

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Кречун Анастасія Вадимівна

УДК 615.076:615.322:581.135.5:581.44/.45:582.579.2

ДИСЕРТАЦІЯ

**Вивчення біологічно активних речовин півників угорських та розробка
субстанцій на їх основі**

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

_____ А. В. Кречун

Наукові керівники Ковальов Володимир Миколайович, доктор
фармацевтичних наук, професор
Михайленко Ольга Олександрівна, кандидат
фармацевтичних наук

Харків – 2020

АНОТАЦІЯ

Кречун А.В. Вивчення біологічно активних речовин півників угорських та розробка субстанцій на їх основі. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису. Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 – Фармація (22 – Охорона здоров'я), Національний фармацевтичний університет, Харків, 2020.

Дисертаційна робота присвячена комплексному фармакогностичному дослідженню сировини півників угорських та 5 сортів гібридних півників, виділенню індивідуальних речовин з півників угорських, одержанню та дослідженню лікарського рослинного засобу на основі сировини півників угорських, розробці МКЯ на лікарську рослинну сировину півників угорських.

За допомогою ТШХ, ПХ, ВЕТШХ та ВЕРХ у досліджуваній сировині півників було ідентифіковано сполуки ксантонової природи: мангіферин, ізомангіферин; похідні гідроксикоричної кислоти: кавова, *n*-кумарова, ферулова, хлорогенова, неохлорогенова, корична, гідроксикорична; флавоноїди: кверцетин, ізокверцетин, гіперозид; ізофлавоноїди: ононін, нігрицин, текторідин, текторигенін; 9 амінокислот. Методом ВЕТШХ встановлено вміст ксантонового глікозиду мангіферину у листях та кореневищах півників угорських, який склав 4,85 % і 2,47 % відповідно.

Спектрофотометричним методом встановлено кількісний вміст основних груп біологічно активних речовин – флавоноїдів, ізофлавоноїдів, ксантонів, гідроксикоричних кислот у сировині півників угорських та сортових півників. Встановлено, що в листях півників у більшій кількості накопичуються гідроксикоричні кислоти (1,14-4,2 %) та ксантони (0,33-2,47 %), вміст флавоноїдів у листі та кореневищі півників знаходиться в середніх значеннях 1,04-3,55 %. Вміст ізофлавоноїдів, в середньому, вищий у кореневищі півників та складає від 1,07 до 3,15 %. Методом ВЕРХ у кореневищі півників угорських ідентифіковано 7 сполук: мангіферин, текторідин, нігрицин-4'-*O*- β -D-глюкопіранозид, іристекторигенін В,

нігрицин, іригенін, 5,6-дигідрокси-7,8,3',5'-тетраметоксиізофлавіон та встановлено їх вміст.

Елементний склад сировини півників угорський та сортових півників встановлювали методом атомно-емісійної спектроскопії з дуговим збудженням. За кількісним вмістом елементів домінує калій (K), кальцій (Ca) і магній (Mg), більша кількість яких накопичуються у листі півників. Такі елементи як залізо (Fe), алюміній (Al), натрій (Na), стронцій (Sr), цинк (Zn) та кремній (Si) мають більший вміст у кореневищі півників.

Вперше хромато-мас-спектрометричним методом у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників досліджено компонентний склад ефірної олії. Ефірна олія з листя півників угорських у порівнянні з сортовими півниками містить у досить невеликій кількості вуглеводень тритерпенового ряду сквален (1,62 %), алкани (докозан, трикозан, пентакозан, гептакозан, нонакозан – 5,62 %), вміст кетонів складає всього 1,71 %. Олія з кореневищ півників угорських має 0,37% сквалену, алканів 4,24 %. Карбонові кислоти складають 93,74 % від загального вмісту ефірної олії. Домінуючими є міристинова (40,71 %) і лінолева кислота (12,04 %).

Листя сортових півників містить сквален у кількості 5,44-18,87 %, геранілацетон 0,46-4,10 %. Домінуючими серед карбонових кислот є пальмітинова (11,44-21,70 %), пальмітоолеїнова (4,01-8,45 %), міристинова (3,56-6,98 %). Вміст карбонових кислот складає від 42,72 до 55,78 %. Терпени містяться у кількості від 19,5 до 30,22% від загального вмісту ефірної олії.

