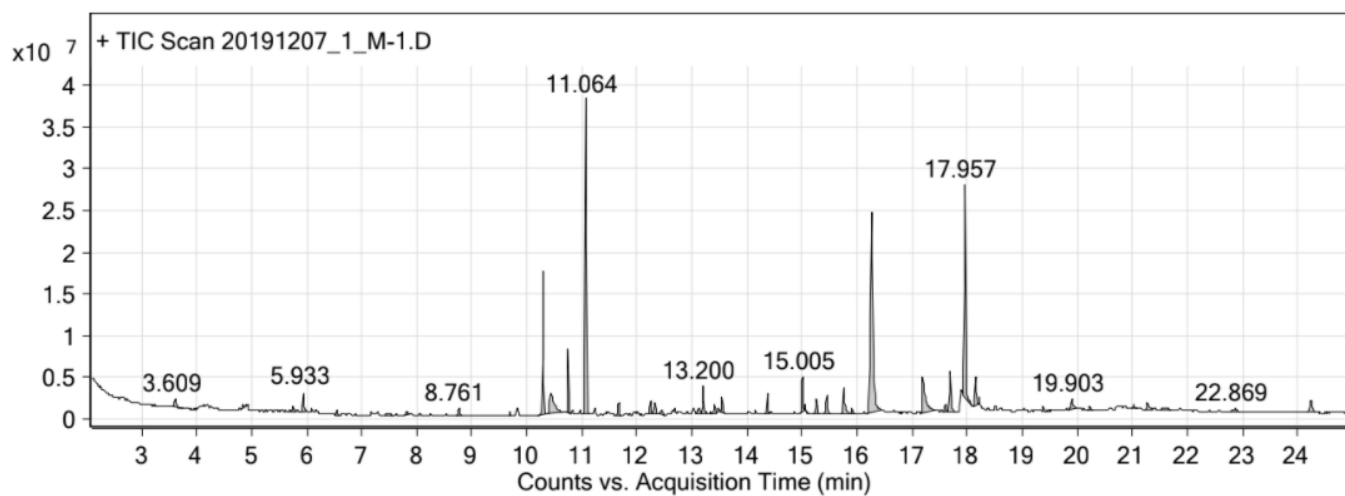


Рис. 3.68 Хроматограма, що одержана при визначенні летких сполук листя *Salvia verticillata*

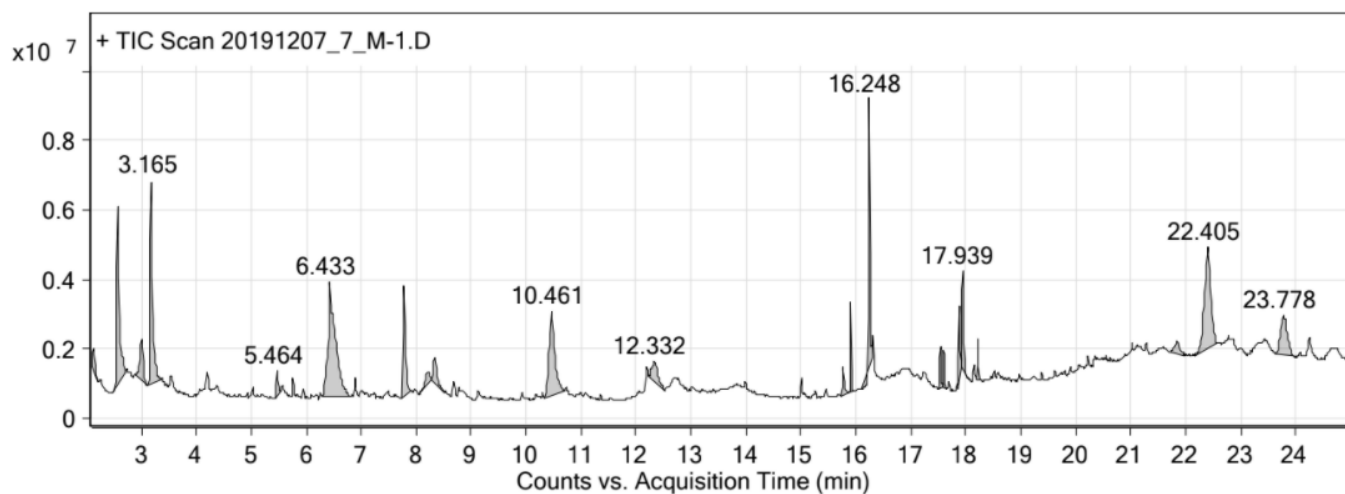


Рис. 3.69 Хроматограма, що одержана при визначенні летких сполук стебел *Salvia verticillata*

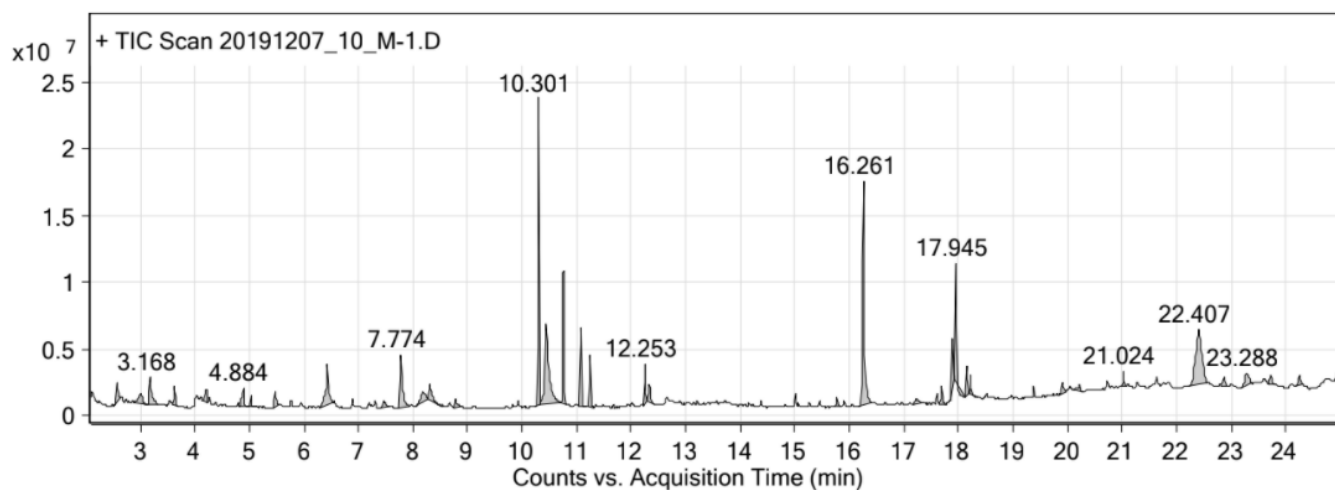


Рис. 3.70 Хроматограма, що одержана при визначенні летких сполук квіток *Salvia verticillata*

Таблиця 3.6

Вміст летких сполук у листі *S. officinalis*, листі, стеблах та квітках *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*

	Назва речовини	Кількісний вміст, мг/100 г									
		<i>Salvia officinalis</i>	<i>Salvia grandiflora</i>			<i>Salvia pratensis</i>			<i>Salvia verticillata</i>		
		Листя	Листя	Стебло	Квітки	Листя	Стебло	Квітки	Листя	Стебло	Квітки
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Диепоксидбутан	0	1,47	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Гідроксиацетон-	0	0	0	0	0	1,16	0,96	0	0	0
3	Метилацетат	0	0	0	1	0	0	0	0	1,06	0
4	Етиленгліколь, моноацетат	0	0	0	0	1,69	0	0	0	0	0
5	Гліцерин	0	2,24	0	0	3,47	0	3,13	0	0	0
6	Гліцеральдегід	0	0	2,34	6,48	0	4,56	0	0	10,59	2,43
7	Циклопропан, 1,1-диметил-2-	0	9,23	0	0	0	0	0	0	0	0
8	Циклогексан, 1,3-диметил-2-метиле-, цис-	3,78	0	0	1,29	0	0	0	0	0	0
9	Метил-3-нітропропіонат	2,05	3,79	2,24	2,98	0	2,55	2,77	0	2,76	1,90
10	Дигідроксиацетон	4,54	12,01	6,23	12,41	0	8,24	4,30	0	12,00	4,46
11	Трициклен	3,99	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	α -пінен	0	0	0	0	0	0	0	1,84	0	0
13	Циклофенхен	61,72	140,26	6,37	38,38	0	0	0	0	0	1,88
14	Камфен	79,72	25,77	0	3,21	0	0	0	0	0	0
15	2,4-дигідрокси-2,5-диметил-3(2H)-фуран-3-он	0	0	0	0	1,46	0	2,12	0	0	1,52
16	Сабінен	6,37	0	6,78	0	0	0	0	0	0	0
17	Нопінен (β -пінен)	0	8,75	0	10,98	0	0	0	0	0	0
18	β -мірцен	7,31	3,94	0	1,17	0	0	0	0	0	0

Продовж. табл. 3.6

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
19	4-карен	0	1,97	0	0	0	0	0	0	0	0,94
20	О-цимен	14,68	0	0	3,68	0	0	0	0	0	0
21	М-цимен	0	16,86	0	0	0	0	0	0	0	0
22	D-лімонен	26,78	21,88	0	4,52	0	0	0	0	0	0
23	Псевдолімонен	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2,24
24	1,8-цинеол	116,64	104,05	6,45	35,67	0	0	0	0	0	0
25	Левулінова кислота	0	0	0	0	0	0	1,49	0	0	0
26	Тимин	0	0	0	2,32	0	0	0	0	0	0
27	D-Аланін	2,04	7,31	0	0	0	0	4,01	0	0,92	1,47
28	Ундекан	0	0	0	0	0	0	0	0,78	0	0
28	Ліналоол	5,42	3,21	0	0	0	0	0	0	0	0
30	α -туйон	171,44	186,36	36,39	40,90	0	0	0	1,69	0	0
31	β -туйон	57,93	42,26	6,09	9,67	0	0	0	0	0	0
32	Піранон	3,04	9,85	6,84	5,20	7,12	15,54	14,41	0	0	6,91
33	Еритритол	0	0	0	0	0	0	0	0	17,38	0
34	Камфора	189,82	76,31	2,68	0	0	0	0	0,61	0	0
35	3-пінанон	0	2,01	0	0	0	0	0	0	0	0
36	5-Каранол	5,66	0	0	0	0	0	0	0	0	0
38	Борнеол	40,24	23,83	0	1,79	0	0	0	0	0	0
39	Терпінен-4-ол	3,58	0,00	0	0,89	0	0	0	0	0	0
40	α -терпінеол	3,04	1,96	0	1,12	0	0	0	0	0	0
41	1,2,2,3-тетраметилциклопент-Зенол	5,06	0	0	0	0	0	0	0	0	0
42	Бензофуран	0	0	0	1,87	2,92	0	5,75	0,67	0	1,07
43	Гліцерол моноацетат	2,92	11,78	4,80	8,44	7,58	9,67	15,32	5,12	7,00	5,12
44	Фенілоцтова кислота	0	0	0	0	0	0	0	0,86	0	0
45	2-бутоксietанол	0	0	0	0	0	1,93	3,30	0	1,17	2,55
46	6-оксогептанова кислота	0	0	0	0	2,87	0	0	0	1,84	0
47	3-гiдрокси-2,3-дигiдромальтол	0	0	0	3,25	0	1,59	7,23	0	0	2,69
48	Борнілацетат	23,67	11,28	0	0	0	0	0	0	0	0
49	Ацетофенон, 2-гiдрокси-5-метил	9,36	10,61	0	0	6,13	0	5,28	1,00	0	1,25
50	4-гiдрокси-3-метилацетофенон	0	0	0	1,87	0	1,06	0	0	0	0

Продовж. табл. 3.6

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
51	Цитрамалова кислота	0	0	0	0,93	0	0	0	0	0	0
52	6-вініл-3,3-диметил-6-гідрокси-5-формілметил-біцикло[3.2.0]-гептан-2он	38,02	1,77	0	0	0	0	0	0	0	0
53	Чавібетол	0	0	0	0,93	0	0	0	0	0	0
54	α -копасн	0	2,04	0	0	0	0	0	0	0	0
55	Каріофілен	43,43	65,96	2,39	13,79	0	0	12,09	14,63	0	25,51
56	Саліцилальдегід гідразону	0	0	0	0	0	0	0	8,07	0	0
57	6-метилсаліцальдегід	0	0	0	0	13,27	0	0	0	0	0
58	Ацетофлороглюцин	7,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0
59	1,5,9,9-тетраметил- 1,4,7,циклоундекатрієн	0	42,61	0	4,33	0	0	0	6,29	0	11,40
60	Гумулен	62,58	0	0	0	0	0	0	0	0	0
61	γ -Муролен	0	2,31	0	0	0	0	0	0	0	0
62	Етанон, 1-(3-гідрокси-4-метоксифеніл)	0	1,58	0	0	0	0	0	0	0	0
63	(-)- β -копасн	0	0	0	0	0	0	0	33,42	0	0
64	Метил арахідонат	0	2,90	0	0	0	0	0	0	0	0
65	Леден	2,79	0	0	0	0	0	0	0	0	0
67	9,10-дигідроксистеарат	0	0	0	0	0	0	0,87	0	0	0
68	Δ -кардінен	0	1,58	0	0	0	0	0	0	0	0
70	Дигідроактинолід	0	0	0	0	0	0	0	1,54	0	0
71	Ацетовератрон	0	2,06	0	0	0	0	0	0	0	0
72	Спатуленол	0	0	0	0	0	0	0	1,65	0	2,61
73	3,5-дигідрокси-6-гідроксиметилооксан-2-он	0	0	0	0	0	2,02	0	0	0	0
74	Каріофілен оксид	4,57	3,17	0	0	0	0	0	1,59	0	1,64
75	1-гептатріакотанол	0	0	0	0	0	0	1,33	0	0	0
76	3-гідрокси-5,6-епокси- β -іонон	0	0	0	0	0	0	0	0,60	0	0
77	Глобулол/Ледол/Вірідіфлорол	87,35	4,44	7,57	23,47	0	0	0	0	0	0
78	α -гур'юнен	0	60,80	0	0	0	0	0	0	0	0
79	Гумулен	2,34	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	(1R,3E,7E,11R)-1,5,5,8-тетраметил-12-оксабіцикло[9.1.0]додека-3,7-дієн	9,13	4,06	0	0	0	0	0	0	0	0
81	Табанон	0	1,75	0	0	0	0	0	0	0	0

Продовж. табл. 3.6

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
82	Дієпіцедрен-1-оксид	17,35	9,67	0	1,44	0	0	0	0	0	0
83	11,11-диметил-4,8-диметиленбіцикло-[7.2. 0]ундекан-3-ол	0	1,43	0	0	0	0	0	0	0	0
84	транс-лонгіпінокарвеол	4,34	7,99	0	0	0	0	0	0	0	0
85	Ізоаромадендрен епоксид	6,22	0	0	1,70	0	0	0	0	0	0
88	(1R,7S,E)-7-ізопропіл-4,10-диметиленециклодек-5-енол	0	5,06	0	0	0	0	0	2,91	0	0
89	Лоліолід	0	0	0	0	0	0	0	2,66	0	0
90	Фітол ацетат	3,76	11,28	0	2,28	6,04	1,69	1,54	6,63	0	0
91	Фітон	0	0	0	0	0	0	0	0,68	0	0
92	Фталева кислота	0	0	0	0	0	0	0	1,99	0	0
93	4,4,8-триметилтрицикло[6.3.1.0 (1,5)]додекан е-2,9-діол	3,34	2,30	0	0	0	0	0	0	0	0
94	Метилловий естер гексадеканової кислоти	0	0	0	0	0	0	0	0,70	2,12	0
95	Біформен	3,59	3,33	0	0	0	0	0	0	0	0
96	Пальмітолеїнова кислота	35,04	37,86	10,30	13,30	62,67	22,65	40,73	41,51	7,58	21,14
97	транс-2- Пальмітолеїнова кислота	5,34	0	0	0	0	0	3,13	0	0	0
98	13-епіманоол	169,76	0	0	0	0	0	0	0	0	0
99	8,11-октадекадієнової кислоти метилловий естер	0	0	0	0	0	0	0	0	1,14	0
100	6,9,12-октадекатрієнової кислоти метилловий естер	0	0	0	0	0	0	0	0	1,18	0
101	Гліцерил ліноленат	0	0	0	0	0	0	0	0,83	0	0
102	Фітол	3,05	1,91	0	0	8,12	0	1,51	4,75	0	1,27
103	9,12-октадекадієнова кислота (Z,Z)	3,53	0	0	2,42	0	1,66	3,74	0	1,59	3,40
104	9,12,15- октадекатрієнова кислота, (Z,Z,Z)	29,38	32,34	0	6,79	96,30	12,19	16,39	26,27	3,33	7,24
105	Аскорбілстеарат	0	0	0	1,17	0	1,41	0	0	0	0
106	Стеаринова кислота	3,99	2,35	0	0	4,16	0,00	6,36	3,11	0	2,00
107	Себацінової кислоти дибутиловий естер	0	0	0	0	0	1,13	0	0	1,04	1,11
108	Олеїнова кислота	5,09	0	4,63	0	0	0	0	0	0	0
109	Колавенол	7,84	1,55	0	0	0	0	2,77	0	0	0
110	1,4-диметил-8-ізопропіліденетрицикло[5. 3.0.0(4,10)]декан	12,36	1,88	0	0	0	0	0	0	0	0
111	Дегідроаб'єтан	0	1,64	0	0	0	0	0	0	0	0
112	Подокарпа,8,11,13-тетраєн-3он, 14-ізопропіл-1,13-диметокси	13,53	8,00	0	5,27	0	0	0	0	0	0
113	12-О-метилкарнозол	14,26	17,98	3,96	5,67	0	0	0	0	0	0
114	11-децилдоказан	0	0	0	0	0	0	1,61	0	0	0

Продовж. табл. 3.6

1	2		3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
115	Ізокарнозол		19,62	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
116	Галантамін		181,55	89,06	16,26	30,93	0	0	0	0	0	0	
117	Еквілін деріват		0	0	0	0	1,80	1,20	0	0	0	0	
118	1,2,3,4-тетрагідро-1,4-етаноантрацен,9,10-диметокси-		3,56	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
119	1-(4-метил[1,1':4',1'']терфенил-4''yl)етанон		0	52,18	0	0	0	0	0	0	0	0	
120	Атровенетрін		0	3,69	0	0	0	0	0	0	0	0	
121	Сквален		0	0	0	2,91	0	0	0	0	0	0	
122	Октадекан, 3-етил-5-(2-етилбутил)-		0	0	0	0	0	0	3,81	0,59	0	0	
126	1,2-дипальмітин		0	0	0	0	1,52	0	0	0	0	0	
128	Етилізохолат		0	0	0	0	1,88	0	0	3,71	0	0	
129	Дибенз[а,с]циклогексан, 2,4,7-триметокси-		4,22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
130	Пізіферол		19,53	15,38	2,70	9,70	0	0	0	0	0	0	
131	Дибенз[d,f]циклогептанон, 2,3,9- триметоки-		7,56	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
132	γ- ситостерол		2,20	0	11,92	14,81	36,78	18,51	5,56	0	13,31	18,68	
133	Германікол		0	0	0	0	0	1,45	0	0	0	0	
134	12-О-метилкарнозол		3,16	20,31	0	2,57	0	0	0	0	0	0	
135	Дибенз[а,с]циклогептан, 2,3,7- триметокси-		2,55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
136	6а,14а-метанопіцен, пергідро-1,2,4а,6b,9,9,12а-гексаметил-10-гідрокси-		0	0	0	0	0	20,02	0	0	5,37	0	
137	Сальвігенін		0	0	5,85	0	0	0	0	0	0	2,87	
138	α-амірин		0	0	0	0	0	7,95	0	0	0	0	
140	α-токоферол		0	0	9,57	0	11,39	0	0	0	0	0	
141	9-октилгексакозан		0	0	0	0	0	0	1,58	0	0	0	
142	Супраєн		4,26	3,09	0	0	2,65	0	0	0	0	1,11	
143	2,6,6,9,2',6',6',9'-октаметил-[8,8']бі[трицикло[5.4.0.0(2,9)]ундецил]		0	0	0	0	0	9,97	0	0	0	0	
144	Бетулінальдегід		0	0	0	0	0	7,13	0	0	0	0	
148	3-метоксиергост-8(14)-єн		0	0	16,77	0	0	0	0	0	0	0	
149	Урсоловий альдегід		0	0	0	16,45	0	0	0	0	0	0	
Неідентифіковані речовини			шт	15	19	4	21	8	8	21	9	5	12
			мг/100 г	152,04	86,08	24,86	48,09	29,17	8,73	56,39	22,34	14,29	34,79

В результаті проведеного дослідження було виявлено 243 речовини в об'єктах дослідження, з них ідентифіковано – 149.

У листі *S. officinalis* було виявлено 77 речовини, домінуючими були циклофенхен, камфен, 1,8-цинеол, α -туйон, β -туйон, камфора борнеол, каріофілен, гумулен, вірідифлорол та 13-епіманол.

У листі *S. grandiflora* було виявлено 80 речовин, домінуючими були циклофенхен, 1,8-цинеол, α -туйон, β -туйон, камфора борнеол, каріофілен та вірідифлорол. У стеблі *S. grandiflora* було виявлено 26 речовин, домінуючими були циклофенхен, сабінен, 1,8 – цинеол, α - та β -туйон та піранон. У квітках *S. grandiflora* було виявлено 63 речовини, домінуючими серед них були циклофенхен, β -пінен, 1,8-цинеол, α -туйон, каріофілен та вірідифлорол.

У листі *S. pratensis* було виявлено 28 речовин, домінуючими були піранон та фітол. У стеблі *S. pratensis* було виявлено 30 речовин, домінуючими були піранон та α -амірин. У квітках *S. pratensis* було виявлено 48 речовин, домінуючими були піранон, каріофілен, фітол та колавенол.

У листі *S. verticillata* було виявлено 39 речовин, домінуючими були каріофілен, β -копаєн, лоліолід та фітол. У стеблі *S. verticillata* було виявлено 22 речовини. У квітках *S. verticillata* було виявлено 39 речовин, домінуючими були циклофенхен, псевдолімонен, піранон, каріофілен, спатуленол та фітол.

Домінуючими сполуками серед речовин терпеноїдної природи є: циклофенхен, камфен, 1,8-цинеол, α -туйон, β -туйон, камфора борнеол, каріофілен, гумулен, вірідифлорол, сабінен, піранон, β -пінен, фітол, колавенол, β -копаєн, лоліолід, псевдолімонен та спатуленол. Серед домінуючих речовин 8 були виявлені вперше: циклофенхен, вірідифлорол, сабінен, піранон, фітол, колавенол, лоліолід та псевдолімонен.

Висновки до розділу 3

1. На базі морфологічних та хімічних характеристик 17 видів шавлії, які присутні у флорі України, було проведено хемотаксономічні дослідження та встановлено чотири основні групи видів та створені передумови для цілеспрямованого пошуку біологічно активних речовин серед представників цього роду. Враховуючи поширеність цих видів на території України та перспективи введення їх у культуру, для подальших досліджень було обрано сировину *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*.

2. Проведені макро- та мікроскопічні дослідження листя нефармакопейних видів *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata* дозволили виділити діагностичні ознаки кожного виду, які використані для їх подальшої стандартизації.

3. Методом АЕС досліджено макро- та мікроелементний склад листя *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*. У всіх досліджуваних об'єктах спостерігався найбільший вміст таких елементів як: силіцій, фосфор, магній, кальцій, натрій та калій. Вміст токсичних елементів, знаходиться у межах гранично припустимих концентрацій для сировини.

4. Методом ВЕРХ у листі *S. officinalis*, *S. grandiflora* та *S. pratensis* було ідентифіковано 15 амінокислот (домінуючими є глютамінова та аспарагінова кислота, пролін і лейцин), у листі *S. verticillata* було ідентифіковано 14 амінокислот (домінуючими є глютамінова кислота, аспарагінова кислота, валін та лейцин). У листі *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* і *S. verticillata* серед ідентифікованих амінокислот 6 є незамінними, їх вміст становить 37,03; 39,34; 38,15 та 45,45 % від загальної кількості амінокислот відповідно.

5. Методом ВЕРХ було ідентифіковано та визначено кількісний вміст 17 речовин фенольної природи у листі представників роду *Salvia*, з них 6 речовин флавоноїдної природи, 3 гідроксикоричні кислоти та 8 сальвіанолових кислот. Загальний вміст гідроксикоричних кислот найбільший в листі *S. grandiflora* та становить $4,49 \pm 0,21$ мг/г, що в 3,57 рази більше ніж у фармакопейному виді *S. officinalis* ($1,26 \pm 0,05$ мг/г). Це вказує

на доцільність використання листя *S. grandiflora* як джерела гідроксикоричних кислот, зокрема розмаринової кислоти. Найбільший вміст суми всіх виявлених сполук фенольної природи характерний для листя *S. verticillata* та становить $9,50 \pm 0,42$ мг/г, що в 1,37 рази більше ніж у фармакопейному виді *S. officinalis* ($6,92 \pm 0,33$ мг/г).

6. За результатами спектрофотометричного вивчення вмісту фенольних сполук у листі нефармакопейних видів роду *Salvia* флори України встановлено, що найбільший вміст похідних гідроксикоричних кислот характерний для листя *S. grandiflora*, найбільший вміст сполук флавоноїдної природи та загальний вміст фенольних сполук характерний для листя *S. verticillata*, що відповідає результатам отриманим при ВЕРХ аналізі цих об'єктів.

7. У результаті проведеного аналізу вмісту сапонінів у листі *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata* було ідентифіковано та визначено кількісний вміст 8 сапонінів. Загальний вміст сапонінів найбільший у листі *S. verticillata* та становить $1508,75 \pm 65,44$ мг/100 г.

8. У результаті вивчення сполук терпеноїдної природи листя, квіток та стебл досліджуваних видів виявлено 243 сполуки, з яких ідентифіковано 149. Домінуючими сполуками серед речовин терпеноїдної природи є: циклофенхен, камфен, 1,8-цинеол, α -туйон, β -туйон, камфора борнеол, каріофілен, гумулен, вірідіфлорол, сабінен, піранон, β -пінен, фітол, колавенол, β -копаєн, лоліолід, псевдолімонен та спатуленол. Серед домінуючих речовин 8 були виявлені вперше: циклофенхен, вірідіфлорол, сабінен, піранон, фітол, колавенол, лоліолід та псевдолімонен.

Результати експериментальних досліджень даного розділу відображені в таких публікаціях:

1. Мига М. М., Кошовий О. М., Ільїна Т.В., Бородіна Н.В., Скибіцька М. І. Дослідження фенольних сполук листя нефармакопейних видів роду *Salvia* флори України. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та*

практики. 2019. № 3. С. 291- 297.

2. Мига М. М., Кошовий О. М., Гамуля О. В., Верховодова Ю. В., Киреєв І. В, Комісаренко А. М. Порівняльне фармакогностичне та фармакологічне дослідження листя *Salvia verticillata* та *Salvia officinalis* для встановлення перспективи створення нового лікарського засобу. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13. № 1 (32). С. 61-71.
3. Myha M., Koshovyi O., Gamulya O., Ilina T., Borodina N., Vlasova I. Phytochemical study of *Salvia grandiflora* and *Salvia officinalis* leaves for establishing prospects for use in medical and pharmaceutical practice. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2020. № 1 (23). P. 23-28. (Scopus).
4. Koshovyi O, Raal A, Kovaleva A, Myha M, Ilina T, Borodina N, Komissarenko A. The phytochemical and chemotaxonomic study of *Salvia* spp. growing in Ukraine. *J Appl Biol Biotech*. 2020. № 8 (03). P. 29–36. DOI: 10.7324/JABV.2020.80306 (Scopus).
5. Мига М. М. , Кошовий О. М. Фенольний склад листя шавлії лікарської. *Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій*. 2014. С. 115.
6. Mykhailo M., Koshovyi O., Ilina T., Borodina N., Golembiovaska O. The search for new sources of triterpene saponins among the representatives of the *Salvia* genus in the flora of Ukraine. *Sciences and Practice 2018: the 9th International Pharmaceutical Conference, dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy*. Lithuania, Kaunas, November 9 , 2018. Kaunas. 2018. P. 39.
7. Мига М.М., Кошовий О.М., Скибіцька М. І., Голембіовська О.І. Аналіз мікроелементного складу представників роду *Salvia* флори України. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: Матеріали VII науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Тернопіль, 27 - 28 вересня 2018 р. Тернопіль. 2018.

ТДМУ «Укрмедкнига». С. 30-32.

8. Myha M.M., Koshovyi O.M., Ilna T.V., Borodina N.V. Parameters of the quantitative determination when standardizing *Salvia grandiflora* leaves. *Sciences and Practice 2019: the 10th International Pharmaceutical Conference*. Lithuania, Kaunas, November 15, 2019. Kaunas. 2019. P. 86.
9. Мига М.М., Кошовий О.М., Ільїна Т.В., Бородіна Н.В. Визначення параметрів стандартизації листя *Salvia grandiflora*. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку*: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Харків, 19 вересня 2019 р. Харків. 2019. НФаУ. Т. 1. С. 277-278.
10. Мига М. М., Кошовий О. М., Гамуля О. В., Скибіцька М. І. Мікроскопічний аналіз листя *Salvia grandiflora*. *Planta+. Досягнення та перспективи*: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої пам'яті доктора хімічних наук, професора Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження), м. Київ, 20-21 лютого 2020 р. Київ. 2020. ПАЛИВОДА А. В. С. 256-259.

РОЗДІЛ 4

ФІТОХІМІЧНЕ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСТРАКТІВ ІЗ ЛИСТЯ ПЕРСПЕКТИВНИХ ВИДІВ ШАВЛІЙ ФЛОРИ УКРАЇНИ

Представники роду Шавлія використовуються у традиційній та офіциналній медицині для лікування запальних процесів різної локалізації. Важливу роль у їх фармакологічній активності відіграють біологічно активні речовини фенольної та терпенової природи [3, 64]. Хімічний профіль роду *Salvia* характеризується вмістом терпеноїдів: α - та β -пінену, похідних камфану (камфен, камфора та борнеол), *n*-цимену, 1,8-цинеолу, лімонену; фенольних сполук: кофейної та розмаринової кислоти; флавоноїдів: цинарозиду, космосіїну, гіспідуліну та цирсимаритину [36, 50, 65].

Також важливу роль у фармакологічній активності ЛРС відіграє склад амінокислот, оскільки вони беруть участь у процесах біосинтезу, здатні утворювати комплекси з БАР, впливати на їх розчинність, біодоступність, та сумарний фармакологічний ефект лікарського засобу [93, 95].

Для розробки способу одержання нових лікарських засобів було використано сировину фармакопейного виду – *S. officinalis* листя, а потім вже опрацьована технологія була використана для одержання модифікованих екстрактів із листя *S. grandiflora* та *S. verticillata*.

4.1 Обґрунтування вибору екстрагенту для одержання екстрактів з *S. officinalis* листя

Для вибору оптимального екстрагенту було одержано три сухі екстракти з листя шавлії лікарської: 96 % етанолом, 50 % етанолом та водою. Для одержаних екстрактів проводили фітохімічний та фармакологічний аналіз [148].

Для одержання кожного з екстрактів 50,0 г сухої сировини (листя

шавлії лікарської), подрібненої до розміру часток 2-3 мм, заливали 500 мл екстрагенту (етанолу 96 %, 50 % або водою очищеною), враховуючи коефіцієнт поглинання. Спиртові витяги настоювали при кімнатній температурі протягом доби. Водну екстракцію проводили при нагріванні на водяній бані за температури 80 – 90 °С протягом 1 години та наступним настоюванням протягом доби. Екстракцію сировини проводили 3 рази новими порціями розчинника та об'єднували. В подальшому об'єднані витяги упарювали у вакуум-циркуляційному апараті до сухих екстрактів, які в подальшому і досліджували.

Для встановлення якісного складу екстрактів використовували загальноприйняті методи досліджень: якісні реакції, ПХ та ТШХ. У екстрактах одержаних 96 % та 50 % етанолом визначили фенолкарбонові та гідроксикоричні кислоти, кумарини, флавоноїди, терпеноїди та хлорофіли. У водному екстракті ідентифікували фенолкарбонові та гідроксикоричні кислоти, флавоноїдні глікозиди та поліфеноли [3, 4]. В результаті попереднього вивчення БАР методами ТШХ з достовірними зразками була встановлена присутність таких груп БАР: похідні гідроксикоричної кислоти (кавова, розмаринова та хлорогенова кислоти) і флавоноїдів (рутин, апігенін, лютеолін).

Якісний та кількісний склад фенольних сполук у сухих екстрактах з листя шавлії лікарської проводили методом ВЕРХ) (розділ 2, п. 8). Результати проведеного аналізу наведено в табл. 4.1.

Таблиця 4.1

Фенольний склад екстрактів одержаних з листя шавлії лікарської

№	Речовина	Екстракт, одержаний водою	Екстракт, одержаний 50 % етанолом	Екстракт, одержаний 96 % етанолом
1	Речовина 1	-	$34,38 \pm 1,52$	-
2	Похідна кофейної кислоти	-	$19,70 \pm 0,88$	-
3	Кофейна кислота	$323,15 \pm 15,14$	$56,7 \pm 1,73$	-
4	Речовина 2	$124,15 \pm 5,85$	$29,03 \pm 1,12$	-
5	Речовина 3	$67,25 \pm 2,75$	-	$18,7 \pm 0,73$
6	Речовина 4	$198,8 \pm 8,73$	$137,52 \pm 5,78$	-
7	Речовина 5	$567,12 \pm 25,35$	$428,92 \pm 18,64$	$113,6 \pm 5,67$
8	Лютеолін-7-О- глюкозид	$1042,75 \pm 45,13$	$955,33 \pm 37,67$	$326,6 \pm 12,33$
9	Розмаринова кислота	$323,72 \pm 15,18$	$595,84 \pm 22,97$	$669,0 \pm 27,45$
10	Апігенін-7-О- глікозид	$478,23 \pm 22,91$	$642,52 \pm 25,12$	-
11	Хлорогенова кислота	$21,31 \pm 0,95$	$23,82 \pm 0,97$	$35,73 \pm 1,12$
12	Апігенін	$136,84 \pm 5,83$	$403,59 \pm 15,18$	$176,3 \pm 7,18$
13	Лютеолін	$163,7 \pm 7,17$	$292,02 \pm 11,57$	$187,5 \pm 8,35$
14	Речовина 6	$47,04 \pm 1,34$	-	$52,8 \pm 1,63$
15	3-метоксилютеолін	$80,03 \pm 3,12$	$95,57 \pm 3,77$	$145,8 \pm 6,29$
16	Кверцетин-3-О- арабінозид	$422,54 \pm 18,17$	$543,16 \pm 21,16$	$312,6 \pm 9,67$
17	Кверцетин	$18,7 \pm 0,73$	$55,23 \pm 1,87$	$24,7 \pm 1,12$
18	Речовина 7	-	$78,78 \pm 2,93$	-

У результаті вивчення фенольних сполук сухих екстрактів з листя шавлії лікарської методом ВЕРХ виявлено 11 речовин фенольної природи, з них 3 гідроксикоричні кислоти – кофейна, розмаринова і хлорогенова; 7 флавоноїдів – апігенін, лютеолін, кверцетин, 3-метоксилютеолін, лютеолін-7-

О-глюкозид і кверцетин-3-О-арабінозид, апігенін-7-О-глікозид; 6 речовин ідентифікувати не вдалося. Домінуючими речовинами є розмаринова кислота та лютеолін-7-О-глюкозид.

Кількісне визначення фенольних сполук, похідних гідроксикоричної кислоти, флавоноїдів і хлорофілів проводили спектрофотометричним методом (Розділ 2, п. 7). Результати проведеного аналізу наведені в табл. 4.2.

Таблиця 4.2

Фенольний склад екстрактів, одержаних з листя шавлії лікарської

Група БАР, що визначалась та використаний метод	Кількісний вміст, %		
	Екстрагент вода	Екстрагент 50 % етанол	Екстрагент 96 % етанол
Похідні гідроксикоричної кислоти			
Спектрофотометричний метод в перерахунку на хлорогенову к-ту	$12,57 \pm 0,02$	$8,03 \pm 0,02$	$5,43 \pm 0,03$
Флавоноїди			
Спектрофотометричний метод в перерахунку на лютеолін-7- глюкозид	$4,84 \pm 0,01$	$4,43 \pm 0,03$	$3,74 \pm 0,03$
Фенольні сполуки			
Спектрофотометричний метод в перерахунку на галову кислоту	$23,73 \pm 0,02$	$21,19 \pm 0,03$	$15,37 \pm 0,03$

Найбільший вміст гідроксикоричних кислот ($6,2 \pm 0,05$ %) та суми фенольних сполук ($21,42 \pm 0,02$ %) спостерігався у водному сухому екстракті, тоді як у екстракті з листя шавлії лікарської, який одержаний 96 % етанолом, їх вміст був найнижчий $2,74 \pm 0,03$ % та $11,58 \pm 0,04$ % відповідно.

Найбільший вміст флавоноїдів був у екстракті з листя шавлії лікарської, який одержаний 50 % етанолом, і становив $2,85 \pm 0,03$ %, а найменший у водному – $1,02 \pm 0,01$ %.

Протизапальну активність екстрактів вивчали на щурах на моделі гострого запального набряку (розділ 2, п. 10). Результати проведеного дослідження наведено в табл. 4.3.

Таблиця 4.3

Протизапальна активність екстрактів з листя шавлії лікарської

Препарат	Доза, мг/кг	Середнє значення величини набряку (через 4 години), у ОД.	Антиексудативний ефект, %
Екстракт, одержаний водою *	67	$39,7 \pm 1,98$	88
Екстракт, одержаний водою *	100	$41 \pm 5,86$	81
Екстракт, одержаний 50 % етанолом *	67	$35,9 \pm 1,86$	84
Екстракт, одержаний 50 % етанолом *	100	$41 \pm 6,56$	28
Екстракт, одержаний 96 % етанолом	67	$39,6 \pm 3,4$	5,
Екстракт, одержаний 96 % етанолом	100	$38,7 \pm 2,7$	2,38
Диклофенак натрію	8	$34,6 \pm 2,07$	92
Контроль	0	$47,2 \pm 3,90$	0

Екстракт листя шавлії лікарської, одержаний 50 % етанолом, у дозі

67 мг/кг проявляє виражену протизапальну активність (антиексудативний ефект – 84 %), проте при підвищенні дози до 100 мг/кг активність значно зменшується (антиексудативний ефект – 28 %). Екстракт листя шавлії лікарської, одержаний 96 % етанолом, майже не виявляв антиексудативний ефект. Тоді як, найвищу активність у дозі 67 мг/кг та 100 мг/кг показав сухий екстракт, одержаний водою (антиексудативний ефект – 88 % та 81 % відповідно), що свідчить про виражену протизапальну активність.

Вивчення антибактеріальної активності екстрактів проводили методом дифузії в агар (розділ 2, п. 9)[137]. Результати проведеного дослідження наведено в табл. 4.4.

Таблиця 4.4

Антимікробна активність екстрактів з листя шавлії лікарської

Мікроорганізм	Діаметр зони затримки росту при використанні екстрактів, мм		
	Екстракт, одержаний водою	Екстракт, одержаний 50 % етанолом	Екстракт, одержаний 96 % етанолом
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	17	21	25
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	14	17	26
<i>E. coli</i> ATCC 25922	13	17	14
<i>Proteus vulgaris</i> NCTC 4636	–	–	–
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	–	13	15
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	–	–	–
<i>S. pyogenes</i> ATCC 2432	–	11	14
<i>Candida albicans</i> ATCC 885/653	–	12	–

Усі екстракти з листя шавлії лікарської показали активність по відношенню до музейних штамів *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli*.

Найнижча активність була у водного сухого екстракту (зона затримки росту мікроорганізму на рівні 14-16 мм), а найвища – у сухого екстракту, який одержаний 96 % етанолом (25-26 мм відповідно). Екстракти, які були одержані 50 % та 96 % етанолом, також виявляли активність по відношенню до *Bacillus subtilis* та *Streptococcus pyogenosa*. Водний екстракт не стримував ріст цих мікроорганізмів.

Для сухого екстракту, одержаного 50 % етанолом характерний найбільший вміст флавоноїдів, які згідно з літературними даними можуть відповідати за протизапальну ефективність екстракту, а їх високий вміст може дозволити зменшити дозування і, як наслідок, зменшити навантаження супутніми БАР. Рівень протизапальної активності у мінімальній дозі 67 мг/кг, співставний з протизапальною активністю сухого екстракту, одержаного водою, при цьому спектр та рівень атимікробної активності найбільший для екстрактів, одержаних 50 % та 96 % етанолом.

Отже, враховуючи якісний та кількісний склад головних груп БАР в екстрактах, рівень протизапальної та антибактеріальної ефективності одержаних екстрактів, перспективним екстрагентом для подальших досліджень і одержання нових фітосубстанцій з протизапальною активністю було обрано 50 % етанол.

4.2 Розробка принципової схеми одержання екстрактів із листя *S. officinalis*

Для розробки способу одержання з листя *S. officinalis* найбільш перспективної субстанції було одержано такі екстракти: сухий екстракт з листя *S. officinalis*, одержаний 50 % етанолом методом дробової мацерації (у подальшому Екстракт 1); сухий екстракт із листя *S. officinalis* на основі екстракту 1, який був очищений від амінокислот шляхом пропускання крізь колонку з катіонітом КУ-2 (у подальшому Екстракт 2); сухий екстракт із листя *S. officinalis* на основі екстракту 1, який був модифікований додаванням

амінокислоти L-лізину у трьохкратній еквімолярній кількості по відношенню до суми фенольних сполук (у подальшому Екстракт 3) (рис 4.1).

Для одержання екстрактів 1,0 кг подрібненого шляхом вальцювання до розмірів часток 2,5-3,0 мм сухого листа шавлії лікарської заливали 5 л 50 % розчину етанолу та настоювали при кімнатній температурі протягом 6 годин, екстракцію повторювали тричі з новою порцією екстрагенту. Одержані спиртові витяжки об'єднували. Загальний об'єм склав 12,5 л. Об'єднаний спиртовий витяг розділяли на три частини.

Одну частину упарювали при температурі 85 °С під вакуумом у вакуум-циркуляційному апараті та сушили у розпилювальній сушарці до одержання сухого екстракту. Так було одержано Екстракт 1. Вихід готового продукту становить 18,81 %.



Рис. 4.1. Схема одержання екстрактів із листя шавлії лікарської

Друга частина об'єднаного спиртового витягу піддавалась очищенню від амінокислот шляхом пропускання через катіоніт КУ-2 та подальшим упарюванням і сушінням у розпилювальній сушарці до одержання сухого екстракту. Так було одержано Екстракт 2. Вихід готового продукту становить 17,33 %.

До третьої частини об'єднаного спиртового витягу додавали 26,67 г амінокислоти L-лізин та настоювали 12 годин при кімнатній температурі. Після настоювання екстракт упарювали при температурі 85 °C під вакуумом у вакуум-циркуляційному апараті при розрідженні 690 мм рт. ст. до об'єму водного залишку 0,23 л. Кубовий залишок являв собою густу темно-коричневу рідину, яку сушили у розпилювальній сушарці з температурою теплоносія на вході 160 °C і на виході – 85 °C до сухого екстракту. Вихід готового продукту становить 25,98 %.

Для встановлення можливості створення нового лікарського засобу з протизапальною дією було проведено фітохімічне та фармакологічне дослідження одержаних екстрактів.

4.3 Фітохімічне дослідження екстрактів із листя *S. officinalis*

4.3.1 Дослідження вмісту фенольних сполук

Визначення якісного складу та кількісного вмісту фенольних сполук проводили методом ВЕРХ за допомогою хроматографа Shimadzu LC20 Prominence (розділ 2, п. 8).

Результати вивчення вмісту фенольних сполук наведені в табл. 4.5.

Таблиця 4.5

Фенольні сполуки екстрактів із листя *S. officinalis*

№ з/п	Речовина	Кількісний вміст г/100г екстракту		
		Екстракт 1	Екстракт 2	Екстракт 3
Флавоноїди				
1	Рутин	0,74 ± 0,03	0,81 ± 0,04	0,58 ± 0,02
2	Апігенін-7-О-глюкозид	0,28 ± 0,01	0,29 ± 0,01	0,21 ± 0,01
3	Лютеолін	0,27 ± 0,01	0,29 ± 0,01	0,21 ± 0,01
4	Апігенін	0,32 ± 0,01	0,34 ± 0,01	0,24 ± 0,01
5	Лютеолін-7-О-глюкозид	1,85 ± 0,09	1,99 ± 0,09	1,43 ± 0,06
6	Катехін	0,15 ± 0,007	0,16 ± 0,008	0,12 ± 0,005
Загальний вміст флавоноїдів		3,61 ± 0,15	3,88 ± 0,17	2,79 ± 0,11
Гідроксикоричні кислоти				
7	Хлорогенова кислота	0,03 ± 0,001	0,03 ± 0,001	0,02 ± 0,001
8	Кавова кислота	0,13 ± 0,006	0,14 ± 0,005	0,11 ± 0,005
9	Розмаринова кислота	0,68 ± 0,02	0,74 ± 0,03	0,53 ± 0,02
Загальний вміст гідроксикоричних кислот		0,84 ± 0,02	0,91 ± 0,03	0,66 ± 0,02
Похідні кофейної кислоти				
10	Літоспермова кислота ~	0,23 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,18 ± 0,007
11	Сальвіанолова кислота F	0,02 ± 0,001	0,02 ± 0,001	0,02 ± 0,001
12	Сальвіанолова кислота C	0,02 ± 0,001	0,02 ± 0,001	0,01 ± 0,0004
13	Сальвіанолова кислота B	0,21 ± 0,01	0,23 ± 0,01	0,16 ± 0,007
14	Сальвіанолова кислота A	0,04 ± 0,001	0,05 ± 0,001	0,03 ± 0,001
Загальний вміст сальвіанолових кислот		0,52 ± 0,02	0,57 ± 0,02	0,40 ± 0,01
Загальний вміст фенольних сполук		4,97 ± 0,21	5,36 ± 0,23	3,85 ± 0,16

Методом ВЕРХ було ідентифіковано та визначено кількісний вміст 14 речовин фенольної природи у досліджуваних екстрактах (табл. 4.5), з них 6 флавоноїдів, 3 гідроксикоричні кислоти та 5 сальвіанолових кислот.