Вперше методом хромато-мас-спектрометрії проведений аналіз жирнокислотного складу кореневищ півників угорських. У кореневищі ідентифіковано 19 жирних кислот: насичених – 75,5 %, ненасичених – 24,5 %; у листі ідентифіковано 15 жирних кислот: насичених 63,03 %, 5 – ненасичених 36,97 %. Також встановлений компонентний вміст карбонових кислот: ідентифіковано 17 кислот у листі, 15 – у кореневищах півників угорських. Листя півників угорських містять 25,42 % насичених двоосновних кислот, 36,66 % - гідроксикислот, 4,96 % - фенолокислот. Кореневища

містять: двоосновні насичені кислоти (25,35 %), фенолокислоти (4,4 %), гідроксикислоти (9,28 %). Серед аліфатичних карбонових кислот в листях та кореневищах півників угорських в найбільшій кількості містяться щавелева, яблунева і лимонна кислоти. Також встановлено вміст метоксибурштинової і суберинової кислот, характерних для даного виду.

Розроблено технологічні параметри одержання суми біологічно активних речовин у вигляді сухого екстракту з листя та кореневищ півників угорських. Оптимальними розчинниками для вилучення біологічно активних речовин є вода очищена та етанол (70 % об/об). Оптимальне співвідношення між сировиною і екстрагентом – 1:10. Повнота виділення біологічно активних речовин досягається при трикратній екстракції.

Вперше за допомогою методу колонкової хроматографії на силікагелі було виділено 18 речовин, структуру яких встановлено з використанням спектральних методів аналізу (^1H -ЯМР-спектроскопія, мас-спектрометрія, ІЧ- та УФ-спектроскопія). Серед ідентифікованих речовин ксантони (мангіферин, ізомангіферин), ізофлавоноїди (нігрицин, іригенін, текторидін, текторигенін, геністеїн, даїдзеїн, ононін, формонетин), похідні гідроксикоричної кислоти (хлорогенова, неохлорогенова, каваова, ферулова кислоти), флавоноїди (кверцетин, апігенін, ембінін, гіперозид).

Розроблений новий спосіб одержання мангіферину з листя півників угорських. Метод ґрунтується на поетапному очищенні рослинної сировини, екстракції, фільтрації, висушуванні та упарюванні. Спосіб здійснюють у кілька етапів з використанням хлороформу, води з додаванням оцтової кислоти (рН 5,0-5,5), етанолу (70 % об/об), сірчаної кислоти, бутанолу. Вихід цільового продукту складає 1,05 %.

Розроблено методики контролю якості сировини та сухих екстрактів півників угорських. Листя та сухий екстракт з листя півників стандартизували за кількісним вмістом суми ксантонів, кореневище та сухий екстракт кореневищ – суми ізофлавоноїдів та мангіферину. Визначено основні показники якості та технологічні параметри – втрата в масі при

висушувані (не більше 12%) та загальна зола (не більше 10 %).

Проведено дослідження динаміки накопичення основних груп БАР в листі та кореневищі півників угорських впродовж вегетаційного періоду в різних місцях зростання на території України. Встановлено, що оптимальним часом для заготівлі сировини є весняна пора року.

Встановлено основні морфолого-анатомічні діагностичні ознаки сировини півників угорських. Листя фрагментоване на шматки розміром 4-5 см завдовжки, 3-4 см шириною. Поверхня листка гладка, плоска, з видимим паралельним жилкуванням, кінці загострені. На зламі видні жилки світло – зеленого кольору, запах ароматний. Листова пластинка ізолатеральної будови. У порошку листя під мікроскопом у розчині *хлоралгідрату Р* виявляються: однорядна епідерма з рівномірно потовщеними оболонками клітин, на яких зустрічаються сосочковидні вирости; прозенхімні клітини верхньої та нижньої поверхні; гомогенний мезофіл; судинно-волокнисті пучки; продиховий апарат тетрацитного типу; колатеральні відкриті провідні пучки.