Домінуючими сполуками у всіх екстрактах були рутин, апігенін, лютеолін-7-О-глюкозид та розмаринова кислота. В екстракті 1 загальний

вміст флавоноїдів становить $3,61 \pm 0,15 \%$, гідроксикоричних кислот – $0,84 \pm 0,02 \%$, похідних кофейної кислоти – $0,52 \pm 0,02 \%$. Загальний вміст усіх сполук фенольної природи у екстракті 1 становить $4,97 \pm 0,21\%$. В екстракті 2 встановлено загальний вміст флавоноїдів $3,88 \pm 0,17 \%$, гідроксикоричних кислот – $0,91 \pm 0,03 \%$ та похідних сальвіанолових кислот – $0,57 \pm 0,02 \%$. Загальний вміст усіх сполук фенольної природи в екстракті 2 становить $5,36 \pm 0,23 \%$. В екстракті 3 встановлено загальний вміст флавоноїдів $2,79 \pm 0,11 \%$, гідроксикоричних кислот – $0,66 \pm 0,02 \%$ та похідних сальвіанолових кислот – $0,40 \pm 0,01 \%$. Загальний вміст усіх сполук фенольної природи в екстракті 3 становить $3,85 \pm 0,16 \%$.

Як видно з табл. 4.5, вміст загальної суми фенольних сполук в екстракті 3 зменшується на 22 % за рахунок додавання L-лізину до екстракту 1, а в екстракті 2 збільшується на 8 % за рахунок видалення амінокислот з екстракту 1 на катіоніті КУ 2, тому варто відзначити, як саме ці коливання впливатимуть на фармакологічну активність одержаних екстрактів.

4.3.2 Дослідження вмісту амінокислот

Якісний і кількісний аналіз амінокислот в екстрактах проводили за допомогою високоефективного рідинного хроматографа фірми Agilent Technologies (модель 1100) (розділ 2, п. 8).

Оскільки при пропусканні екстракту 1 через катіоніт майже всі амінокислоти залишилися на катіоніті, що було підтверджено ТШХ аналізом амінокислот у елюаті, то ВЕРХ аналіз екстракту 2 було не доцільним, а результати дослідження амінокислотного складу екстрактів 1 та 3 методом ВЕРХ наведені в табл. 4.6.

Таблиця 4.6

Амінокислотний склад екстрактів з листя *S. officinalis*

№ з/п	Назва амінокислоти	Кількісний вміст амінокислот, %	
		Екстракт 1	Екстракт 3
1	Аспарагінова к-та	$0,19 \pm 0,009$	$0,21 \pm 0,01$
2	Треонін	$0,7 \pm 0,005$	0
3	Серин	$0,05 \pm 0,002$	0
4	Глутамін	$0,17 \pm 0,001$	$0,13 \pm 0,005$
5	Пролін	$0,13 \pm 0,05$	$0,19 \pm 0,008$
6	Гліцин	$0,08 \pm 0,004$	$0,02 \pm 0,001$
7	Аланін	$0,07 \pm 0,004$	$0,03 \pm 0,001$
8	Валін	$0,07 \pm 0,003$	$0,05 \pm 0,002$
9	Ізолейцин	$0,07 \pm 0,004$	0
10	Лейцин	$0,12 \pm 0,005$	0
11	Тирозин	$0,05 \pm 0,001$	$0,17 \pm 0,008$
12	Фенілаланін	$0,11 \pm 0,001$	$0,18 \pm 0,007$
13	Гістидин	$0,05 \pm 0,001$	$0,09 \pm 0,002$
14	Лізін	$0,11 \pm 0,005$	$15,33 \pm 0,42$
15	Аргінін	$0,08 \pm 0,004$	$0,03 \pm 0,001$

В екстракті 1 було ідентифіковано 15 амінокислот, із яких 8 є незамінними (треонін, валін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, гістидин, лізін, аргінін) та 7 замінними (аспарагінова к-та, серин, глутамін, пролін, гліцин, аланін, тирозин). Домінуючими амінокислотами були аспарагінова кислота, глутамін, пролін та лейцин. При одержанні екстракту 3 у технологічному процесі змінилося співвідношення основних амінокислот та не були виявлені треонін, серин, ізолейцин та лейцин, що можливо пов'язано з утворенням комплексів та їх хімічними перетвореннями.

4.3.3 Дослідження протизапальної активності одержаних екстрактів

Протизапальну активність досліджуваних екстрактів вивчали на дослідних щурах на моделі гострого запального набряку, викликаного субплантарним введенням в задню лапку щура 0,1 мл 1 % розчину карагеніну під керівництвом професора Кіреєва І. В. та асистента Верховодової Ю. В. (розділ 2, п. 10). Результати проведеного дослідження протизапальної активності наведені у табл. 4.7.

Аналізуючи протизапальну активність досліджуваних екстрактів встановлено, що Екстракт 1 в дозі 50 мг/кг проявляє виражену протизапальну активність (антиексудативний ефект – 84 %). При видаленні амінокислот із екстракту 1 (Екстракт 2) спостерігається значне зниження протизапальної активності. Введення амінокислоти L-лізин до екстракту 1 призводить до значного підвищення протизапальної активності (Екстракт 3) до 93 % та 89 % в дозах 50 та 70 мг/кг відповідно, при цьому вміст фенольних сполук в Екстракті 3 на 22 % менший, ніж в Екстракті 1. Найбільш ефективною дозою для одержаних екстрактів є 50 мг/кг. Отримані результати антиексудативної активності у порівнянні з препаратом порівняння диклофенаком у дозі 8 мг/кг (ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» Україна, табл. 25 мг).

Таблиця 4.7

Протизапальна активність екстрактів з листя шавлії лікарської

Час визна- чення	Антиексудативний ефект, %						
	Екстракт 1		Екстракт 2		Екстракт 3		Дикло фенак натрію 8 мг/кг
	50 мг/кг	70 мг/кг	50 мг/кг	70 мг/кг	50 мг/кг	70 мг/кг	
1 год	33	24	53	54	78	69	98
2 год	72	31	38	26	81	66	79
3 год	63	50	54	52	93	82	71
4 год	84	62	62	69	93	89	92

Отже, показано, що амінокислоти значно впливають на фармакодинаміку протизапальної активності екстрактів з листя шавлії та можуть потенціювати їх ефективність.

На базі ЦНДЛ НФаУ під керівництвом професора Кіреєва І. В. та асистента Верховодової Ю.В. було проведено дослідження ефективності екстрактів з листя *S. officinalis* при лікуванні дисбіотичних порушень в умовах експериментального інфекційного коліту. Було встановлено, що досліджувані екстракти проявляли антагоністичну дію на всі мікроорганізми, що були використані для моделювання коліту, при цьому не пригнічуючи нормальну мікрофлору кишечника. Це вказує на можливість використання одержаного екстракту з листя *S. officinalis* для комплексного лікування колітів [54, 147].

4.3.4 Дослідження антимікробної активності одержаних екстрактів

Антимікробну активність екстрактів шавлії лікарської визначали в лабораторії біохімії та біотехнології Інститута мікробіології та імунології І. І. Мечникова під керівництвом кандидата біологічних наук Т. П. Осолодченко в експерименті *in vitro* за стандартною методикою дифузії в агар (розділ 2, п. 9). Результати проведеного дослідження антимікробної активності наведені у табл. 4.8.

Таблиця 4.8

Антимікробна активність екстрактів з листя шавлії лікарської

Фіто- субстанція	Діаметр зони затримки росту мікроорганізму, мм					
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. vulgaris</i>
Екстракт 1	13 ± 2	12 ± 1	14 ± 2	16 ± 1	14 ± 1	15 ± 1
Екстракт 2	14 ± 1	13 ± 2	17 ± 2	14 ± 1	15 ± 1	15 ± 2
Екстракт 3	20 ± 2	18 ± 1	15 ± 1	17 ± 2	15 ± 1	16 ± 1

В результаті проведеного дослідження антимікробної активності екстрактів із листя шавлії лікарської встановлено, що всі одержані екстракти проявляють антимікробну дію на рівні активних речовин, а введення амінокислоти лізин до Екстракту 1 забезпечувало збільшення антимікробної дії Екстракту 3 на більшість штамів.

4.4 Перспективи використання модифікованих екстрактів із листя *S. grandiflora* та *S. verticillata* для створення протизапальних лікарських засобів

Схема одержання модифікованих екстрактів, яка була опрацьована з листям шавлії лікарської, була використана для одержання подібних екстрактів із листя *S. grandiflora* та *S. verticillata*: сухий екстракт із листя *S. grandiflora*, який був одержаний 50 % етанолом та модифікований додаванням L-лізину у трьохкратній еквімолярній кількості по відношенню до суми фенольних сполук (у подальшому Екстракт 4); сухий екстракт з листя *S. verticillata*, який був одержаний 50 % етанолом та модифікований додаванням L-лізину у трьохкратній еквімолярній кількості по відношенню до суми фенольних сполук (у подальшому Екстракт 5).

Принципова схема одержання екстрактів з листя *S. grandiflora* та *S. verticillata* наведена на рис. 4.2.

Для одержання екстракту 100 кг подрібненого шляхом вальцювання до розмірів часток 2,5-3,0 мм сухого листя *S. grandiflora* (*S. verticillata*) заливали 500 мл 50 % етанолу та настоювали при кімнатній температурі протягом 6 годин, екстракцію повторювали тричі з новою порцією екстрагенту. Одержані спиртові витяжки об'єднували. Загальний об'єм склав 1,26 л. До об'єднаної витяжки додавали 7 г амінокислоти L-лізин та настоювали 12 годин при кімнатній температурі. Після настоювання екстракт упарювали

при температурі 85 °С під вакуумом у вакуум-циркуляційному апараті при розрідженні 690 мм рт. ст. до об'єму водного залишку 50 мл. Кубовий залишок являв собою густу темно-коричневу рідину, яку сушили у розпилувальній сушарці з температурою теплоносія на вході 160 °С і на виході - 85 °С до сухого екстракту. Вихід готового продукту становить 24,59 та 31,55 % відповідно. Таким чином було отримано Екстракти 4 та 5 відповідно.

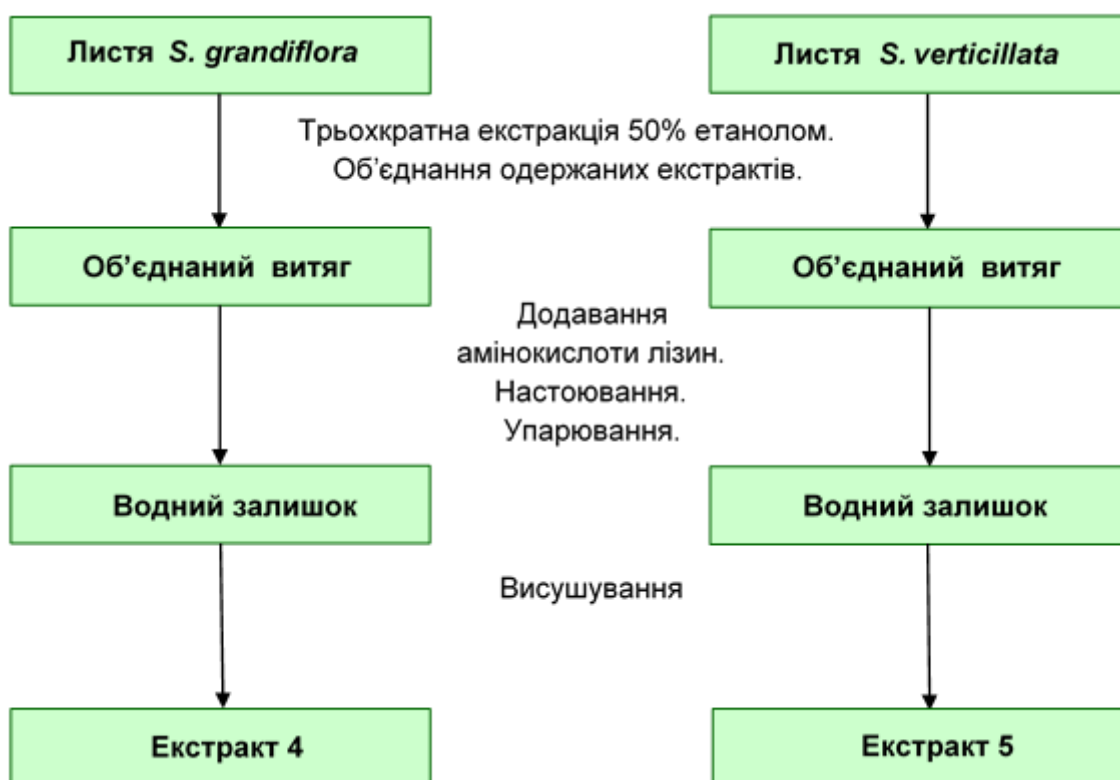


Рис. 4.2. Схема одержання екстрактів із листя *S. grandiflora* та *S. verticillata*

4.4.1 Дослідження вмісту фенольних сполук

Визначення якісного складу та кількісного вмісту фенольних сполук в одержаних екстрактках проводили методом ВЕРХ (розділ 2, п. 8). Результати вивчення вмісту фенольних сполук наведені в табл. 4.9.

Таблиця 4.9

Фенольні сполуки екстрактів з листя *S. grandiflora* та *S. verticillata*

№ з/п	Речовина	Кількісний вміст г/100г екстракту	
		Екстракт 4	Екстракт 5
Флавоноїди			
1	Апігенін-7-О- глюкозид	0,19 ± 0,008	0,19 ±0,008
2	Лютеолін	0,06 ± 0,002	0,01 ±0,0004
3	Апігенін	0,15 ± 0,006	0,21 ±0,01
4	Лютеолін-7-О- глюкозид	0,12 ± 0,005	1,68 ±0,08
5	Катехін	0,09 ± 0,004	0,13 ±0,005
Загальний вміст флавоноїдів		0,61 ± 0,02	2,22 ±0,11
Гідроксикоричні кислоти			
6	Хлорогенова кислота	0,02 ± 0,001	0,01 ± 0,0004
7	Кавова кислота	0,09 ± 0,004	0,13 ± 0,005
8	Розмаринова кислота	2,21 ± 0,11	0,24 ± 0,01
Загальний вміст гідроксикоричних кислот		2,32 ± 0,11	0,38 ± 0,01
Похідні кофейної кислоти			
9	Сальвіанолова кислота G	0	0,1 ± 0,003
10	Сальвіанолова кислота E	0	0,01 ± 0,0004
11	Сальвіанолова кислота D	0	0,41 ± 0,02
12	Сальвіанолова кислота B	0,06 ± 0,002	0,12 ± 0,005
Загальний вміст сальвіанолових кислот		0,06 ± 0,002	0,64 ± 0,02
Загальний вміст фенольних сполук		2,99 ± 0,11	3,24 ± 0,12

В екстракті 4 встановлено загальний вміст флавоноїдів $0,61 \pm 0,02$ %, гідроксикоричних кислот – $2,32 \pm 0,11$ % та похідних сальвіанолових кислот

– $0,06 \pm 0,002$ %. Загальний вміст усіх сполук фенольної природи в Екстракті 4 становить $2,99 \pm 0,11$ %. В Екстракті 5 встановлено загальний вміст флавоноїдів $2,22 \pm 0,11$ %, гідроксикоричних кислот – $0,38 \pm 0,01$ % та похідних сальвіанолових кислот – $0,64 \pm 0,02$ %. Загальний вміст усіх сполук фенольної природи в Екстракті 4 становить $3,24 \pm 0,12$ %.

4.4.2 Дослідження вмісту амінокислот

Якісний і кількісний аналіз амінокислот в Екстрактах 4 і 5 проводили методом ВЕРХ (розділ 2, п. 8). Результати дослідження амінокислотного складу Екстрактів 4 та екстракту 5 наведені в табл. 4.10.

Таблиця 4.10

Амінокислотний склад екстрактів з листя *S. grandiflora* та *S. verticillata*

№ з/п	Назва амінокислоти	Кількісний вміст амінокислот, %	
		Екстракт 4	Екстракт 5
1	Аспарагінова к-та	$1,44 \pm 0,05$	$1,6 \pm 0,05$
2	Треонін	$0,61 \pm 0,02$	$0,7 \pm 0,03$
3	Серин	$0,55 \pm 0,02$	$0,57 \pm 0,02$
4	Глутамін	$1,84 \pm 0,08$	$1,76 \pm 0,05$
5	Пролін	$0,53 \pm 0,02$	$0,64 \pm 0,03$
6	Гліцин	$0,77 \pm 0,03$	0
7	Аланін	$0,86 \pm 0,04$	$0,99 \pm 0,05$
8	Валін	$0,87 \pm 0,04$	$2,09 \pm 0,09$
9	Ізолейцин	$0,66 \pm 0,03$	$0,62 \pm 0,02$
10	Лейцин	$1,16 \pm 0,04$	$1,12 \pm 0,04$
11	Тирозин	$0,52 \pm 0,02$	$0,67 \pm 0,03$
12	Фенілаланін	$0,75 \pm 0,03$	$0,79 \pm 0,03$
13	Гістидин	$0,32 \pm 0,01$	$0,38 \pm 0,01$
14	Лізін	$19,27 \pm 0,81$	$20,22 \pm 0,95$
15	Аргінін	$0,72 \pm 0,02$	$0,68 \pm 0,02$
Загальний вміст амінокислот		$30,87 \pm 0,95$	$32,83 \pm 0,97$

В результаті вивчення амінокислотного складу Екстракту 4 та Екстракту 5 було ідентифіковано 11 амінокислот, із яких 5 є незамінними (валін, фенілаланін, гістидин, лізин, аргінін) та 6 замінних (аспарагінова к-та, глутамін, пролін, гліцин, аланін, тирозин). Домінуючими амінокислотами були аспарагінова кислота, глутамін, пролін та валін. При одержанні модифікованих Екстрактів 4 та 5 у технологічному процесі також змінилося співвідношення основних амінокислот, що можливо пов'язано з утворенням комплексів та їх хімічними перетвореннями.

4.4.3 Дослідження протизапальної активності

Протизапальну активність досліджуваних екстрактів вивчали на дослідних щурах на моделі гострого запального набряку, викликаного субплантарним введенням в задню лапку щура 0,1 мл 1 % розчину карагеніну. (розділ 2, п. 10). Результати проведеного дослідження протизапальної активності наведені у табл. 4.11.

Таблиця 4.11

Протизапальна активність екстрактів з листя *S. grandiflora* та *S. verticillata*

Час визна- чення	Антиексудативний ефект, %				
	Екстракт 4		Екстракт 5		Диклофенак натрію
	50 мг/кг	70 мг/кг	50 мг/кг	70 мг/кг	8 мг/кг
1 год	63	65	52	56	98
2 год	76	68	77	78	79
3 год	86	81	89	92	71
4 год	89	84	92	85	92

В результаті проведеного аналізу протизапальної активності досліджуваних екстрактів встановлено, що Екстракт 4 та Екстракт 5 у дозі 50 мг/кг проявляють виражену протизапальну активність (антиексудативний ефект – 89 % та 92 % відповідно). Одержані результати антиексудативної активності у порівнянні з препаратом порівняння диклофенаком у дозі 8 мг/кг (ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» Україна, табл. 25 мг).

Отже, доведено, що екстракти, одержані з листя нефармакопейних видів роду Шавлія та модифіковані амінокислотою L-лізином, можуть використовуватись для створення нових лікарських засобів протизапальної дії. Рівень антиексудативної активності одержаних екстрактів співставний з синтетичним НПЗЗ диклофенаком та екстрактом з листя шавлії лікарської.

4.4.4 Дослідження антимікробної активності

Антимікробну активність екстрактів із листя *S. grandiflora* та *S. verticillata* визначали в експерименті *in vitro* за стандартною методикою дифузії в агар (розділ 2, п. 9). Результати проведеного дослідження антимікробної активності наведені у табл. 4.12.

Таблиця 4.12

Антимікробна активність екстрактів з листя *S. grandiflora* та *S. verticillata*

Фітосубстанція	Діаметр зони затримки росту мікроорганізму, мм					
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. vulgaris</i>
Екстракт 4	19 ± 2	17 ± 1	13 ± 2	17 ± 1	14 ± 1	15 ± 1
Екстракт 5	21 ± 1	19 ± 2	17 ± 2	15 ± 1	15 ± 1	16 ± 2

В результаті проведеного дослідження антимікробної активності екстрактів встановлено, що всі одержані екстракти проявляють виражену антимікробну дію щодо таких мікроорганізмів, як: *E.coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *C. albicans*, *P. aeruginosa* та *P. vulgaris*.

Висновки розділу 4

1. Розроблено схему одержання сухих екстрактів з листя шавлії досліджуваних видів, які були модифіковані L-лізином, що захищена патентами України на корисну модель 92310, 138320 та на винаходи 110990, 121367.
2. Методом ВЕРХ встановлено якісний склад та кількісний вміст фенольних сполук та амінокислот у досліджуваних екстрактах з листя шавлії лікарської. Ідентифіковано та визначено кількісний вміст 17 речовин фенольної природи та 15 амінокислот. Домінуючими сполуками у всіх екстрактах були рутин, апігенін, лютеолін-7-О-глюкозид та розмаринова кислота.
3. В результаті дослідження протизапальної активності одержаних екстрактів з листя шавлії лікарської встановлено, що максимальна протизапальна активність характерна для екстракту, який модифікований амінокислотою L-лізином та становить 93 % у дозі 50 мг/кг, що вказує на перспективність використання цієї субстанції для створення нових перспективних лікарських засобів з протизапальною дією.
4. В результаті проведеного дослідження антимікробної активності екстрактів з *S.officinalis*, *S. grandiflora* та *S. verticillata* встановлено, що всі одержані екстракти проявляють виражену антимікробну дію щодо таких мікроорганізмів, як: *E. coli*, *S. aureus*, *B. Subtilis*, *C. albicans*, *P. aeruginosa* та *P. vulgaris*, а введення амінокислоти L-лізину призводить до значного збільшення антимікробної активності.

Результати експериментальних досліджень даного розділу знайшли відображення в таких публікаціях:

1. Мига М. М., Кошовий О. М. Дослідження фенольного складу сухих екстрактів з листя шавлії лікарської. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2014. Вып. 23. № 4. С. 332-336.
2. Мыга М. М., Романенко Е. А., Кошевой О. Н. Исследование фенольных соединений спиртового экстракта листьев шалфея лекарственного. *Вестник пермской государственной фармацевтической академии*. 2013. № 11. С. 114-115.
3. Koshovyi O., Myha M., Verkhovodova Yu., Kireev I., Ilina T. Prospects of new drugs creation based on the extracts from *Salvia officinalis* leaves. *Oxford Review of Education and Science*. 2016. № 1 (11). P. 474-478.
4. Koshovyi O., Myha M., Verkhovodova Yu., Kireev I., Ilina T. Research into chemical composition and anti-inflammatory activity of the sage leaves alcoholic extract. *Proceedings of the 6th International Academic Congress "Science, Education and Culture in Eurasia and Africa"* (France, Paris, 23-25 March 2016). 2016. P. 578-582.
5. Мига М. М., Верховодова Ю. В., Кошовий О. М., Кіреєв І. В., Ільїна Т. В. Фітохімічний профіль та протизапальна активність сухих екстрактів з листя шавлії лікарської. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 4. С. 38-41.
6. Verkhovodova, Yu., Kireyev, I., Koshovyi, O., Myha, M., Osolodchenko, T. The effect of common sage extracts on the intestinal microbiota in experimental infectious colitis. *Georgian Medical News*. 2020. № 4 (301). P. 165-170. (**Scopus**).
7. Вовк Г.В., Кошовий О. М., Ковальова А.М., Рибак В. А., Комісаренко А. М., Мига М.М. Спосіб одержання засобу з листя шавлії лікарської з антимікробною та протизапальною активністю: пат. на кор. мод. 92310 Україна. № u2014 02605; заявл. 14.03.2014; опубл. 11.08.14; Бюл. № 15. 4 с.
8. Вовк Г.В., Кошовий О. М., Ковальова А.М., Рибак В. А., Комісаренко А. М., Мига М.М. Спосіб одержання засобу з листя шавлії лікарської шляхом комплексної переробки: патент на винахід 110990 Україна. № а 2014 02604;

заявл. 14.03.2014; опубл. 10.03.2016; Бюл. № 5. 4 с.

9. Кіреєв І.В., Кошовий О. М., Верховодова Ю. В., Миґа М. М. Спосіб одержання сухого екстракту з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю: пат. на кор. мод. 138320 Україна. № u2019 04814; заявл. 06.05.2019; опубл. 25.11.2019; Бюл. № 22. 4 с.
10. Кіреєв І.В., Кошовий О.М., Верховодова Ю.В., Миґа М.М. Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю: патент на винахід 121367 Україна. № a201904796; заявл. 06.05.2019; опубл. 12.05.2020, Бюл. № 8. 3 с.
11. Миґа М.М., Кошовий О.М., Верховодова Ю.В. Дослідження фенольного складу та протизапальної активності сухого екстракту з листя шавлії лікарської. Матеріали VIII Національного з'їзду фармацевтів, м. Харків, 13-16 вересня 2016 р. Харків. 2016. В 2-х.т. Т. 1. С. 116 (ISBN 978-966-615-489-0).
12. Tukas A. A., Myga M. M., Koshovyi O. M. Parameters of standardization of the *Salvia officinalis* leaves dry extract. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів: тези доповідей XXIII Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених та студентів*, м. Харків, 21 квіт. 2016 р. Харків. 2016. Вид-во НФаУ. В 2-х.т., Т.1. Р. 127.

РОЗДІЛ 5
ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ СТАНДАРТИЗАЦІЇ ЛИСТЯ
***S. GRANDIFLORA*, *S. VERTICILLATA* ТА СУХОГО**
МОДИФІКОВАНОГО ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ *S. OFFICINALIS*

Для розширення номенклатури вітчизняної лікарської рослинної сировини та використання перспективних екстрактів при створенні нових лікарських засобів доцільно було розробити проекти методів контролю якості на найбільш перспективні об'єкти дослідження, а саме листя *S. grandiflora* та *S. verticillata* та сухий екстракт *S. officinalis* листя, який модифікований L-лізином.

5.1 Розробка проекту МКЯ на листя *S. grandiflora* L.

Враховуючи результати проведених фармакогностичних досліджень, було показано, що листя *S. grandiflora* L. є перспективним джерелом фенольних сполук, а саме розмаринової кислоти, тому були запропоновані такі показники контролю якості для цієї сировини:

Опис. Ціле або різане, висушене листя *S. grandiflora* L.

Ідентифікація А. Листки (як на неплідних пагонах, так і на стеблах) від довгасто-яйцеподібних (нижні) до довгасто-яйцеподібно-ланцетних. Листки неплідних пагонів, нижні і середні стеблові листки з волохато-шерстистим черешком 2 – 8,5 см завдовжки, пластинка в них 2 – 10 (іноді більше) см завдовжки, 1 – 6 см завширшки, при основі трохи нерівнобока, закруглена або коротко клиноподібна, на верхівці тупа (лише в найнижчих листків) або здебільшого коротко- чи відтягнуто-загострена, з країв дрібно-зарубчасто-пилчаста, на поверхні зверху зеленувата, коротко волосиста, лише в молодих листків сірувато-шерстиста, зісподу сірувато-шерстиста і лише в дуже молодих листків білувата від опушення, з обох боків засіяна не дуже

помітними крапчастими залозками, досить тонко сітчасто-зморшкувата. Верхні стеблові листки короткочерешкові, здрібнені.

Ідентифікація В. Листкова пластинка дорзовентрального типу. Клітини верхньої епідерми прямокутні багатокутні паренхімні. Оболонки мають намистоподібні потовщення. Вздовж жилок клітини епідерми паренхімно-прозенхімні, прямокутні. Клітини нижньої епідерми слабозвивистостінні з рівномірно потовщеними оболонками. Кутикула складчаста. Продиховий апарат діацитного типу. З абаксіального боку продихи численні. З адаксіального боку листка продихів менше. Волоски двох типів: прості та головчасті. Прості волоски багатоклітинні, містять до 6 клітин. Оболонки клітин потовщені. Зустрічаються волоски зі спалими стінками. Термінальна клітина видовжена, загострена, загнута. Основа волоска оточена розеткою епідермальних клітин (до 6 клітин). Залозисті волоски двох типів: перші - складаються з двоклітинної голівки та одноклітинної ніжки. Волоски другого типу – голівка одноклітинна на багатоклітинній (частіше 2 клітини) ніжці. Голівка складається з 6-8 радіально розташованих клітин. Добре помітна ніжка. Залозок багато на нижній поверхні листка. Листкова пластинка дорзовентрального типу, амфістоматична. Стовпчаста паренхіма дворядна. Клітини вузькі, щільно прилягають одна до одної. Губчастий мезофіл складається з клітин, які розташовані майже без міжклітинників.

Ідентифікація С.

Розчин порівняння. 1.0 мг кислоти кофейна Р і 5.0 мг кислоти розмаринової Р розчинених у 10 мл метилового спиртуР.

Пластинка: ТШК пластина з шаром сорбенту.

Рухома фаза: метанова кислота безводна Р – ацетон Р – дихлорметан Р (8.5:25:85).

Об'єм проб: 10 мкл розчину випробування і 20 мкл розчину порівняння, смугами .

Відстань, що має пройти рухома фаза: 8см від лінії старту.

Висушування: на повітрі.

Виявлення: переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати: нижче приведені послідовності зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння (рис. 5.1).

Верхня частина пластинки	
кофейна кислота: блакитна флуоресціююча зона	рожева флуоресціююча зона
розмаринова кислота: блакитна флуоресціююча зона	синя флуоресціююча зона низької інтенсивності
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

Рис. 5.1 Схема характерної хроматограми біологічно активних речовин листя *S. grandiflora*

Втрата в масі при висушуванні. Не більше 100 мл/кг ($\approx 10\%$).

Загальна зола. Не більше 10 %.

Листя, що потемніло та побуріло. Відсутнє.

Інші частини. Не більше 3 % (стебел).

Інші домішки (органічні, мінеральні). Не більше 2 %.

Кількісне визначення. Сума похідних гідроксикоричних кислот спектрофотометричним методом, у перерахунку на розмаринову кислоту не менше 2 %.

Вихідний розчин. До 0.200 г подрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12), додають 80 мл *етанолу (50 %, об/об) Р*, нагрівають зі зворотнім холодильником на водяній бані протягом 30 хв, охолоджують і фільтрують. Фільтр обполіскують 10 мл *етанолу (50 %, об/об) Р*, фільтрат і промивні води

об'єднують у мірній колбі і доводять об'єм розчину *етанолом* (50 %, об/об) *P* до 100 мл. *Випробуваний розчин*. До 1.0 мл вихідного розчину додають 2 мл 0.5 М розчину *хлористоводневої кислоти*, 2 мл свіжоприготованого розчину 10 г *натрію нітриту P* і 10 г *натрію молібдату P* у 100 мл *води P*, потім додають 2 мл *натрію гідроксиду розчину розведеного P*, доводять об'єм розчину *водою P* до 10 мл і перемішують.

Компенсаційний розчин. 1.0 мл вихідного розчину доводять *водою P* до 10.0 мл. Оптичну густину (2.2.25) випробуваного розчину вимірюють відразу за довжини хвилі 505 нм.

Вміст суми похідних гідроксикоричної кислоти в об'єктах дослідження (X) у перерахунку на розмаринову кислоту обчислюють у % за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 2,5}{m} \quad (5.1),$$

де *A* – оптична густина випробуваного розчину за довжини хвилі 505 нм;

m – маса наважки випробуваної сировини, у грамах.

Використовують питомий показник поглинання розмаринової кислоти, що дорівнює 400.

Результати аналізу трьох серій листя *S. grandiflora* L. наведені в табл. 5.1.

Всі три проаналізовані серії листя *S. grandiflora* L., відповідали вимогам розробленого проєкту МКЯ «*Salvia grandiflora folia*».

Таблиця 5.1

Результати аналізу листя *S. grandiflora* L. згідно з проєктом МКЯ

Показники якості	Допустимі межі згідно з проєктом МКЯ	Серія сировини		
		110917	121018	11118
Опис	Ціле або різане, висушене листя (За п. 1 МКЯ)	Відпов.	Відпов.	Відпов.
Ідентифікація				
Ідентифікація А (макроскопія)	За п. 2 МКЯ ДФУ, 2.2.27	Відпов.	Відпов.	Відпов.
Ідентифікація В (мікроскопія)	За п. 3 МКЯ ДФУ, 2.2.27	Відпов.	Відпов.	Відпов.
Ідентифікація С (ТШХ)	За п. 4 МКЯ ДФУ, 2.2.27	Відпов.	Відпов.	Відпов.
Випробування				
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 100 мл/кг ($\approx 10\%$). За п. 4 МКЯ, ДФУ 2.8.17	89	67	82
Загальна зола	Не більше 10 %. За п. 5 МКЯ, ДФУ, 5.4, методика 2; 2.2.28	7,4	5,6	6,2
Листя, яке потемніло та побуріло	Відсутнє, За п. 6 МКЯ, ДФУ, 2.4.8	Відпов.	Відпов.	Відпов.
Інші частини шавлії	Не більше 3 %. За п. 7 МКЯ, ДФУ, 2.6.12; 2.6.13, 5.1.4, категорія 2	2,4	2,0	1,1
Інші домішки (органічні, мінеральні).	Не більше 2 %.	0	0	0,4
Кількісне визначення				
Вміст гідроксикоричних кислот	Вміст гідроксикоричних кислот, у перерахунку на розмаринову кислоту – 2 % За п. 8 МКЯ, ДФУ, 2.2.25	2,23	2,29	2,35

5.2 Розробка проєкту МКЯ на листя *S. verticillata* L.

Враховуючи результати проведених фармакогностичних досліджень, було доведено, що листя *S. verticillata* L. є перспективним джерелом фенольних сполук, а саме флавоноїдів, тому були запропоновані такі показники контролю якості для цієї сировини:

Опис. Ціле або різане, висушене листя *Salvia verticillata* L.

Ідентифікація А. Листки черешкові, яйцеподібні або трикутно-яйцеподібні, нижні та середні часто ліроподібні; черешок у нижніх листків до 7 – 9 см завдовжки, у верхніх – коротенький; пластинка з неглибоко- або невиразносерцевидною основою і короткозаготреною або (у верхніх листків) гострою верхівкою, з країв дуже нерівнозарубчасто-зубчаста, в нижній частині у деяких листків надрізна або глибоко розсічена, з двома, іноді з чотирма довгасто-яйцеподібними-лопатами; покривні листки сидячі, трикутно-яйцеподібні, загострені, цілокраї, війчасті, коротші за квітки, після цвітіння відігнуті вниз.

Ідентифікація В. Листкова пластинка дорзовентрального типу. Клітини верхньої епідерми багатокутні, паренхімні. Оболонки клітин мають намистоподібні потовщення. Вздовж жилок клітини з більш довгими стінками (більш прозенхімні), прямостінні. Складчастість кутикули повздовжньо-зморшкувата. Нижня епідерма представлена звивистостінними, паренхімними клітинами з рівномірно потовщеними оболонками. Продиховий апарат діацитного типу. Продихи багаточисленні з нижнього боку листкової пластини. З верхнього боку також наявні. Ефіроолійні залозки численні з нижнього боку, з верхнього менше. Будова залозок характерна для видів родини *Lamiaceae*. Голівка складається з 6-8 радіально розташованих клітин. Добре помітна ніжка. Головчасті волоски двох типів: перші мають двоклітинну голівку та одноклітинну ніжку. Волоски другого типу – голівка одноклітинна на багатоклітинній (частіше 2 клітини) ніжці. Прості волоски численні, складаються з 4-6 клітин, з потовщеними оболонками.

Зустрічаються волоски зі спалими стінками. Кутикула гладенька або бородавчаста. Термінальна клітинна довга із загнутим кінчиком або пряма з гострою верхівкою. Базальні клітини (клітини біля основи волоска) мають більш потовщені стінки. На поперечному зрізі добре помітні всі шари в структурі листкової пластинки. Стовпчаста паренхіма дворядна. Клітини вузькі, щільно прилягають одна до одної. Губчастий мезофіл складається із клітин, які щільно прилягають, міжклітинників мало. Епідермальні клітини вздовж жилок прозенхімні.

Ідентифікація С. Тонкошарова хроматографія.

Випробуваний розчин: До 2.0 г сировини здрібненої на порошок (1000) (2.9.12) додають 20 мл етанолу (60 % об/об) Р, витримують упродовж 2 год, періодично мішаючи та фільтрують.

Розчин порівняння. 5 мг лютеолін-7-глюкозиду Р і 5 мг ФСЗ кислоти хлорогенової розводять у метиловому спирті Р і доводять об'єм одержаного розчину тим же розчинником до 10 мл.

Пластинка: ТШХ пластина із шаром силікагелю Р і (5-40мкм) (або ТШК пластина із шаром силікагелю Р (2-10 мкм).

Рухома фаза: кислота метанова Р – кислота оцтова льодяна Р – вода Р – етилацетат Р (11:11:27:100)

Об'єм проб: 10 мкл (або 2 мкл), смугами 10 мм (або 8 мм)

Відстань що повинна пройти рухома фаза: 13 см (або 6 см) від лінії старту.

Висушування: на повітрі.

Виявлення: пластинку нагрівають за температури 100 °С упродовж 5 хв; теплу пластину обробляють розчином 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти Р у метанолі Р а потім розчином 50 г/л макрогелю 400 Р у метанолі Р, аналізують в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм.

Результати: нижче приведені послідовності зон на хроматограмах випробуваного розчину та розчину порівняння. На хроматограмі з

випробовуваним розчином можуть також проявлятися інші зони флуоресценції (рис 5.2).

Втрата в масі при висушуванні. Не більше 100 мл/кг ($\approx 10\%$).

Загальна зола. Не більше 10 %.

Листя, що потемніло та побуріло. Відсутнє.

Інші частини. Не більше 3 % (стебел).

Інші домішки (органічні, мінеральні). Не більше 2 %.

Верхня частина пластинки	
лютеолін - 7- глюкозид: жовта або оранжева флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона жовта або оранжева флуоресціююча зона (лютеолін - 7- глюкозид)
хлорогенова кислота: блакитна флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона (хлорогенова кислота)
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

Рис. 5.2 Схема характерної тонкошарової хроматограми БАР листя *S. verticillata*

Кількісне визначення. Сума флавоноїдів спектрофотометричним методом, у перерахунку на лютеолін, не менше 1,5 %.

Визначення вмісту флавоноїдів у перерахунку на лютеолін (лютеолін 7-глюкозид). *Вихідний розчин 1.* 0,200 г подрібненої до порошку сировини переносять у колбу ємністю 200 мл, додають 40 мл етанолу (60 % об/об) *P*, нагрівають на водяній бані при температурі 60 °C упродовж 10 хв, обережно струшують, охолоджують та фільтрують через

тампон із вати у мірну колбу місткістю 100 мл. Поміщають тампон із вати із залишком екстракту у ту саму колбу ємністю 200 мл, додають 40 мл *етанолу* (60 %, об/об) *P*, знову нагрівають на водяній бані при температурі 60 °C упродовж 10 хв обережно струшують, охолоджують і фільтрують у ту ж мірну колбу ємністю 100 мл. Колбу ємністю 200 мл та фільтр обполіскують *етанолом* (60 %, об/об) *P*, промивну рідину поміщають у ту ж мірну колбу ємністю 100мл, доводять об'єм *етанолом P* (60 %, об/об) до 100 мл і фільтрують.

Випробуваний розчин. 5.0 мл вихідного розчину 1 переносять у круглодонну колбу та упарюють насухо під зниженим тиском. Отриманий залишок за допомогою 8 мл розчину *метанол P – оцтова кислота безводна P* (10:100) переносять у мірну колбу ємністю 25 мл. Круглодонну колбу обмивають 3 мл суміші *метанол P – оцтова кислота безводна P* (10:100) і промивну рідину переносять у ту ж мірну колбу ємністю 25 мл. До отриманого розчину додають 10.0 мл розчину, який містить 25.0 г/л *борної кислоти P*, 20.0 г/л *щавлевої кислоти P* у *мурашиній кислоті безводній P*, і доводять об'єм розчину *оцтовою кислотою безводною P* до 25,0 мл.

Компенсаційний розчин 1. 5.0 мл вихідного розчину 1 переносять у круглодонну колбу та упарюють насухо під зниженим тиском. Отриманий залишок переносять у мірну колбу ємністю 25 мл за допомогою 8 мл суміші *метанол P – оцтова кислота безводна P* (10:100). Круглодонну колбу обмивають 3 мл суміші *метанол P – оцтова кислота безводна P* (10:100) і промивну рідину поміщають у ту ж мірну колбу ємністю 25 мл. До отриманого розчину додають 10.0 мл *мурашиної кислоти безводної P* і доводять об'єм розчину *оцтовою кислотою безводною P* до 25.0 мл.

Вихідний розчин 2. 0.015 г (точна наважка) ФСЗ ДФУ лютеолін 7-глюкозиду або 0.010 г (точна наважка) ФСЗ ДФУ лютеоліну поміщають у мірну колбу ємністю 100 мл, розчиняють у 70 мл *метанолу P*, доводять об'єм розчину тим же розчинником до позначки і перемішують.

Розчин порівняння. 1.0 мл вихідного розчину 2 поміщають у мірну

колбу місткістю 25мл, додають 10.0 мл розчину що містить 25.0 г/л *борної кислоти P*, 20.0 г/л *щавлевої кислоти P* у *мурашиній кислоті безводній P*, і доводять об'єм розчину *оцтовою кислотою безводною P* до 25,0 мл.

Компенсаційний розчин 2. 1.0 мл вихідного розчину 2 поміщають у мірну колбу ємністю 25 мл, додають 10.0 мл *мурашиної кислоти безводної P* і доводять об'єм розчину *оцтовою кислотою безводною P* до 25.0 мл. Оптичну густину випробовуваного розчину вимірюють через 30 хв після приготування за довжини хвилі 410 нм відносно компенсаційного розчину 1. Паралельно вимірюють оптичну густину розчину порівняння відносно компенсаційного розчину 2.

Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на лютеолін і суху сировину, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot 20 \cdot P}{A_0 \cdot a_1 \cdot 100} \quad (5.2),$$

Де A_1 – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 410 нм,

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

a_0 – маса наважки ФСЗ ДФУ лютеоліну, у грамах,

a_1 – маса наважки випробовуваної сировини, у грамах,

P – вміст лютеолін у ФСЗ ДФУ лютеолін 7-глюкозиду, у відсотках.

Результати аналізу трьох серій листя *S. verticillata* L. наведені в табл. 5.2.

Всі три серії листя *S. verticillata* L., яке було проаналізовано відповідало вимогам розробленого проєкту МКЯ «*Salvia verticillata folia*».

Таблиця 5.2

Результати аналізу листя *S. verticillata* L. згідно з проектом МКЯ

Показники якості	Допустимі межі згідно з проектом МКЯ	Серія сировини		
1	2	101218	160918	101218
Опис	Цілі або різані, висушені листки (За п. 1 МКЯ)	Відпов.	Відпов.	Відпов.
Ідентифікація				
Ідентифікація А (макроскопія)	За п. 2 МКЯ ДФУ, 2.2.27	Відпов.	Відпов.	Відпов.
Ідентифікація В (мікроскопія)	За п. 3 МКЯ ДФУ, 2.2.27	Відпов.	Відпов.	Відпов.
Ідентифікація С (ТШХ)	За п. 4 МКЯ ДФУ, 2.2.27	Відпов.	Відпов.	Відпов.
Випробування				
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 100 мл/кг (≈ 10 %). За п. 4 МКЯ, ДФУ 2.8.17	79	81	91
Загальна зола	Не більше 10 %. За п. 5 МКЯ, ДФУ, 5.4, методика 2; 2.2.28	8,1	8,9	7,9
Листя, що потемніло та побуріло	Відсутнє, За п. 6 МКЯ, ДФУ, 2.4.8	Відпов.	Відпов.	Відпов.
Інші частини	Не більше 3 %. За п. 7 МКЯ, ДФУ, 2.6.12; 2.6.13, 5.1.4, категорія 2	1,4	0	2,1
Інші домішки (органічні, мінеральні).	Не більше 2 %.	0,5	0,3	0
Кількісне визначення				
Вміст флавоноїдів	Вміст флавоноїдів, у перерахунку на лютеолін, не менше 2 % За п. 8 МКЯ, ДФУ, 2.2.25	1,73	1,81	1,83

5.3 Стандартизація шавлії лікарської листя екстракту сухого

Проведені фітохімічні та фармакологічні дослідження показали, що найбільш перспективною субстанцією є шавлії лікарської листя екстракт сухий, модифікованого амінокислотою L-лізином. Отримані результати були використані для розробки проєкту методів контролю якості на екстракт, одержаний за запропонованою технологією. Подальшу розробку методик стандартизації та стандартизацію одержаних екстрактів проводили відповідно загальних статей і методик кількісного визначення біологічно активних речовин, наведених у ДФУ [17, 18, 30, 154].

Було запропоновано параметри стандартизації та проведено аналіз трьох серій одержаних екстрактів (табл. 5.3).

Опис. Одержаний екстракт – гігроскопічний порошок від світло-коричневого до коричневого кольору, з характерним запахом.

Розчинність. Для визначення можливих подальших технологічних процесів з екстрактом та можливого прямого його використання потрібно було дослідити його розчинність. Екстракт легко розчинний у 50 % етанолі, помірно розчиняється у 96 % етанолі та воді, дуже мало розчинний у хлороформі. Аналіз розчинності проводили згідно вимог ДФУ (1.4).

Ідентифікація. Дослідження проводили методом тонкошарової хроматографії (2.2.27) ДФУ.

Метод А. Випробовуваний розчин. До 0,5 г екстракту додають 10 мл метилового спирту, нагрівають при температурі 60 °С на водяній бані зі зворотним холодильником упродовж 10 хв, охолоджують та фільтрують.

Розчин порівняння. 5 мг лютеолін-7-глюкозиду *P* і 5 мг ФСЗ кислоти хлорогенової розчиняють у метиловому спирті *P* і доводять об'єм розчину тим же розчинником до 10 мл.

Пластина: ТШХ пластина із шаром силікагелю *P* (5-40мкм) (або ТШК пластина із шаром силікагелю *P* (2-10 мкм)).

Рухома фаза: кислота метанова *P* – кислота оцтова льодяна *P* – вода *P* – етилацетат *P* (11:11:27:100).

Об'єм проби, що наноситься: 10 мкл, смугами.

Відстань, що повинна пройти рухома фаза: 13 см від лінії старту.

Висушування: на повітрі.

Виявлення: пластину нагрівають при 100 °С упродовж 5 хв; теплу пластину обробляють розчином 10 г/л *аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти P* у метанолі *P* а після розчином 50 г/л *макроголу 400 P* у метанолі *P*, аналізують в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати: посередині хроматограми розчину порівняння проявляється жовтаво-помаранчева зона флуоресценції, відповідна лютеолін-7-глюкозиду, а також нижче неї блакитна зона флуоресценції, відповідна кислоті хлорогеновій. На хроматограмі досліджуваного розчину вище зони лютеолін-7-глюкозиду проявляється блакитна зона флуоресценції.

Метод В. Випробовуваний розчин. 0,5 г екстракту розводять у *кислоті хлористоводневій розведеній P* і доводять об'єм розчину тією самою кислотою до 10 мл. 1 мл розчину доводять до об'єму 50 мл *водою P*.

Розчин порівняння. 10 мг *ФСЗ лізину* розчиняють у *0,1 М розчині кислоти хлористоводневої* і доводять об'єм кислотою хлористоводневою до 50 мл.

Пластина: ТШХ пластина із шаром силікагелю.

Рухома фаза: етилацетат - вода - кислота мурашина безводна - кислота оцтова безводна (72:14:7:7).

Об'єм проби, що наноситься: випробуваного розчину — 50 мкл, розчину порівняння - 5 мкл, смугами.

Відстань, що повинна пройти рухома фаза: 15 см від лінії старту.

Висушування: за температури 100 – 105 °С.

Виявлення: обробляють розчином *нінгідрину P*, сушать за температури 100 – 105 °С упродовж 15 хв і аналізують при денному світлі.

Результати: на хроматограмі випробуваного розчину повинна виявлятися основна пляма а на її рівні на хроматограмі розчину порівняння, відповідна цій за забарвленням.

Випробування.

Втрата в масі при висушуванні. Не більше 5,0 %. Визначення проводять згідно методики ДФУ 2.0 (2.8.17).

0,50 г подрібненого до тонкого порошку екстракту розміщують у бюксі і сушать у сушильній шафі за температури 100 – 105 °С упродовж 3 год. Охолоджують у ексикаторі та проводять зважування.

Залишкові кількості органічних розчинників (етанол).

Близько 1 г (точна наважка) екстракту переносять у мірну колбу місткістю 10 мл, розчиняють у 7 мл води, додають 1 мл ацетону і 1,2-дихлоретану (внутрішні стандарти), доводять об'єм розчину водою до мітки і перемішують.

По 1 мкл досліджуваного розчину і розчину стандарту(С3) етанолу хроматографують на газовому хроматографі з полум'яно-іонізаційним детектором, отримуючи не менш 5 хроматограм у наступних умовах:

- колонка кварцова капілярна HP-FFAP фірми Hewlett Packard (США), розміром 30 м х 0,53 мм, нерухома фаза – поліетиленгліколь, модифікований терефталевою кислотою, з товщиною шару 1 мкм. Припускається можливість використовувати аналогічні колоноки, за умови відповідності вимогам тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;

- температуру колонки програмують: 70 °С протягом 4 хв, підвищення температури зі швидкістю 20 °С/хв до 140°С, витримують протягом 5 хв;

- температура випарника – 130 °С;

- температура детектора – 220 °С;

- об'ємна швидкість газу-носія (гелій) – 5 мл/хв;

- розподіл потоку – 1:5.

Вміст етанолу (X) у препараті, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{B_1 \cdot m_{01} \cdot 1 \cdot 10 \cdot 100}{B_{01} \cdot m_1 \cdot 10 \cdot 10} = \frac{B_1 \cdot m_{01} \cdot 10}{B_{01} \cdot m_1} \quad (5.3),$$

де B_1 – середнє значення відносин площ піків етанолу до площ смуг ацетону (внутрішній стандарт 1), обчислене з хроматограм дослідного розчину;

B_{01} – середнє значення відносин площ піків етанолу до площ піків ацетону (внутрішній стандарт 1), обчислене з хроматограм розчину СЗ етанолу;

m_1 – маса наважки екстракту, г;

m_{01} – маса наважки СЗ етанолу, г.

Вміст етанолу у препараті не має перевищувати 1,0 %.

Результати аналізу достовірні, якщо втримуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи».

Важкі метали. Для токсикологічної безпеки усі види фітохімічної продукції необхідно контролювати на вміст важких металів, за вимогами ДФУ(2.4.8) їх вміст повинен бути не більше 100 ppm.

0,2 г екстракту, у перерахунку на суху речовину, поміщають у завчасно прожарений кварцовий або порцеляновий тигель, змочують 1 мл *сірчаної кислоти Р*, та обережно нагрівають на сітці чи піщаній бані при безперервному перемішуванні, повертаючи тигель щипцями, до видалення парів кислоти сірчаної і спалюють до зникнення темних часток при температурі 600 °С. У випадку присутності темних часток знову додають 1 мл *сірчаної кислоти Р* та повторювали спалювання. Залишок з тигля переносять у пробірку двома окремими порціями *хлористоводневої кислоти розведеної Р*, по 5 мл кожна та при необхідності нагрівають при температурі від 50 °С до 60 °С до розведення осаду. Охолоджують та додають 0,1 мл *розчину фенолфталеїну Р*, підлужують *розчином аміаку концентрованого Р* до поки не з'явилося рожеве забарвлення. Охолоджують, добавляють

кислоту оцтову льодяну Р до зникнення забарвлення розчину та добавляють ще 0,5 мл *кислоти оцтової льодяної Р*. При необхідності, проводять фільтрацію через паперовий фільтр (невеликого діаметра), попередньо обмитий розчином 10 г/л *оцтової кислоти льодяної Р*, а після гарячою водою *Р*, після фільтрування промивають фільтр водою *Р*. Доводять об'єм одержаного розчину водою *Р* до 20 мл і перемішують. До 12 мл фільтрату добавляють 2 мл *буферного розчину рН 3,5* та перемішують, отриману суміш добавляють до 1,2 мл *реативу тіоацетаміду Р* і негайно перемішують (допускається слабка опалесценція розчину).

Для приготування еталону *сірчану кислоту* поміщали *Р* в тигель у кількості, використаній для спалювання екстракту, 2 мл *етанольного розчину свинцю (10 ppm Pb) Р*. Спалюють при тих самих умовах, що і випробовувану речовину, кількісно переносять кислотою хлористоводневою, додають розчин аміаку, після – кислоту оцтову. Доводять об'єм розчину водою *Р* до 20 мл і перемішують. До 10 мл одотриманого розчину додають 2 мл розчину, який був одержаний при обробці випробовуваної речовини, і 2 мл *буферного розчину рН 3,5* та перемішували. Отриману суміш добавляють до 1,2 мл *реативу тіоацетаміду Р* і негайно перемішують.

Готують холостий розчин, використовували суміш 10 мл *води Р* і 2 мл розчину, отриманого при обробці випробовуваної речовини. Еталон повинен бути світло-коричневого кольору в порівнянні з холостим розчином.

Після 2 хв коричневе забарвлення випробовуваного розчину повинно бути не інтенсивнішим, ніж забарвлення еталону.

Мікробіологічна чистота. Фітохімічним засобам характерна мікробна контамінація, тому необхідно проводити контроль кількості життєздатних бактерій та грибів у екстракті. Випробування проводили згідно з вимогами ДФУ, 2.6.12, 2.6.13.

Для виявлення загального числа життєздатних аеробних бактерій 10 г екстракту поміщають в стерильній мірній посудині та доводять до 500 мл стерильною нейтралізуювальною рідиною, яка містить 10 % полісорбату-80 та

20 % ізопропілміристату. По 1 мл приготовленого зразка висівають двошаровим методом на кожну з п'яти чашок Петрі з густим живильним середовищем № 1.

Для виявлення загального числа життєздатних грибів 10 г препарату переносять у стерильну мірну посудину, доводять до 500 мл стерильною нейтралізуювальною рідиною, яка містить 10 % полісорбату-80 та 20 % ізопропілміристату. По 1 мл приготовленого зразка висівали двошаровим методом на кожну з п'яти чашок Петрі з густим живильним середовищем № 2.

Для випробування щодо присутності ентеробактерій та деяких інших грамнегативних бактерій, *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus* 10 г екстракту переносять у стерильну мірну посудину та доводять до 500 мл стерильною нейтралізуювальною рідиною, яка містить 10 % полісорбату-80 та 20 % ізопропілміристату. По 50 мл приготовленого зразка вносять в 500 мл живильних середовищ № 3 і № 8.

Нормування мікробіологічної чистоти препарату встановлено згідно з вимогами ДФУ, 5.1.4, категорія 2.

У препараті допускається загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 1000 мікроорганізмів (бактерій та грибів сумарно) в 1 г.

Не допускається присутність ентеробактерій та деяких інших грамнегативних бактерій в 1 г.

Не допускається присутність *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г.

Не допускається присутність *Staphylococcus aureus* в 1 г.

Склад нейтралізуювального реактиву, який містить 10 % полісорбату-80 та 20 % ізопропілміристату: полісорбат-80 – 100 г, ізопропілміристан – 200 г, лецитин (ячний) – 3 г, гістидину гідрохлорид – 1 г, пептон ферментативний – 1 г, натрію хлорид – 4,3 г, калію дигідрофосфат – 3,6 г, динатрію гідрофосфат дигідрат – 7,2 г, вода очищена – 1000 мл.

Кількісне визначення. Вміст флавоноїдів в екстракті, у перерахунку на лютеолін, має бути не менше 2 %.

Вихідний розчин 1. 0,200 г порібненого до порошку екстракту переносять у колбу ємністю 200 мл, додають 40 мл *етанолу (60 % об/об) Р*, нагрівають на водяній бані при температурі 60 °С упродовж 10 хв, обережно струшують, охолоджують та фільтрують через тампон із вати у мірну колбу місткістю 100 мл. Поміщають тампон із вати із залишком екстракту у ту саму колбу ємністю 200 мл, додають 40 мл *етанолу (60 %, об/об)Р*, знову нагрівають на водяній бані при температурі 60 °С упродовж 10 хв обережно струшують, охолоджують і фільтрують у ту ж мірну колбу ємністю 100 мл. Колбу ємністю 200 мл та фільтр обполіскують *етанолом (60 %, об/об) Р*, промивну рідину поміщають у ту ж мірну колбу ємністю 100 мл, доводять об'єм *етанолом Р (60 %, об/об)* до 100 мл і фільтрують.

Випробуваний розчин. 5.0 мл вихідного розчину 1 переносять у круглодонну колбу та упарюють на сухо під зниженим тиском. Отриманий залишок за допомогою 8 мл розчину *метанол Р – оцтова кислота безводна Р (10:100)* переносять у мірну колбу ємністю 25 мл. Круглодонну колбу обмивають 3 мл суміші *метанол Р – оцтова кислота безводна Р (10:100)* і промивну рідину переносять у ту ж мірну колбу ємністю 25 мл. До отриманого розчину додають 10.0 мл розчину, який містить 25.0 г/л *борної кислоти Р*, 20.0 г/л *щавлевої кислоти Р* у *мурашиній кислоті безводній Р*, і доводять об'єм розчину *оцтовою кислотою безводною Р* до 25,0 мл.

Компенсаційний розчин 1. 5.0 мл вихідного розчину 1 переносять у круглодонну колбу та упарюють насухо під зниженим тиском. Отриманий залишок переносять у мірну колбу ємністю 25 мл за допомогою 8 мл суміші *метанол Р – оцтова кислота безводна Р (10:100)*. Круглодонну колбу обмивають 3 мл суміші *метанол Р – оцтова кислота безводна Р (10:100)* і промивну рідину поміщають у ту ж мірну колбу ємністю 25 мл. До отриманого розчину додають 10.0 мл *мурашиної кислоти безводної Р* і доводять об'єм розчину *оцтовою кислотою безводною Р* до 25.0 мл.

Вихідний розчин 2. 0.015 г (точна наважка) ФСЗ ДФУ лютеолін 7-глюкозиду або 0.010 г (точна наважка) ФСЗ ДФУ лютеоліну поміщають у мірну колбу

ємністю 100 мл, розчиняють у 70 мл *метанолу P*, доводять об'єм розчину тим же розчинником до позначки і перемішують.

Розчин порівняння. 1.0 мл вихідного розчину 2 поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 10.0 мл розчину що містить 25.0 г/л *борної кислоти P*, 20.0 г/л *щавлевої кислоти P* у *мурашиній кислоті безводній P*, і доводять об'єм розчину *оцтовою кислотою безводною P* до 25,0 мл.

Компенсаційний розчин 2. 1.0 мл вихідного розчину 2 поміщають у мірну колбу ємністю 25 мл, додають 10.0 мл *мурашиної кислоти безводної P* і доводять об'єм розчину *оцтовою кислотою безводною P* до 25.0 мл. Оптичну густину випробовуваного розчину вимірюють через 30 хв після приготування за довжини хвилі 410 нм відносно компенсаційного розчину 1. Паралельно вимірюють оптичну густину розчину порівняння відносно компенсаційного розчину 2 [82, 40].

Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на лютеолін і сухий екстракт, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot 20 \cdot P}{A_0 \cdot a_1 \cdot 100} \quad (5.4),$$

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

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

a_0 – маса наважки ФСЗ ДФУ лютеоліну, у грамах,

a_1 – маса наважки випробовуваного екстракту, у грамах,

P – вміст лютеоліну ФСЗ ДФУ у відсотках.

Упаковка. По 1 кг у банки зі скломаси з гвинтовою горловиною та пластмасовими кришками, що нагвинчуються, і прокладками з картону прокладного. Горловину банки разом з кришкою обгортають пергаментом, обв'язують ниткою поліпропіленовою фібрильованою або шпагатом з

луб'яних волокон, армованим хімічною ниткою, на кінці якої наклеюють етикетку із самоклеючого паперу.

Умови зберігання. Зберігають при температурі не вище + 25 °С у місці захищеному від прямих сонячних поменів.

Аналіз сухих модифікованих екстрактів листя шавлії лікарської був проведений згідно з розробленим проєктом методик контролю якості, його результати наведені у табл. 5.3.

Таблиця 5.3

**Результати аналізу сухого екстракту листя шавлії лікарської
модифікованого згідно з проєктом МКЯ**

Показники якості	Допустимі межі	Результати визначення в екстрактах, серія		
		110919	20419	20319
1	2	3	4	5
Опис	Гігроскопічний порошок від світло-коричневого до коричневого кольору, зі специфічним запахом.	Відп.	Відп.	Відп.
Розчинність				
– 96 % етанолі	помірно розчинний	Відп.	Відп.	Відп.
– 50 % етанолі	легко розчинний	Відп.	Відп.	Відп.
– ефірі	дуже мало розчинний	Відп.	Відп.	Відп.
– хлороформі	дуже мало розчинний	Відп.	Відп.	Відп.
– воді	помірно розчинний	Відп.	Відп.	Відп.
Ідентифікація				
Метод А. Флавоноїди гідрокислоричі кислоти (ТШХ)	Згідно з проєктом МКЯ	Відп.	Відп.	Відп.
Метод В. Лізин (ТШХ)	Згідно з проєктом МКЯ	Відп.	Відп.	Відп.

Продовж. табл. 5.3

1	2	3	4	5
Випробування				
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 5 %	3,8	4,3	4,5
Залишкові кількості органічних розчинників: – етанол	Не більше 1,0 %	0,3	0,1	0,2
Важкі метали	Не більше 100 ppm	Відп.	Відп.	Відп.
Мікробіологічна чистота	В 1 г препарату не більше 1000 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій та деяких інших грамнегативних бактерій в 1 г. Не допускається наявність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г. Не допускається наявність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г	Відп.	Відп.	Відп.
Кількісне визначення				
Вміст флавоноїдів	Вміст флавоноїдів, у перерахунку на лютеолін не менше 2 %	2,35	2,38	2,21

Примітка. «+» – екстракт відповідає вимогам проекту МКЯ

За результатами проведеного аналізу можна зробити висновок, що всі сухі модифіковані екстракти з листя шавлії лікарської відповідають вимогам розробленого проекту МКЯ.

Висновки до розділу 5

1. Розроблено проекти МКЯ та згідно з їх вимогами проведено дослідження листя *S. grandiflora*, *S. verticillata* та сухого модифікованого екстракту. Усі об'єкти дослідження відповідали вимогам розробленої документації. Розроблений проєкт МКЯ на сухий модифікований екстракт відтворюється у лабораторних умовах ТОВ «КФК» Грін фарм Косметик» (м. Харків, Україна) та Bupharmexport SRL (м. Брюссель, Бельгія), про що свідчать акти впровадження.

2. Проєкт МКЯ на сухий екстракт шавлії лікарської розроблено за такими показниками: опис, розчинність, ідентифікація (ТШХ: метод А (флавоноїди) та В (амінокислоти), втрата в масі при висушуванні (не більше 10 %), залишкові кількості органічних розчинників (етанол не більше 1,0 %), важкі метали (не більше 100 ppm), мікробіологічна чистота, вміст флавоноїдів (не менше 2 %, у перерахунку на лютеолін).

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Мига М. М., Кошовий О. М., Гамуля О. В., Верховодова Ю. В., Кирєєв І. В., Комісаренко А. М. Порівняльне фармакогностичне та фармакологічне дослідження листя *Salvia verticillata* та *Salvia officinalis* для встановлення перспективи створення нового лікарського засобу. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13. № 1 (32). С. 61-71.
2. Myha M., Koshovyi O., Gamulya O., Ilina T., Borodina N., Vlasova I. Phytochemical study of *Salvia grandiflora* and *Salvia officinalis* leaves for establishing prospects for use in medical and pharmaceutical practice. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2020. № 1 (23). P. 23-28. (Scopus).

3. Tukas A. A., Myga M. M., Koshovyi O. M. Parameters of standardization of the *Salvia officinalis* leaves dry extract. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів: тези доповідей XXIII Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених та студентів*, м. Харків, 21 квіт. 2016 р. Харків. 2016. Вид-во НФаУ. В 2-х.т., Т.1. Р. 127.
4. Myha M. M., Koshovyi O. M., Ilina T. V., Borodina N. V. Parameters of the quantitative determination when standardizing *Salvia grandiflora* leaves. *Sciences and Practice 2019: the 10th International Pharmaceutical Conference*. Lithuania, Kaunas, November 15, 2019. Kaunas. 2019. Р. 86.
5. Мига М. М., Кошовий О. М., Ільїна Т. В., Бородіна Н. В. Визначення параметрів стандартизації листя *Salvia grandiflora*. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю*, м. Харків, 19 вересня 2019 р. Харків. 2019. НФаУ. Т. 1. С. 277-278.
6. Мига М. М., Кошовий О. М., Гамуля О. В., Скибіцька М. І. Мікроскопічний аналіз листя *Salvia grandiflora*. *Planta+. Досягнення та перспективи: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої пам'яті доктора хімічних наук, професора Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження)*, м. Київ, 20-21 лютого 2020 р. Київ. 2020. ПАЛИВОДА А. В. С. 256-259.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено експериментальне вирішення наукових завдань, які реалізуються у фармакогностичному вивченні та стандартизації листя перспективних видів роду Шавлія флори України, а саме *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* і *S. verticillata*, фітохімічному та фармакологічному аналізі екстрактів одержаних на їх основі та показана перспектива створення нових лікарських засобів з протизапальною дією.

1. На базі морфологічних та хімічних характеристик 17 видів шавлій, які присутні у флорі України, було проведено хемотаксономічні дослідження та встановлено чотири основні групи видів та створені передумови для цілеспрямованого пошуку біологічно активних речовин серед представників цього роду. Враховуючи поширеність цих видів на території України та перспективи введення у культуру для подальших досліджень було обрано сировину *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*.

2. Для листя *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata* проведено макро- та мікроскопічні дослідження та виділені основні діагностичні ознаки кожного виду.

3. Проведений аналіз елементного складу листя *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*. У листі *S. officinalis*, *S. grandiflora* та *S. pratensis* було ідентифіковано 15 амінокислот (домінуючими є глютамінова та аспарагінова кислота, пролін і лейцин), у листі *S. verticillata* було ідентифіковано 14 амінокислот (домінуючими є глютамінова кислота, аспарагінова кислота, валін та лейцин). У листі *S. officinalis*, *S. grandiflora*, *S. pratensis* і *S. verticillata* серед ідентифікованих амінокислот 6 є незамінними, їх вміст становить 37,03; 39,34; 38,15 та 45,45 % від загальної кількості амінокислот відповідно. Ідентифіковано та визначено кількісний вміст 17 речовин фенольної природи, з них 6 речовин флавоноїдної природи, 3 гідроксикоричні кислоти та 8 сальвіанолових кислот. Загальний вміст гідроксикоричних кислот найбільший у листі *S. grandiflora* та становить $4,49 \pm 0,21$ мг/г, що в 3,57 рази більше ніж у фармакопейному виді *S. officinalis*.

($1,26 \pm 0,05$ мг/г), що вказує на доцільність використання листя *S. grandiflora* як джерела гідроксикоричних кислот, зокрема розмаринової кислоти. Найбільший вміст суми всіх виявлених сполук фенольної природи характерний для листя *S. verticillata* та становить $9,50 \pm 0,42$ мг/г, що в 1,37 рази більше ніж у фармакопейному виді *S. officinalis* ($6,92 \pm 0,33$ мг/г). Ідентифіковано та визначено кількісний вміст 8 сапонінів. Загальний вміст сапонінів найбільший у листі *S. verticillata* та становить $1508,75 \pm 65,44$ мг/100 г. Виявлено 243 летких сполуки, з яких ідентифіковано 149. Домінуючими сполуками серед речовин терпеноїдної природи є: циклофенхен, камфен, 1,8-цинеол, α - та β -туйон, камфора борнеол, каріофілен, гумулен, вірідифлорол, сабінен, піранон, β -пінен, фітол, колавенол, β -копаєн, лоліолід, псевдолімонен та спатуленол. Серед домінуючих речовин 8 були виявлені вперше: циклофенхен, вірідифлорол, сабінен, піранон, фітол, колавенол, лоліолід та псевдолімонен.

4. Розроблено схему одержання сухих екстрактів з сировини листя *S. officinalis*. Опрацьовану технологію було використано для одержання модифікованих сухих екстрактів з листя *S. grandiflora* та *S. verticillata*.

5. Для одержаних екстрактів проведено дослідження складу фенольних сполук, амінокислот. У одержаних модифікованих екстрактах ідентифіковано та визначено кількісний вміст 17 речовин фенольної природи та 15 амінокислот. Домінуючими сполуками у всіх екстрактах були рутин, апігенін, лютеолін-7-О-глюкозид та розмаринова кислота.

6. Дослідження протизапальної активності одержаних екстрактів доводить, що максимальна протизапальна активність характерна для екстракту, який модифікований амінокислотою L-лізином, та становить 93 % у дозі 50 мг/кг, що вказує на перспективність використання цієї субстанції для створення нових перспективних лікарських засобів з протизапальною дією. Всі одержані екстракти проявляють виражену антимікробну дію щодо *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *C. albicans*, *P. aeruginosa* та *P. vulgaris*, а введення амінокислоти лізин призводить до збільшення антимікробної активності.

7. Розроблено проекти МКЯ та згідно з їх вимогами проведено дослідження листя *S. grandiflora*, *S. verticillata* та сухого модифікованого екстракту з листя *S. officinalis*. Проект МКЯ на сухий екстракт шавлії лікарської розроблено за такими показниками: опис, розчинність, ідентифікація (ТШХ: метод А (флавоноїди) та В (амінокислоти)), втрата в масі при висушуванні (не більше 5 %), залишкові кількості органічних розчинників (етанол не більше 1,0 %), важкі метали (не більше 100 ppm), мікробіологічна чистота, вміст флавоноїдів (не менше 2 % у перерахунку на лютеолін).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Амінокислотний та цукровий склад спиртового екстракту з листя шавлії лікарської / О. М. Кошовий та ін. *Вісник фармації*. 2011. № 1 (65). С. 49–52.
2. Аналіз мікроелементного складу представників роду *Salvia* флори України / М. М. Мига та ін. *Науково–технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VII наук.–практ. конф. з міжнар. участю, 27–28 верес. 2018 р. Тернопіль : ТДМУ «Укрмедкнига», 2018. С. 30–32.
3. Антибиотические свойства лютеолина / Н. В. Попова и др. *Український біофармацевтичний журнал*. 2011. № 6. С. 4–11.
4. Верховодова Ю. В. Антибактеріальна активність похідних екстрактів шавлії лікарської. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція* : матеріали I наук.–практ. інтернет–конф. з міжнар. участю. Харків, 2018. С. 66.
5. Верховодова Ю. В. Визначення гострої токсичності похідних екстрактів шавлії лікарської (*Salvia officinalis*). *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. 48.
6. Верховодова Ю. В. Дослідження протизапальної активності екстрактів *S. Officinalis* на моделі зимозанового набряку. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція* : тези доп. III наук.–практ. інтернет–конф. з міжнар. участю, 19 листоп. 2020 р. Харків, 2020. С. 74.
7. Вивчення гострої токсичності вперше отриманих екстрактів шавлії лікарської / Ю. В. Верховодова та ін. *Art of Medicine*. 2019. № 2 (10). Р. 20–24.
8. Визначення параметрів стандартизації листя *Salvia grandiflora* / М. М. Мига та ін. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку*: матеріали наук.–практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 19 верес. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 277–278.

9. Вовк Г. В. Фітохімічне дослідження продуктів комплексної переробки шавлії лікарської : автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук : 15.00.02. Запоріжжя, 2017. 23 с.
10. Вовк Г. В., Кошовий О. М., Комісаренко А. М. Амінокислотний та моноцукровий склад сухого екстракту з листя шавлії лікарської отриманого шляхом комплексної переробки. *Вісник фармації*. 2016. № 1. С. 33–36.
11. Вовк Г. В., Мыга М. М., Кошевой О. Н. Исследование сухого экстракта из листьев шалфея лекарственного полученного после производства эфирного масла. *Вестник Южно-Казахстанской государственной фармацевтической академии*. 2014. № 3 (68). С. 40–43.
12. Вовк Г. В., Мыга М. М., Кошевой О. Н. Стандартизации сухого экстракта листьев шалфея лекарственного полученного комплексной переработкой после производства настойки. *Вестник пермской государственной фармацевтической академии*. 2015. № 15. С. 207–209.
13. Вовк Г. В., Мыга М. М., Кошовий О. М. Розробка параметрів стандартизації сухого екстракту листя шавлії лікарської після виробництва ефірної олії. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали I Міжнар. наук.–практ. інтернет–конф., м. Харків, 7–8 листоп. 2014 р. Харків : НФаУ, 2014. С. 43.
14. Гудзь Н. І., Шанайда М. І., Дармограй Р. Є. Шавлія лікарська (*Salvia officinalis* L.): перспективи використання сировини як джерела рослинних препаратів антиоксидантної та антимікробної дії. *News of pharmacy*. 2020. № 2. Р. 11–19.
15. Державна Фармакопея України / ДП «Науково–експертний фармакопейний центр». 1–е вид., 2 допов. Харків : РІРЕГ, 2008. 620 с.
16. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 1–е вид., 4 допов. Харків : РІРЕГ, 2011. 540 с.
17. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–ге вид. Харків : ДП

- «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.
18. Державна фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 3. 732 с.
19. Державний реєстр лікарських засобів України (2019). URL: <http://www.drlz.com.ua> (дата звернення: 04.02.2021).
20. Дослідження антиексудативної активності екстрактів з листя *Salvia officinalis* / Ю. В. Верховодова та ін. *Медична та клінічна хімія*. 2019. Т. 21, № 4. С. 54–60.
21. Дослідження впливу екстрактів листя шавлії лікарської на діурез у щурів / Ю. В. Верховодова та ін. *Pharmacology and Drug Toxicology*. 2019. № 4. Р. 249–254.
22. Дослідження поліфенольних сполук гідрофільного екстракту з листя *Eucalyptus viminalis* / О. М. Кошовий та ін. *Фармацевтичний часопис*. 2008. № 4. С. 29–32.
23. Дослідження протизапальної активності полісахаридного комплексу з пагонів багна звичайного / К. С. Толмачова та ін. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 2 (59). С. 71–74.
24. Дослідження фенольних сполук листя евкаліпта / О. М. Кошовий та ін. *Фармаком*. 2005. № 2/3. С. 151–161.
25. Дослідження фенольних сполук листя нефармакопейних видів роду *Salvia* флори України / М. М. Мига та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. № 3. С. 291–297. DOI: <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2019.3.184191>.
26. Дослідження фенольних сполук листя шавлії лікарської / О. М. Кошовий та ін. *Фармацевтичний часопис*. 2010. № 1. С. 17–19. DOI: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2010.1.2769>.

- 27.Изучение противовоспалительной активности производных экстракта шалфея / Ю. В. Верховодова и др. *Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали I Міжнар. наук.–практ. конф., м. Харків, 30–31 берез. 2017 р. Харків : НФаУ, 2017. Т. 2. С. 89.
- 28.Исследование фенольного состава густых экстрактов из листьев шалфея лекарственного / М. М. Мыга и др. *Человек и лекарство* : сб. материалов XXII Росс. нац. конгр., г. Москва, 6–10 апр. 2015 г. Москва, 2015. № 22. С. 232–233.
- 29.Исследование химического состава и фармакологической активности экстрактов, полученных при комплексной переработке листьев шалфея лекарственного / О. Н. Кошевой и др. *Азербайджанский фармацевтический и фармакотерапевтический журнал*. 2015. № 1. С. 30–34.
- 30.Кієнко Л. С., Гриценко В. І., Мига М. М. Фізико-хімічні дослідження розчинності рослинних екстрактів з метою створення комбінованого лікарського засобу для лікування дерматитів. *Косметологія та аромологія: етапи становлення і майбутнє* : зб. наук. пр. Харків, 2018. С. 61.
- 31.Компендиум 2014 – лекарственные препараты / под ред. В. Н. Коваленко. Киев : Морион, 2014. 2700 с.
- 32.Кошовий О. М. Сучасні підходи до створення лікарських засобів на основі рослин родів евкаліпт та шавлія : автореф. дис. ... д-ра фармацевт. наук : спец. 15.00.02 «Фармацевтична хімія та фармакогнозія». Харків : НФаУ, 2013. 41 с.
- 33.Кошовий О. М. Терпеноїдний склад деяких представників підроду Eusalvia роду Salvia. *Фармацевтичний часопис*. 2012. № 3. С.46–50.
- 34.Кошовий О. М. Терпеноїдний склад листя деяких представників підроду Sclarea роду Salvia. *Біофармацевтичний журнал*. 2012. № 1–2. С. 77–81.
- 35.Кошовий О. М. Фенольний склад деяких представників підроду Sclarea роду Salvia. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2012. № 3. С. 11–14.

36. Лікарські рослини : енциклопедичний довідник / за ред. акад. АН УРСР Л. М. Гродзинського. Київ : Українська Енциклопедія ім. Н. П. Бажана, 1992. 544 с.
37. Мига М. М., Вовк Г. В., Кошовий О. М. Фенольный состав сухого экстракта з листя шавлії лікарської. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : матеріали Всеукр. наук.–практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 22–23 квіт. 2014 р. Харків : НФаУ, 2014. С. 39.
38. Мига М. М., Кошовий О. М. Дослідження фенольного складу сухих екстрактів з листя шавлії лікарської. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2014. Вип. 23, № 4. С. 332–336.
39. Мига М. М., Кошовий О. М. Фенольний склад листя шавлії лікарської. *Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій* : матеріали Укр. наук.–практ. конф., присвяч. 100–річчю з дня народж. д–ра хім. наук, проф. Павла Олексійовича Петюніна, м. Харків, 24–25 квіт. 2014 р. Харків, 2014. С. 115.
40. Мига М. М., Кошовий О. М., Верховодова Ю. В. Дослідження фенольного складу та протизапальної активності сухого екстракту з листя шавлії лікарської. *Матеріали VIII Національного з'їзду фармацевтів, м. Харків, 13–16 верес. 2016 р. : в 2-х т.* Харків, 2016. Т. 1. С. 116.
41. Мікроелементний, амінокислотний та полісахаридний склад листя евкаліпта / О. М. Кошовий та ін. *Фітотерапія. Часопис*. 2005. № 3. С. 59–62.
42. Мікроскопічний аналіз листя *Salvia grandiflora* / М. М. Мига та ін. *PLANTA+. Досягнення та перспективи* : матеріали Міжнар. наук.–практ. конф., присвяч. пам'яті д–ра хім. наук, проф. Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження), м. Київ, 20–21 лют. 2020 р. Київ : Паливода А. В., 2020. С. 256–259.
43. Мікроскопічні дослідження пагонів *Salix cinerea* L. флори України / Н. В. Бородіна та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. № 3. С. 276–285.
44. Мінарченко В. М. Бутко, А. Ю. Дослідження вітчизняного ринку лікарських

- засобів рослинного походження. *Фармацевтичний журнал*. 2017. № 1. С. 30–36.
- 45.Мыга М. М., Вовк Г. В., Кошевой О. Н. Исследование фенольного состава сухого экстракта из листьев шалфея лекарственного полученного путем комплексной переработки. *Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты* : материалы IX Междунар. симп., г. Москва, 20–25 апр. 2015 г. Москва, 2015. С. 617–619.
- 46.Мыга М. М., Романенко Е. А., Кошевой О. Н. Исследование фенольных соединений спиртового экстракта листьев шалфея лекарственного. *Вестник пермской государственной фармацевтической академии*. 2013. № 11. С. 114–115.
- 47.Никитюк Ю. А. Організаційно–економічні важелі державного стимулювання імпортозаміщення на ринку лікарської рослинної сировини. *Збалансоване природокористування*. 2016. № 4. С. 202–207.
- 48.Ніженковська І. В., Цуркан О. О., Седько К. В. Шавлія лікарська – сучасні аспекти застосування (Огляд літератури). *Фітотерапія. Часопис*. 2014. № 2. С. 58–61.
- 49.Особенности химического состава видов рода *Salvia* L. / В. С. Доля и др. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2013. № 3 (13). С. 83–85.
- 50.Порівняльне фармакогностичне та фармакологічне дослідження листя *Salvia verticillata* та *Salvia officinalis* для встановлення перспективи створення нового лікарського засобу / М. М. Мига та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, № 1 (32). С. 61–71.
- 51.Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование / под ред. В. Л. Комарова. Санкт–Петербург : Наука, 1991. 200 с.
- 52.Розробка методу стандартизації нового лікарського засобу піфламін / А. М. Ковальова та ін. *Фармаком*. 2002. № 2. С. 92–97.

- 53.Скибіцька М. І. Перспективи інтродукції лікарських та декоративних рослин з родини Lamiaceae у Західному Лісостепу України. *Науковий вісник НЛТУ України*. 2013. Вип. 23, № 10. С. 40–45.
- 54.Спосіб моделювання коліту з дисбіотичними порушеннями : пат. 140188 Україна. № u 201907465 ; заявл. 04.07.2019 ; опубл. 10.02.2020, Бюл. № 3. 9 с.
- 55.Спосіб одержання засобу з листя шавлії лікарської з антимікробною та протизапальною активністю : пат. 92310 Україна. № u 201402605 ; заявл. 14.03.2014 ; опубл. 11.08.14, Бюл. № 15. 4 с.
- 56.Спосіб одержання засобу з листя шавлії лікарської шляхом комплексної переробки : пат. 110990 Україна. № а 201402604 ; заявл. 14.03.2014 ; опубл. 10.032016, Бюл. № 5. 4 с.
- 57.Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю : пат. 121367 Україна. № а 201904796 ; заявл. 06.05.2019 ; опубл. 12.05.2020, Бюл. № 8. 3 с.
- 58.Спосіб одержання сухого екстракту з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю : пат. 138320 Україна. № u 201904814 ; заявл. 06.05.2019 ; опубл. 25.11.2019, Бюл. № 22. 4 с.
- 59.Стандартизация по сумме флавоноидов в фармацевтической разработке препаратов природного происхождения / Н. И. Гудзь и др. *Рецепт*. 2019. Т. 22, № 1. С. 15–27.
- 60.Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. Київ : Авіцена, 2001. 528 с.
- 61.Стефанов А. В. Доклинические исследования лекарственных препаратов : метод. рек. Киев : Авиценна, 2002. 568 с.
- 62.Терпеноїдний склад листя деяких видів шавлій України / О. М. Кошовий та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2012. № 2. С. 13–18.
- 63.Фенольний склад листя деяких видів шавлій України / О. М. Кошовий та ін. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2012. Вип. 21, кн. 4. С. 305–310.

64. Фітохімічний профіль та протизапальна активність сухих екстрактів з листя шавлії лікарської / М. М. Мига та ін. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 4. С. 38–41.
65. Хемотаксономічне дослідження роду *Crataegus* L. / Н. В. Сидора та ін. *Ліки та життя* : Міжнар. мед.–фармацевт. конгр. Київ, 2007. С. 108–109.
66. Хромато–мас-спектрометричне дослідження летких сполук ефірної олії трави різних видів роду *Salvia* L. / О. М. Семенченко та ін. *Фармацевтичний журнал*. 2013. № 1. С. 62–65.
67. Чайка Н. Б., Голембіовська О. І., Кошовий О. М. Дослідження сапонінового складу листя мучниці. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VII наук.–практ. конф. з міжнар. участю, 27–28 верес. 2018 р. Тернопіль : ТДМУ «Укрмедкнига», 2018. С. 50–51.
68. Чернявський А. В. Терентьева Н. Г. Изучение видов рода *Salvia* L. Флоры Украины при помощи дискриминального анализа. *Український ботанічний журнал*. 1987. Т. 44, № 5. С. 63–67.
69. Шалфей– *Salvia*. *Флора СССР* : в 30 т. / под ред. В. Л. Комарова. Москва ; Ленинград, 1954. Т. 21. С. 244–374.
70. Шанайда М. І. Визначення якісного складу та кількісного вмісту вуглеводів у траві представників родини *Lamiaceae* Juss. *Фармацевтичний часопис*. 2015. № 4. С. 13–18.
71. Akhondzadeh S., Abbasi S. H. Herbal medicine in the treatment of Alzheimer's disease. *Am. J. Alzheimers Dis. Other Demen.* 2006. Vol. 21, № 2. P. 113–118.
72. Antidiarrheal and antispasmodic activities of *Salvia officinalis* are mediated through activation of K⁺ channels / A. Khan et al. *J. Bangladesh Pharmacol. Soc.* 2011. № 6. P. 111–116.
73. Anti-inflammatory and analgesic properties of salvigenin, *Salvia officinalis* flavonoid extracted / A. H. Mansourabadi et al. *Advanced Herbal Medicine*. 2015. Vol. 1, № 3. P. 31–41.

74. Anti-inflammatory, antioxidant and anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity of viridiflorol: the major constituent of *Allophylus edulis* (A. St.-Hil., A. Juss. & Cambess.) Radlk / L. F. N. Trevizana et al. *Journal of Ethnopharmacology*. 2016. № 192. P. 510–515.
75. Antimicrobial activity of noncytotoxic concentrations of *Salvia officinalis* extract against bacterial and fungal species from the oral cavity / J. R. de Oliveira et al. *Gen. Dent.* 2019. Vol. 67, № 1. P. 22–26.
76. Antinociceptive and anti-inflammatory potential of extract and isolated compounds from the leaves of *Salvia officinalis* in mice / M. R. Rodrigues et al. *J. Ethnopharmacol.* 2012. Vol. 31, № 139 (2). P. 519–526.
77. Antioxidant activity of essential oils obtained from aerial part of some Lamiaceae species / M. Shanaida et al. *International Journal of Green Pharmacy*. 2018. № 12 (3). P. 200–204.
78. Antioxidant capacity and polyphenolic composition as quality indicators for aqueous infusions of *Salvia officinalis* L. / S. Walch et al. *Front Pharmacol.* 2011. № 2. P. 29.
79. Antioxidant phenolic compounds in *Salvia officinalis* L. and *Salvia sclarea* L. / I. Jasicka-Misiak et al. *Ecological Chemistry and Engineering*. 2018. Vol. 25, № 1. P. 133–142.
80. Barauskiene R., Dambrauskiene E., Venskutonis P. Influence of harvesting time on the yield and chemical composition of sage (*Salvia officinalis* L.). *Foodbalt*. 2011. P. 105–109. URL: <https://llufb.llu.lv/conference/foodbalt/2011/FOODBALT-Proceedings-2011-104-109> (Date of access: 04.02.2021).
81. Beheshti-Rouy M., Azarsina M., Rezaie-Soufi L. The antibacterial effect of sage extract (*Salvia officinalis*) mouthwash against *Streptococcus mutans* in dental plaque: a randomized clinical trial. *Iran J. Microbiol.* 2015. Vol. 7, № 3. P. 173–177.

82. Bioactive phytochemicals from shoots and roots of *Salvia* species / A. R. Jassbi et al. *Phytochem. Rev.* 2016. P. 829–867. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11101-015-9427-z> (Date of access: 04.02.2021).
83. Bioactive profile of various *Salvia officinalis* L. preparations / M. Jakovljević et al. *Plants*. 2019. Vol. 8, № 55. DOI: 10.3390/plants8030055 (Date of access: 04.02.2021).
84. Bioassay-guided isolation of anti-*Candida* biofilm compounds from methanol extracts of the aerial parts of *Salvia officinalis* (Annaba, Algeria) / N. Kerkoub et al. *Front. Pharmacol.* 2018. Vol. 10, № 9. P. 1418. DOI: 10.3389/fphar.2018.01418. (Date of access: 04.02.2021).
85. Bioecological features of plants species of *Salvia* L. Genus under conditions of the forest-steppe zone of Ukraine / O. Korablova et al. *Agrobiodiversity for Improve the Nutrition, Health and Quality of Human and Bees Life : Book of Abstracts of the 4th International Scientific Conference, Nitra, 11–13 September, 2019. Nitra, 2019. P. 102.*
86. Bjarnason I., Scarpignato C. Mechanisms of Damage to the Gastrointestinal Tract From Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Gastroenterology*. 2018. № 154. P. 500–514. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.10.049> (Date of access: 04.02.2021).
87. Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia / M. R. Khedher et al. *EXCLI J.* 2017. Vol. 16. P. 160–173.
88. Chemical constituents and antimicrobial activity of the ethanol extracts obtained from the flower, leaf and stem of *Salvia officinalis* L. / A. Velickovic et al. *J. Serb. Chem. Soc.* 2003. Vol. 68, № 1. P. 126–131.
89. Chemistry, pharmacology, and medicinal property of sage (*salvia*) to prevent and cure illnesses such as obesity, diabetes, depression, dementia, lupus, autism, heart disease, and cancer / Mohsen Hamidpour et al. *Journal of traditional and complementary medicine*. 2014. № 4 (2). P. 82–88.
90. Comparative study of the antioxidant activities of eleven *Salvia* species / G. Janicsak et al. *Nat. Prod. Comm.* 2010. № 5. P. 227–230.

91. Comparison of essential oil composition and phenolic acid content of selected *Salvia* species measured by GC–MS and HPLC methods / B. Li et al. *Industrial Crops and Products*. 2015. Vol. 69. P. 329–334.
92. Composition of the Essential Oil of *Salvia longipedicellata* from Turkey / H. Ozer et al. *Химия природных соединений*. 2007. № 2. С. 175–179.
93. Constituents from *Salvia* species and their biological activities / Y. B. Wu et al. *Chem. Rev.* 2012. № 112. P. 5967–6026.
94. Contemporary approaches to the search for plant biological active substances and to determination of the plants place in the phylogenetic system on the basis of multidimensional taxonomy analysis techniques / A. M. Kovalyova et al. *The Regional Conference and Scientific Exhibition on Medicinal, Aromatic and Poisonous Plants*. Sana'a, 2007. P. 77–78.
95. Current approaches toward production of secondary plant metabolites / Md. S. Hussain et al. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*. 2012. Vol. 4, № 1. P. 12–20.
96. Cytotoxic, antioxidant and antimicrobial activities and phenolic contents of eleven *Salvia* species from Iran / O. Firuzi et al. *Iran. J. Pharm. Res.* 2013. № 12. P. 801–810.
97. De Falco B. NMR spectroscopy and Mass Spectrometry in metabolomics analysis of *Salvia*. *Phytochemistry Reviews*. 2018. Vol. 17, № 5. P. 951–972.
98. Divinatorins A–C, new neoclerodane diterpenoids from the controlled sage *Salvia divinorum* / A. K. Bigham et al. *J. Natur. Prod.* 2003. Vol. 66, № 9. P. 1242–1244.
99. *Doklyny cheskye yssledovanyia lekarstvennykh preparatov : metodicheskye rekomendatsyy* / ed. by A. V. Stefanova. Kiev : Avytsenna, 2002. 527 p.
100. Effect of sage extract (*Salvia officinalis*) on growth performance, blood parameters, oxidative stress and DNA damage in partridges / S. Yurtseven et al. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 2008. № 38. P. 145–152.
101. Eidi M., Eidi A., Bahar M. Effects of *Salvia officinalis* L. (sage) leaves on memory retention and its interaction with the cholinergic system in rats. *Nutrition*. 2006. № 22. P. 321–326.

102. Eidi M., Eidi A., Zamanizadeh H. Effect of *Salvia officinalis* L. leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 2005. № 100. P. 310–313.
103. Ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacology of Chinese *Salvia* species: a review / J. Xu et al. *J. Ethnopharmacol.* 2018. № 225. P. 18–30. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.06.029> (Date of access: 04.02.2021).
104. European Pharmacopoeia. 8.0. 2014. URL: https://www.edqm.eu/medias/fichiers/index_english (Date of access: 04.02.2021).
105. European Union herbal monograph on *Salvia officinalis* L., folium. European Medicines Agency (EMA). 2016. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-monograph/final-european-union-herbal-monograph-salvia-officinalis-l-folium-revision-1_en. (Date of access: 04.02.2021).
106. Evaluation of antioxidant activity and phenolic content in different *Salvia officinalis* L. extracts / A.-V. Pop (Cuceu) et al. *Bulletin UASVM Food Science and Technology*. 2015. № 72, № 2. P. 210–214.
107. Extraction of carnosic acid and carnosol from sage (*Salvia officinalis* L.) leaves by supercritical fluid extraction and their antioxidant and antibacterial activity / V. Pavić et al. *Plants*. 2019. № 8 (1). P. 16.
108. Fenolnyi sklad lystia deiakykh vydiv shavlii Ukrainy / O. M. Koshovyi et al. *Zbirnyk naukovykh prats spivrobitnykiv NMAPO im. P. L. Shupyka*. 2012. Vol. 21, kn. 4. P. 305–310.
109. Ghorbani A., Esmaeilizadeh M. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *J. Tradit. Complement. Med.* 2017. Vol. 7, № 4. P. 433–440.
110. Glucosidase enzyme inhibitory effects and ursolic and oleanolic acid contents of fourteen Antolian *Salvia* species / Z. Kalaycioglu et al. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2018. № 155. P. 284–287.
111. Gorczyca P., Manniello M. NSAIDs: Balancing the Risks and Benefits. *US Pharmacist*. 2016. Vol. 41, № 3. P. 24–27.

112. Identification of new compounds from sage flowers (*Salvia officinalis* L.) as markers for quality control and the influence of the manufacturing technology on the chemical composition and antibacterial activity of sage flower extracts / S. Gericke et al. *J. Agric. Food Chem.* 2018. Vol. 28, № 66 (8). P. 1843–1853.
113. Jash S. K., Gorai D., Roy R. *Salvia* genus and triterpenoids. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 2016. № 7. P. 4710–4732.
114. Kamatou G. P., Viljoen A. M., Steenkamp P. Antioxidant, anti-inflammatory activities and HPLC analysis of South African *Salvia* species. *Food Chemistry*. 2010. Vol. 119, № 2. P. 684–688.
115. Key to Higher Plants of Ukraine / D. N. Dobrochaeva et al. 2nd ed. Kiev : Science Dumka, 1999. 546 p.
116. Khalil S. R. Antimicrobial activity of essential oil of *Salvia officinalis* L. collected in Syria. *African Journal of Biotechnology*. 2011. Vol. 10, № 42. P. 8397–8402.
117. Kharazian N. Identification of flavonoids in leaves of seven wild growing *Salvia* L. (Lamiaceae) species from Iran. *Progress in Biological Sciences*. 2013. Vol. 3, № 2. P. 81–98.
118. Khare R. Exploring the potential effect of methanolic extract of *Salvia officinalis* against UV exposed skin aging: in vivo and in vitro model. *Curr Aging Sci.* 2019. Vol. 8. DOI: 10.2174/1874609812666190808140549. (Date of access: 04.02.2021).
119. Koshovyi O. M. Suchasni pidkhody do stvorennia likarskykh zasobiv na osnovi roslyn rodiv Evkalipt ta Shavliia : avtoref. dys. na zdobut-tia nauk. stup. dok. farm. nauk: spets. 15.00.02 «Farmatsevtichna khimiia ta farmakohnoziia». Kharkiv, 2013. 39 p.
120. Koshovyi O. N. Amino-acid and monosaccharide compositions of *Salvia officinalis* leaves. *Chem. Nat. Compd.* 2011. P. 492–493. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10600-011-9976-3> (Date of access: 04.02.2021).
121. Lopresti A. L. *Salvia* (sage): a review of it potential cognitive-enhancing and protective effects. *Drugs R D.* 2017. № 17. P. 53–64.

122. Lu Yinrong, Foo L. Yeap. Rosmarinic acid derivatives from *Salvia officinalis* L. *Phytochemistry*. 1999. Vol. 51, № 1. P. 24–28.
123. Martynenkov A., Myga M., Koshoviy O. Chemical composition research of the *salvia officinalis* leaves dry extract getting after essential oil production. *Topical issues of new drugs development : Abstracts of International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student*, Kharkiv, April 23, 2015. Kharkiv : NUPh, 2015. P. 88.
124. Nikavar B., Abolhasani L., Izadpanah H. Alpha-amylase inhibitory activities of six *salvia* species. *Iran. J. Pharm. Res.* 2008. № 7. P. 297–303.
125. Parameters of the quantitative determination when standardizing *Salvia grandiflora* leaves/ M. M. Myha et al. *Sciences and Practice 2019 : the 10th International Pharmaceutical Conference*, Kaunas, Lithuania, 15th November, 2019. Kaunas, 2019. P. 86.
126. Phenolic compounds of herbal infusions obtained from some species of the Lamiaceae family / M. Shanaida et al. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 2018. Vol. 31, № 4. P. 194–199.
127. Phytochemical evaluation of some *Salvia* species from Romanian flora / M. Coisin et al. *Analele Stiintifice ale Universitatii Biologievegetala*. 2012. Vol. 58, № 1. P. 35–44.
128. Phytochemical profiles and in vitro immunomodulatory activity of ethanolic extracts from *Galium aparine* L. / T. Ilina et al. *Plants*. 2019. Vol. 8, № 12. P. 541. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants8120541> (Date of access: 04.02.2021).
129. Phytochemical study and biological activity of sage (*Salvia officinalis* L.) / M. Abdelkader et al. *Journal of Bioengineering and Life Sciences*. 2014. Vol. 8, № 11. P. 1253–1257.
130. Phytochemical study of *Salvia grandiflora* and *Salvia officinalis* leaves for establishing prospects for use in medical and pharmaceutical practice / M. M. Myha et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2020. № 1 (23). P. 23–28.
131. Phytochemical study of the dry extract from bilberry leaves / O. M.

- Koshovyi et al. *Azerbaijan Pharmaceutical and Pharmacotherapy Journal*. 2016. Vol. 16, № 1. P. 18–23.
132. Positive modulation of mood and cognitive performance following administration of acute doses of *Salvia lavandulaefolia* essential oil to healthy young volunteers / N. T. Tildesley et al. *Physiol. Behav.* 2005. Vol. 83, № 5. P. 699–709.
 133. Pro-angiogenic actions of Salvianolic acids on in vitro cultured endothelial progenitor cells and chick embryo chorioallantoic membrane model / Yu-Juan Li et al. *Journal of Ethnopharmacology*. 2010. Vol. 131, № 10. P. 562–566.
 134. Prospects of new drugs creation based on the extracts from *Salvia officinalis* leaves / O. N. Koshovyi et al. *Oxford Review of Education and Science*. 2016. № 1 (11). P. 474–478.
 135. Raal A., Orav A., Arak E. Composition of the essential oil of *Salvia officinalis* L. from various European countries. *Nat. Prod. Res.* 2007. Vol. 21. P. 406–411. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786410500528478> (Date of access: 04.02.2021).
 136. Ramasubramania R. Medicinally potential plants of Labiatae (Lamiaceae) family: an overview. *Research Journal of Medicinal Plants*. 2012, № 6. P. 203–213.
 137. Rami K., Li Z. Antimicrobial activity of essential oil of *Salvia officinalis* L. collected in Syria. *Afr. J. Biotech.* 2011. № 10. P. 8397–8402.
 138. Research into chemical composition and anti-inflammatory activity of the sage leaves alcoholic extract / O. N. Koshovyi et al. *Science, Education and Culture in Eurasia and Africa : Proceedings of the 6th International Academic Congress, Paris, 23–25 March 2016*. Paris, 2016. P. 578–582.
 139. *Salvia officinalis* extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomized and placebo-controlled trial / S. Akhondzadeh et al. *J. Clin. Pharm. Ther.* 2003. Vol. 28, № 1. P. 53–59.

140. Saponins of the extracts of *Galium aparine* and *Galium verum* / I. L. Shynkovenko et al. *Вісник фармації*. 2018. № 4. С. 16–23. DOI: <https://doi.org/10.24959/nphj.18.2225> (Date of access: 04.02.2021).
141. Shamnas M., Kumar R., Teotia U. Antioxidant and anti-inflammatory activity of methanol extract of *Salvia officinalis* flowers. *American Journal of PharmTech Research*. 2014. Vol. 4, № 2. P. 166–175.
142. Shanaida M., Pryshlyak A., Golembiovskaya O. Determination of triterpenoids in some Lamiaceae species. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2018. № 7. P. 3113–3118.
143. Shyamal K. J. *Salvia* genus and triterpenoids. *IJPSR*. 2016. Vol. 7, № 12. P. 4710–4732.
144. Study of macro- and microelements composition of *Veronica longifolia* L. herb and *Veronica teucrium* L. herb and rhizomes, and extracts obtained from these species / A. P. Osmachko et al. *Azerbaijan Pharmaceutical and Pharmacotherapy Journal*. 2017. Vol. 1. P. 24–28. URL: <http://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/20611> (Date of access: 04.02.2021).
145. Study of molecular mechanism of *Salvia* species in prevention of diabetes / R. Mahdizadeh et al. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 2018. № 9. P. 4512–4521.
146. Terpenoidnyi sklad lystia deiakykh vydiv shavlii Ukrainy / O. M. Koshovyi et al. *Aktualni pytannia farmatsevtichnoi i medychnoi nauky ta praktyky*. 2012. № 2. P. 13–18.
147. The effect of common sage extracts on the intestinal microbiota in experimental infectious colitis / Yu. Verkhovodova et al. *Georgian Medical News*. 2020. № 4 (301). P. 165–170.
148. The effect of extraction solvents, temperature and time on the composition and mass fraction of polyphenols in dalmatian wild sage (*Salvia officinalis* L.) extracts / M. Dent et al. *Food Tehnology and Biotehnology*. 2013. Vol. 51, № 1. P. 84–91.

149. The phytochemical and chemotaxonomic study of *Salvia* spp. growing in Ukraine / O. N. Koshovyi et al. *J. Appl. Biol. Biotech.* 2020. Vol. 8, № 3. P. 29–36. DOI: 10.7324/JABB.2020.80306 (Date of access: 04.02.2021).
150. The Plant List (2019). URL: <http://www.theplantlist.org> (Date of access: 04.02.2021).
151. The search for new sources of triterpene saponins among the representatives of the *Salvia* genus in the flora of Ukraine / M. M. Myha et al. *Sciences and Practice 2018* : the 9th International Pharmaceutical Conference, dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy, Kaunas, Lithuania, 09th November, 2018. Kaunas, 2018. P. 39.
152. The study of the chemical composition and pharmacological activity of *Salvia officinalis* leaves extracts getting by complex processing / O. N. Koshovyi et al. *Azerbaijan Pharmaceutical and Pharmacotherapy Journal.* 2015. № 15 (1). P. 30–34. DOI: <https://doi.org/10.24959/nphj.16.2071> (Date of access: 04.02.2021).
153. Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: The relevance of ursolic acid / D. Baricevic et al. *J. Ethnopharmacol.* 2001. № 75. P. 125–132.
154. Tukas A. A., Myga M. M., Koshovyi O. M. Parameters of standardization of the *Salvia officinalis* leaves dry extract. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : тези доп. XXIII Міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 21 квіт. 2016 р. Харків : НФаУ, 2016. Т. 1. С. 127.
155. Two flavones from *Salvia leriæfolia* / A. Ayatollahi et al. *Iran J. Pharm. Res.* 2009. № 8. P. 179–184.
156. Tzima K., Brunton N., Rai D. K. Qualitative and quantitative analysis of polyphenols in Lamiaceae plants – a review. *Plants.* 2018. Vol. 7, № 25. DOI: 10.3390/plants7020025 (Date of access: 04.02.2021).

157. Validated HPTLC method for the quantitative analysis of rosmarinic acid in several *Salvia* sp. / H. B. Altan et al. *Turk. J. Pharm. Sci.* 2014. № 11 (3). P. 245–254.
158. Ventola C. L. The antibiotic resistance crisis. *Pharmacy and Therapeutic Journal*. 2015. Vol. 40, № 4. P. 277–283.
159. Vovk H. V., Koshovyi O. M., Komisarenko A. M. Aminokyslotnyi ta monotsukrovyi sklad sukhoho ekstraktu z lystia shavlii likarskoi otrymanoho shliakhom kompleksnoi pererobky. *Вісник фармації*. 2016. № 1. С. 33–36.
160. Walch S. G., Lachenmeier D. W., Kuballa T. Holistic control of herbal teas and tinctures based on sage (*Salvia officinalis* L.) for compounds with beneficial and adverse effects using NMR Spectroscopy. *Anal. Chem. Insights*. 2012. Vol. 7. P. 1–12.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

1. Мига М. М., Кошовий О. М. Дослідження фенольного складу сухих екстрактів з листя шавлії лікарської. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2014. Вып. 23. № 4. С. 332-336. (Особистий внесок – проведено аналіз літературних джерел, виконано частину експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).
2. Мыга М. М., Романенко Е. А., Кошевой О. Н. Исследование фенольных соединений спиртового экстракта листьев шалфея лекарственного. *Вестник пермской государственной фармацевтической академии*. 2013. №11. С. 114-115. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).
3. Koshovyi O., Myha M., Verkhovodova Yu., Kireev I., Ilin T. Prospects of new drugs creation based on the extracts from *Salvia officinalis* leaves. *Oxford Review of Education and Science*. 2016. № 1 (11). P. 474-478. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).
4. Koshovyi O., Myha M., Verkhovodova Yu., Kireev I., Ilin T. Research into chemical composition and anti-inflammatory activity of the sage leaves alcoholic extract. Proceedings of the 6th International Academic Congress "Science, Education and Culture in Eurasia and Africa" (France, Paris, 23-25 March 2016). 2016. P. 578-582. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).
5. Мига М. М., Кошовий О. М., Ільїна Т.В., Бородіна Н.В., Скибіцька М. І. Дослідження фенольних сполук листя нефармакопейних видів роду *Salvia* флори України. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. № 3. С. 291- 297. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

Продовж. дод. А

6. Мига М. М., Верховодова Ю. В., Кошовий О. М., Кіреєв І. В., Ільїна Т. В. Фітохімічний профіль та протизапальна активність сухих екстрактів з листя шавлії лікарської. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 4. С. 38-41. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

7. Мига М. М., Кошовий О. М., Гамуля О. В., Верховодова Ю. В., Кіреєв І. В., Комісаренко А. М. Порівняльне фармакогностичне та фармакологічне дослідження листя *Salvia verticillata* та *Salvia officinalis* для встановлення перспективи створення нового лікарського засобу. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13. № 1 (32). С. 61-71. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

8. Myha M., Koshovyi O., Gamulya O., Ilna T., Borodina N., Vlasova I. Phytochemical study of *Salvia grandiflora* and *Salvia officinalis* leaves for establishing prospects for use in medical and pharmaceutical practice. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2020. № 1 (23). P. 23-28. (Scopus). (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

9. Verkhovodova, Yu., Kireyev, I., Koshovyi, O., Myha, M., Osolodchenko, T. The effect of common sage extracts on the intestinal microbiota in experimental infectious colitis. *Georgian Medical News*. 2020. № 4 (301). P. 165-170. (Scopus). (Особистий внесок – проведено експериментальну частину дослідження, підготовлено статтю до друку).

10. Koshovyi O, Raal A, Kovaleva A, Myha M, Ilna T, Borodina N, Komissarenko A. The phytochemical and chemotaxonomic study of *Salvia* spp. growing in Ukraine. *J Appl Biol Biotech*. 2020. № 8 (03). P. 29–36. DOI: 10.7324/JABV.2020.80306 (Scopus). (Особистий внесок – проведено експериментальну частину дослідження, підготовлено статтю до друку).

Продовж. дод. А

11. Вовк Г.В., Кошовий О. М., Ковальова А.М., Рибак В. А., Комісаренко А. М., Мига М.М. Спосіб одержання засобу з листя шавлії лікарської з антимікробною та протизапальною активністю: пат. на кор. мод. 92310 Україна. № u2014 02605; заявл. 14.03.2014; опубл. 11.08.14; Бюл. № 15. 4 с. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження).

12. Вовк Г.В., Кошовий О. М., Ковальова А.М., Рибак В. А., Комісаренко А. М., Мига М.М. Спосіб одержання засобу з листя шавлії лікарської шляхом комплексної переробки: патент на винахід 110990 Україна. № а 2014 02604; заявл. 14.03.2014; опубл. 10.03.2016; Бюл. № 5. 4 с. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження).

13. Кіреєв І.В., Кошовий О. М., Верховодова Ю. В., Мига М. М. Спосіб одержання сухого екстракту з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю: пат. на кор. мод. 138320 Україна. № u2019 04814; заявл. 06.05.2019; опубл. 25.11.2019; Бюл. № 22. 4 с. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлені матеріали для подання).

14. Кіреєв І.В., Кошовий О.М., Верховодова Ю.В., Мига М.М. Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю: патент на винахід 121367 Україна. № а201904796; заявл. 06.05.2019; опубл. 12.05.2020, Бюл. № 8. 3 с. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлені матеріали для подання).

15. Мига М. М., Кошовий О. М. Фенольний склад листя шавлії лікарської. *Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій*: Матеріали Української науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю з дня народження доктора хімічних наук, професора Павла Олексійовича Петюніна (24-25 квітня 2014 року). 2014. С. 115.

Продовж. дод. А

16. Мига М.М., Кошовий О.М., Верховодова Ю.В. Дослідження фенольного складу та протизапальної активності сухого екстракту з листя шавлії лікарської. *Матеріали VIII Національного з'їзду фармацевтів*, м. Харків, 13-16 вересня 2016 р. Харків. 2016. В 2-х.т. Т. 1. С. 116 (ISBN 978-966-615-489-0).

17. Tukas A. A., Myga M. M., Koshovyi O. M. Parameters of standardization of the *Salvia officinalis* leaves dry extract. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів: тези доповідей XXIII Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених та студентів*, м. Харків, 21 квіт. 2016 р. Харків. 2016. Вид-во НФаУ. В 2-х.т., Т.1. Р. 127.

18. Myha M., Koshovyi O., Ilna T., Borodina N., Golembiovaska O. The search for new sources of triterpene saponins among the representatives of the *Salvia* genus in the flora of Ukraine. *Sciences and Practice 2018: the 9th International Pharmaceutical Conference, dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy*. Lithuania, Kaunas, November 9 , 2018. Kaunas. 2018. P. 39.

19. Мига М.М., Кошовий О.М., Скибіцька М. І., Голембіовська О.І. Аналіз мікроелементного складу представників роду *Salvia* флори України. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: Матеріали VII науково-практичної конференції з міжнародною участю*, м. Тернопіль, 27 - 28 вересня 2018 р. Тернопіль. 2018. ТДМУ «Укрмедкнига». С. 30-32.

20. Myha M.M., Koshovyi O.M., Ilna T.V., Borodina N.V. Parameters of the quantitative determination when standardizing *Salvia grandiflora* leaves. *Sciences and Practice 2019: the 10th International Pharmaceutical Conference*. Lithuania, Kaunas, November 15, 2019. Kaunas. 2019. P. 86.

Продовж. дод. А

21. Мига М.М., Кошовий О.М., Ільїна Т.В., Бородіна Н.В. Визначення параметрів стандартизації листя *Salvia grandiflora*. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку*: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Харків, 19 вересня 2019 р. Харків. 2019. НФаУ. Т. 1. С. 277-278.

22. Мига М. М., Кошовий О. М., Гамуля О. В., Скибіцька М. І. Мікроскопічний аналіз листя *Salvia grandiflora*. *Planta+*. *Досягнення та перспективи*: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої пам'яті доктора хімічних наук, професора Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження), м. Київ, 20-21 лютого 2020 р. Київ. 2020. ПАЛИВОДА А. В. С. 256-259.

Додаток Б

Апробація результатів дисертації

1. Українська науково-практична конференція «Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій» (м. Харків, 24-25 квітня 2014 р., форма участі – публікація тез);
2. «VIII Національний з'їзд фармацевтів України» (м. Харків, 13-16 вересня 2016 р., форма участі – публікація тез);
3. XXIII міжнародна науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (м. Харків, 21 квітня 2016 р., форма участі – усна доповідь);
4. The 9th International Pharmaceutical Conference «Sciences and Practice» (Kaunas, Lithuania, 09th November, 2018, форма участі – публікація тез);
5. VII науково–практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (м. Тернопіль, 27 - 28 вересня 2018 р., форма участі – публікація тез);
6. The 10th International Pharmaceutical Conference «Sciences and Practice» (Kaunas, Lithuania, 15th November, 2019, форма участі – публікація тез);
7. Науково–практична конференція з міжнародною участю «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку» (м. Харків, 19 вересня 2019 р., форма участі – публікація тез);
8. Міжнародна науково–практична конференція «PLANTA+. Досягнення та перспективи» (м. Київ, 20-21 лютого 2020 р., форма участі – публікація тез).

Додаток В1

“ЗАТВЕРДЖУЮ”
 Проектор з наукової роботи Івано-
 Франківського національного
 медичного університету
 д. мед. н. професор
 Вакалюк І.П.
 «08» березня 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** результати фармакогностичного вивчення листя *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, асп. Мига М. М., проф. Кошовий О.М.
3. **Джерела інформації:**
 1. Дослідження фенольних сполук листя нефармакопейних видів роду *Salvia* флори України / М. М. Мига, О. М. Кошовий, Т.В. Ільїна, Н.В. Бородіна, М. І. Скибіцька // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2019, № 3.- С. 291 – 297.
 2. Порівняльне фармакогностичне та фармакологічне дослідження листя *Salvia verticillata* та *Salvia officinalis* для встановлення перспективи створення нового лікарського засобу / М. М. Мига, О. М. Кошовий, О. В. Гамуля, Ю. В. Верховодова, І. В. Кирєєв, А. М. Комісаренко / Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2020. – Т. 13. – № 1 (32). – С. 61-71.
 3. Мікроскопічний аналіз листя *Salvia grandiflora* / Мига М. М., Кошовий О. М., Гамуля О. В., Скибіцька М. І. // PLANTA+. Досягнення та перспективи: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої пам'яті доктора хімічних наук, професора Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження) (Київ, 20-21 лютого 2020 р.). – К. : ПАЛИВОДА А. В., 2020. – С. 256-259.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармації Івано-Франківського національного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота, навчальний процес, у лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів в області макро- та мікроскопічного аналізу та хімічного складу основних груп БАР листя *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*.
7. **Строки впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.

Зав. кафедрою фармації
 Івано-Франківського національного
 медичного університету,
 д.фарм.н, професор



Грицик А.Р.

Додаток В2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Запорізького державного медичного
університету, д. мед. н., професорВізар В. А.
« 10 » « вересня » 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** результати дослідження складу біологічно активних речовин листя *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, кафедра фармакогнозії, аспірант Мига М. М., проф. Кошовий О.М.
3. **Джерела інформації:**
 1. Порівняльне фармакогностичне та фармакологічне дослідження листя *Salvia verticillata* та *Salvia officinalis* для встановлення перспективи створення нового лікарського засобу / М. М. Мига, О. М. Кошовий, О. В. Гамуля, Ю. В. Верховодова, І. В. Кирєєв, А. М. Комісаренко / Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2020. – Т. 13. – № 1 (32). – С. 61-71.
 2. Phytochemical study of *Salvia grandiflora* and *Salvia officinalis* leaves for establishing prospects for use in medical and pharmaceutical practice / M. Myha, O. Koshovyi, O. Gamulya, T. Ilina, N. Borodina, I. Vlasova // Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science». – 2020. – № 1, (23). – P. 23-28.
 3. Koshovyi O, Raal A, Kovaleva A, Myha M, Ilina T, Borodina N, Komissarenko A. The phytochemical and chemotaxonomic study of *Salvia* spp. growing in Ukraine. J Appl Biol Biotech 2020; 8 (03): 29–36. DOI: 10.7324/JABB.2020.80306 (Scopus).
 4. Myha M. The search for new sources of triterpene saponins among the representatives of the *Salvia* genus in the flora of Ukraine / Mykhailo Myha, Oleh Koshovyi, Tetiana Ilina, Natalia Borodina, Olena Golembiovskaya. Sciences and Practice 2018: the 9th International Pharmaceutical Conference, dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy, Kaunas, Lithuania, 09th November, 2018. Kaunas, 2018. P. 39.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, лекційний курс та наукові дослідження на кафедрі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань хімічного складу основних груп БАР листя *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*.
7. **Термін впровадження:** січень 2019 – вересень 2020 р.

« ____ » « ____ » 2020 р.

Відповідальний за впровадження:
Зав. каф. фармакогнозії, фармакології
та ботаніки ЗДМУ,
д. біол. н., професор

Тржецинський С.Д.

Додаток ВЗ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково-педагогічної
роботи Львівського національного
медичного університету ім. Д. Галицького,
член-кор. НАМНУ, д. мед. н., професор

Гжегоцький М.Р.
« 11 » « 11 » 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** результати дослідження складу біологічно активних речовин листя *Salvia grandiflora*, *Salvia pratensis* та *Salvia verticillata*.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, кафедра фармакогнозії, Мига М. М., Кошовий О.М., Ковальова А. М., Ільїна Т.В., Бородіна Н.В.
3. **Джерела інформації:**
 1. Дослідження фенольних сполук листя нефармакопейних видів роду *Salvia* флори України / М. М. Мига, О. М. Кошовий, Т.В. Ільїна, Н.В. Бородіна, М. І. Скибіцька // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2019, № 3.- С. 291 – 297.
 2. Порівняльне фармакогностичне та фармакологічне дослідження листя *Salvia verticillata* та *Salvia officinalis* для встановлення перспективи створення нового лікарського засобу / М. М. Мига, О. М. Кошовий, О. В. Гамуля, Ю. В. Верховодова, І. В. Киреев, А. М. Комісаренко / Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2020. – Т. 13. – № 1 (32). – С. 61-71.
 3. Phytochemical study of *Salvia grandiflora* and *Salvia officinalis* leaves for establishing prospects for use in medical and pharmaceutical practice / М. Myha, О. Koshovyi, О. Gamulya, Т. Ilina, N. Borodina, I. Vlasova // Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science». – 2020. – № 1, (23). – Р. 23-28.
 4. Koshovyi O, Raal A, Kovaleva A, Myha M, Ilina T, Borodina N, Komissarenko A. The phytochemical and chemotaxonomic study of *Salvia* spp. growing in Ukraine. J Appl Biol Biotech 2020; 8 (03): 29–36. DOI: 10.7324/JABB.2020.80306 (Scopus).
 5. Myha M. The search for new sources of triterpene saponins among the representatives of the *Salvia* genus in the flora of Ukraine / Mykhailo Myha, Oleh Koshovyi, Tetiana Ilina, Natalia Borodina, Olena Golembiovsk. Sciences and Practice 2018: the 9th International Pharmaceutical Conference, dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy, Kaunas, Lithuania, 09th November, 2018. Kaunas, 2018. P. 39.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес (лекційний курс та практичні заняття), наукові дослідження кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань хімічного складу листя *Salvia grandiflora*, *Salvia pratensis* та *Salvia verticillata* в плані отримання на їх основі нових біологічно активних субстанцій.
7. **Термін впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакогнозії і ботаніки,
протокол № 3 від 12.10. 2020 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармакогнозії і ботаніки
ЛНМУ імені Д. Галицького

Н.В. Шаповалова

доцент Шаповалова Н.В.

Додаток В4



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В. о. проректора з науково-педагогічної
роботи Одеського національного
медичного університету,
д. мед. н., професор

Шандра О.А.

«09» «Вересня» 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** результати дослідження складу біологічно активних речовин листя *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, кафедра фармакогнозії, аспірант Мига М. М., Кошовий О.М.
3. **Джерела інформації:**
 1. Дослідження фенольних сполук листя нефармакопейних видів роду *Salvia* флори України / М. М. Мига, О. М. Кошовий, Т.В. Ільїна, Н.В. Бородіна, М. І. Скибіцька // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2019, № 3.- С. 291 – 297.
 2. Порівняльне фармакогностичне та фармакологічне дослідження листя *Salvia verticillata* та *Salvia officinalis* для встановлення перспективи створення нового лікарського засобу / М. М. Мига, О. М. Кошовий, О. В. Гамуля, Ю. В. Верховодова, І. В. Кирєєв, А. М. Комісаренко / Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2020. – Т. 13. – № 1 (32). – С. 61-71.
 3. Phytochemical study of *Salvia grandiflora* and *Salvia officinalis* leaves for establishing prospects for use in medical and pharmaceutical practice / М. Myha, O. Koshovyi, O. Gamulya, T. Ilina, N. Borodina, I. Vlasova // Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science». – 2020. – № 1, (23). – P. 23-28.
 4. Koshovyi O, Raal A, Kovaleva A, Myha M, Ilina T, Borodina N, Komissarenko A. The phytochemical and chemotaxonomic study of *Salvia* spp. growing in Ukraine. J Appl Biol Biotech 2020; 8 (03): 29–36. DOI: 10.7324/JABB.2020.80306 (Scopus).
 5. Myha M. The search for new sources of triterpene saponins among the representatives of the *Salvia* genus in the flora of Ukraine / Mykhailo Myha, Oleh Koshovyi, Tetiana Ilina, Natalia Borodina, Olena Golembiovsk. Sciences and Practice 2018: the 9th International Pharmaceutical Conference, dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy, Kaunas, Lithuania, 09th November, 2018. Kaunas, 2018. P. 39.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес (лекційний курс та практичні заняття), наукові дослідження кафедри фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань хімічного складу основних груп БАР листя *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*.
7. **Термін впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.
«___» «_____» 202__ р.

Відповідальний за впровадження:

Зав. каф. фармакології та фармакогнозії ОНМедУ,
д. мед. н., професор



Додаток В5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

проф. І.М. Кліш
« 10 » « вересня » 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** результати фармакогностичного вивчення листя *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, аспірант – Мига М. М.
3. **Джерела інформації:** 1. Дослідження фенольних сполук листя нефармакопейних видів роду *Salvia* флори України / М. М. Мига, О. М. Кошовий, Т.В. Ільїна, Н.В. Бородіна, М. І. Скибіцька. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2019, № 3. С. 291-297.
2. Порівняльне фармакогностичне та фармакологічне дослідження листя *Salvia verticillata* та *Salvia officinalis* для встановлення перспективи створення нового лікарського засобу / М. М. Мига, О. М. Кошовий, О. В. Гамуля, Ю. В. Верховодова, І. В. Киреев, А. М. Комісаренко. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2020. Т. 13. № 1 (32). С. 61-71.
3. Phytochemical study of *Salvia grandiflora* and *Salvia officinalis* leaves for establishing prospects for use in medical and pharmaceutical practice / M. Myha, O. Koshovyi, O. Gamulya, T. Ilina, N. Borodina, I. Vlasova. Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science». 2020. № 1, (23). P. 23-28. 4. Koshovyi O, Raal A, Kovaleva A, Myha M, Ilina T, Borodina N, Komissarenko A. The phytochemical and chemotaxonomic study of *Salvia* spp. growing in Ukraine. J Appl Biol Biotech 2020; 8 (03): 29-36. (Scopus).
4. **Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, в лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів в області макро- та мікроскопічного аналізу та хімічного складу листя *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*.
7. **Строки впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.
Завідувач кафедри фармакогнозії
з медичною ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету ім. І. Я. Горбачевського
д.фарм.н, професор

 С. М. Марчишин

Додаток В6

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи

ПВНЗ «Київський медичний університет»

д.м.н., професор Доан С.І.

« 09 »

вересня

2020 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** результати фармакогностичного вивчення листя *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук, аспірант – Мига Михайло Мирославович.
3. **Джерела інформації:**
 1. Дослідження фенольних сполук листя нефармакопейних видів роду *Salvia* флори України / М. М. Мига, О. М. Кошовий, Т.В. Ільїна, Н.В. Бородіна, М. І. Скибіцька // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2019, № 3.- С. 291 – 297.
 2. Порівняльне фармакогностичне та фармакологічне дослідження листя *Salvia verticillata* та *Salvia officinalis* для встановлення перспективи створення нового лікарського засобу / М. М. Мига, О. М. Кошовий, О. В. Гамуля, Ю. В. Верховодова, І. В. Кирєєв, А. М. Комісаренко / Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2020. – Т. 13. – № 1 (32). – С. 61-71.
 3. Мікроскопічний аналіз листя *Salvia grandiflora* / Мига М. М., Кошовий О. М., Гамуля О. В., Скибіцька М. І. // PLANTA+. Досягнення та перспективи: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої пам'яті доктора хімічних наук, професора Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження) (Київ, 20-21 лютого 2020 р.). – К. : ПАЛИВОДА А. В., 2020. – С. 256-259.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармацевтичної хімії і фармакогнозії Медичного інституту Української асоціації народної медицини.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, в лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів в області макро- та мікроскопічного аналізу та хімічного складу основних груп БАР листя *S. grandiflora*, *S. pratensis* та *S. verticillata*.
7. **Строки впровадження:** 2020-2021 навч. рік.

Завідувач кафедри фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії
д.фарм.н., професор

О.Ю. Коновалова

Додаток В7

Акт приймання-передачі № 4

від 21.02.2020р.

ТОВ "КФК" Грін фарм Косметик" в особі генерального директора Сафонов В.А. (надалі іменується «Замовник»), з однієї сторони, і Кошовий О.М., завідувач кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету (надалі іменується «Виконавець»), з іншої сторони, склали цей Акт про те, що Замовник прийняв від Виконавця:

- блок-схеми та технологічні інструкції зі способу одержання сухих екстрактів з листя шавлії лікарської для написання технологічних регламентів;
- проекти методик контролю якості на одержані сухі екстракти з листя шавлії лікарської для розробки фармацевтичного досіє на лікарські засоби.

Розроблені проекти документації передані повністю, зауважень до їх якості, достовірності та відтворюваності в промислових та лабораторних умовах ТОВ "КФК" Грін фарм Косметик" немає.

Документацію передав:

Завідувач кафедри фармакогнозії
Національного фармацевтичного університету

Кошовий О.М.

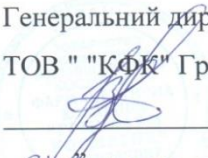
Документацію прийняв:

Генеральний директор
ТОВ "КФК" Грін фарм Косметик"

Сафонов В.А..

Додаток В8

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

Генеральний директор
ТОВ " "КФК" Грін фарм Косметик"

Сафонов В.А.
„21” лютого 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результати наукових досліджень аспіранта кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету **Миги Михайла Мирославовича** були використані при опрацюванні технології виробництва сухих екстрактів з листя шавлії лікарської (Патенти України на винаходи № 92310 та № 110990) на промислових потужностях ТОВ " "КФК" Грін фарм Косметик" згідно проекту технологічної документації. Запропонована технологія повністю відтворюється у промислових умовах.

Було отримано три серії екстрактів, по 4,02, 4,25 та 4,17 кг, які відповідали показникам якості розроблених проектів методик контролю якості. Одержані екстракти передані для аналізу на стабільність, визначення терміну зберігання та розробки лікарських форм.

Запропонована технологія, отримана в результаті науково-технічної співпраці ТОВ " "КФК" Грін фарм Косметик" та кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету.

Директор з виробництва
ТОВ " "КФК" Грін фарм Косметик "


Ніколов В.В.

Завідувач кафедри фармакогнозії
Національного фармацевтичного університету


Кошовий О.М.

Додаток В9

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

Генеральний директор
ТОВ " "КФК" Грін фарм Косметик"
Сафонов В.А.
„21” листопада 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результати наукових досліджень аспіранта кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету **Миги Михайла Мирославовича** були використані при опрацюванні технології виробництва сухих екстрактів з листя шавлії лікарської (Патенти України на винаходи № 92310 та № 110990) на промислових потужностях ТОВ " "КФК" Грін фарм Косметик" згідно проекту технологічної документації. Запропонована технологія повністю відтворюється у промислових умовах.

Було отримано три серії екстрактів, по 4,02, 4,25 та 4,17 кг, які відповідали показникам якості розроблених проектів методик контролю якості. Одержані екстракти передані для аналізу на стабільність, визначення терміну зберігання та розробки лікарських форм.

Запропонована технологія, отримана в результаті науково-технічної співпраці ТОВ " "КФК" Грін фарм Косметик" та кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету.

Директор з виробництва
ТОВ " "КФК" Грін фарм Косметик "



Ніколов В.В.

Завідувач кафедри фармакогнозії
Національного фармацевтичного університету



Кошовий О.М.

Додаток В10

ЗАТВЕРДЖЕНО

Наказ Міністерства охорони
здоров'я України

№ _____

Реєстраційне посвідчення

№ _____

Виробник ТОВ " "КФК" Грін фарм Косметик"
країна: УКРАЇНА



**МЕТОДИКИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ**

Salviae officinalis extractum siccum

Шавлії лікарської екстракт сухий,

екстракт сухий (субстанція)

у банках із скломаси для виробництва нестерильних лікарських
форм

Продовж. дод. В10

МАРКУВАННЯ

На етикетці українською та російською мовами вказують: назву заявника та виробника, їх адреси, назву препарату українською, російською та англійською мовами, масу препарату в кілограмах, умови зберігання, реєстраційний номер, номер серії, термін придатності.

УПАКОВКА

По 1 кг у банки зі скломаси з гвинтовою горловиною з пластмасовими кришками, що нагвинчуються і прокладками з картону прокладочного. Горловину банки з кришкою обертають подпергаментом, обв'язують ниткою поліпропіленовою фибрильованою або шпагатом з луб'яних волокон, армованим хімічною ниткою, на кінці якої наклеюють етикетку з паперу, що самоклеїться.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

Зберігають у захищеному від світла місці при температурі не вище + 25 °С.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

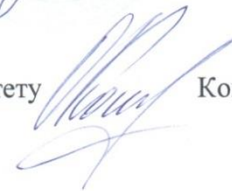
Копія вірна

Генеральний директор
ТОВ "КФК" Грін фарм Косметик"



Сафонов В.А.

Завідувач кафедри фармакогнозії
Національного фармацевтичного університету



Кошовий О.М.

Додаток В11



„APPROVED”

Chief Executive Officer
«Brupharmexport sprl»

Brussels, November 10th 2019

CERTIFICATE OF IMPLEMENTATION

The results of the research of the scientists from the National University of Pharmacy (Verkhovodova Yulia, Myha Mikhailo, Kireyev Igor and Koshovyi Oleh) were used to prepare Modules of the drug registration dossier for the medicines – *Salvia officinalis* dry extract.

Review of primary database on chemical composition, pharmacological activity and use of *Salvia officinalis* medicines in pharmaceutical and medical practice was used in the formation of The Module 2. Summary of the CTD. in the registration dossier for the medicinal product.

The results of the research were used in the elaboration of the technology of the *Salvia* leaves dry extract production on the industrial capacities of the enterprise according to the draft technological documentation. Drafts of quality control techniques for the *Salvia* dry extract have been developed, tested in the laboratory and used in the quality analysis of the extracts obtained with the industrial equipment. The obtained results were used in the development of The Module 3. Quality. in the registration dossier for the developed medicine.

The results of the preclinical research of the *Salvia* dry extract in toxicity, antimicrobial, anti-inflammatory and diuretic activity were used in the creation of The Module 4 in the registration dossier.

The research results were carried out at a high scientific level, there are no comments on their quality, reliability and reproducibility in industrial and laboratory conditions.

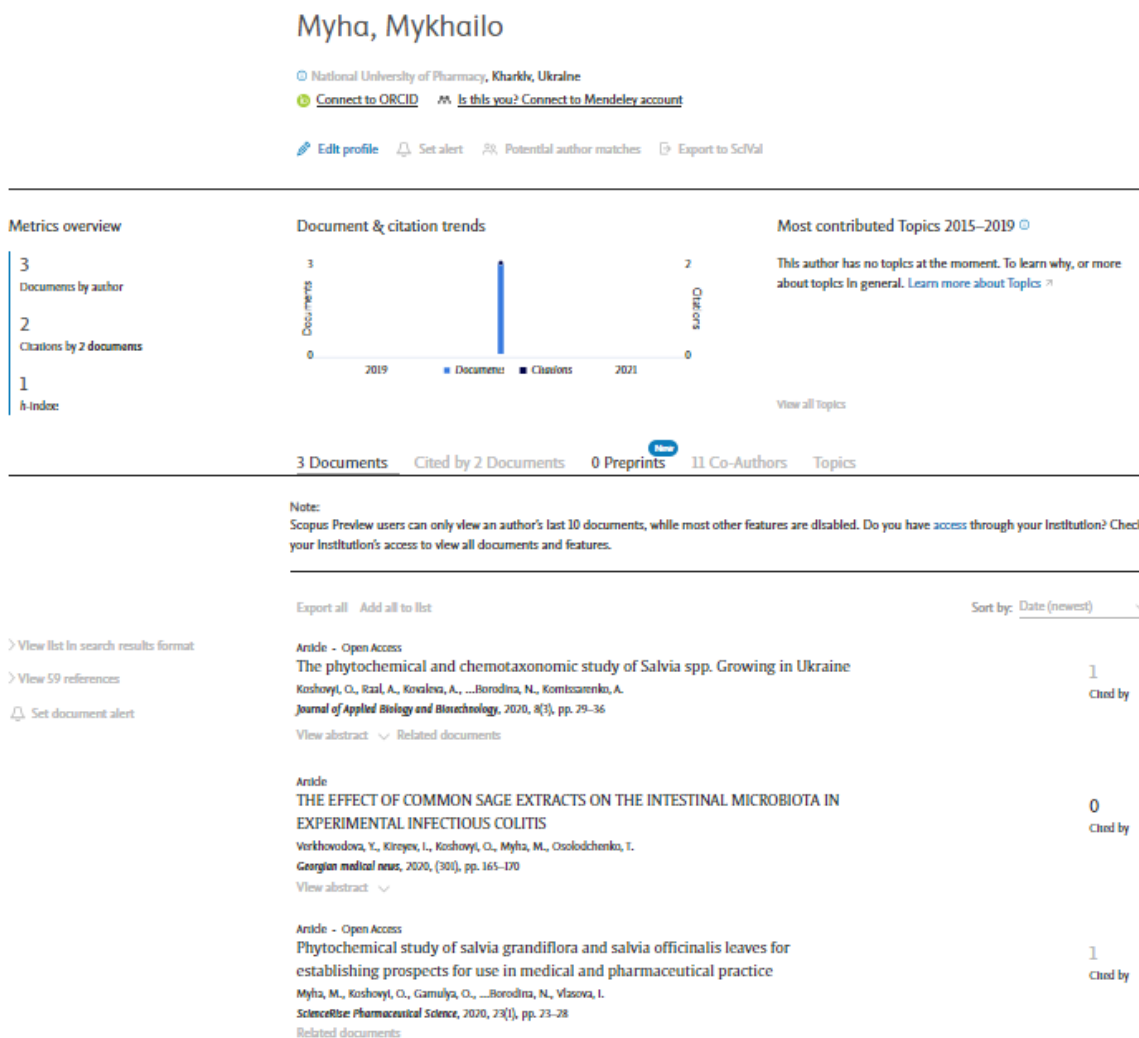
Chief Executive Officer

E. Vandecauteer



Додаток Д

<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57217034868>



Додаток Е1



Додаток Е2



Додаток ЕЗ



Додаток Е4



Додаток Ж1



TARTU ÜLIKOOL
farmaatsia instituut

CERTIFICATE OF ATTENDANCE
FOR STUDENTS MOBILITY FOR PRACTICAL TRAINING

It is hereby certified that

MYHA MYKHAILO

Full name of student

underwent practical training

on the basis of

The Institute of Pharmacy, University of Tartu

Title of the University / Faculty / Department

ESTONIA, Tartu

(country, city)

in the period of time from «2» April, 2018

till ««4» April, 2018

in the amount of 1 credit (30 hours).

*Head of the Institute of Pharmacy,
University of Tartu
Professor*


 *Ain Raal*

Tartu, 2018

Додаток Ж2

**Medical University of Warsaw**Phone: + 48 22 57 20 219
Fax: + 48 22 57 20 455Żwirki i Wigury 61
02-091 Warsaw, Poland**CERTIFICATE OF ATTENDANCE**
FOR STUDENTS MOBILITY FOR PRACTICAL TRAINING

it is hereby certified that

Myha Mykhailo,
Full name of student**Underwent practical training**
on the basis of
the Medical University of Warsaw,
Title of the University / Faculty / Department**Poland, Warsaw**
(country, city)in the period of time from «18» May, 2018
till «26» May, 2018in the amount of 1 credit (30 hours)
according to the program:

- Organization of the educational process in the Medical University of Warsaw
- Training at the Medical Simulation Center
- Training in Pharmacognosy
- Training in Otolaryngology
- Library training

HEAD
International Relations Office
Lidia Przepióra-Dziewulska, MA**Warsaw, May 2018**

Додадок И1



Додаток И2



Додаток ІЗ