Фрагменти кореневища мають вигляд шматочків 2-5 см завдовжки та 2-4 см в діаметрі. На поверхні наявні рубці від стебел та чисельні корінці. Поверхня темно-коричнева, на зламі – коричнево-жовта. Текстура тверда, злам щільний. У порошку кореневище у розчині *хлоралгідрату Р* виявляються: одношарова епідерма з опробковілим верхнім шаром первинної кори; клітини корової паренхіми і центрального циліндру, заповнені крохмалюм; ендодерма з U-потовщеними клітинними оболонками; стилоїди і призматичні кристали. Кореневище має пучкову будову. Центрофлоемні судинно-волокнисті пучки розташовані хаотично.

Досліджено фармакологічну активність сухих екстрактів з листя та кореневища півників угорських. За результатами досліджень препарати віднесені до V класу токсичності (практично нетоксичні речовини) за класифікацією К.К. Сидорова. Дослідження протизапальної активності екстрактів листя та кореневищ півників проводили у відповідності до

методичних рекомендацій «Доклінічні дослідження лікарських засобів». Найбільш виражену антиексудативну дію проявляє екстракт кореневищ півників угорських, одержаний етанолом (70 % об/об) у дозі 150 мг/кг, пригнічуючи запальний процес на 41,6 %. Анаболічна активність сухого екстракту кореневищ півників угорських більш виражена, ніж екстракт листя, проявляє помірний анаболічний ефект у дозі 150 мг/кг.

При дослідженні антимікробної активності сухих екстрактів півників угорських та сортових півників, одержаних екстракцією водою очищеною, встановлено, що всі досліджувані зразки володіють бактеріостатичною дією по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Basillus subtilis*, *Candida albicans* та слабкою дією по відношенню до *Proteus vulgaris* та *Pseudomonas aeruginosa*.

Антигерпетичну активність сухого екстракту з листя півників угорських, одержаного екстракцією водою очищеною, вивчали на штамі вірусу простого герпесу на культурі клітин Нер-2 (клітини епітеліальної карциноми гортані людини), які використовуються для виділення аденовірусів, а також вірусу простого герпесу. Антигерпетичну активність встановлювали за кількістю клітин з розчином сухого екстракту з листя півників угорських, що загинули під дією внесеного вірусу.

Сухий екстракт листя півників угорських у концентрації 100 мкг/мл проявляв найбільш виражену дію і викликав загибель у більш, ніж 27 % клітин вірусу.

Ключові слова: півники угорські, сортові півники, сировина, біологічно активні речовини, фармакологічна активність.

Список публікацій здобувача:

1. Mykhailenko O., Kovalyov V., Kovalyov S., Krechun A. Isoflavonoids from the rhizomes of *Iris hungarica* and antibacterial activity of the dry rhizomes extract. *Ars Pharmaceutica*. 2017. Vol. 58. № 1. P. 39–45. (Особистий внесок

- брала участь у проведенні експерименту, інтерпретації одержаних даних).
2. Mykhailenko O. O., Kovalyov V. M., Kovalyov S. V., Krechun A. V. Biologically active compounds from the rhizomes of *Iris hungarica*. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2016. Т. 14, № 4 (56). С. 63–66. (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, інтерпретації одержаних даних, оформленні статті).
 3. Kovalev V. M., Mykhailenko O. O., Krechun A. V., Osolodchenko T. P. Antimicrobial activity of extracts of *Iris hungarica* and *Iris sibirica*. *Анали Мечниковського Інституту*. 2017. № 2. С. 57–64. (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, інтерпретації одержаних даних, оформленні статті).
 4. Kovalyov V. M., Krechun A. V., Mykhailenko O. O., Gryshyna O. V. The study of elemental composition of *Iris hungarica* and irises varieties. *Вісник фармації*. 2018. №. 4 (96). С. 9–15 (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, пробоподготовці, інтерпретації одержаних даних, оформленні статті).
 5. Kovalyov V., Chetvernina S., Krechun A., Mykhailenko O. Establishment of the main technological parameters of iris raw material. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2019. Vol. 12. № 7. P. 3359–3364 (Особистий внесок – брала участь у проведенні експерименту, інтерпретації одержаних даних, оформленні статті).
 6. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В., Орлова Т.Г. Скринінг накопичення біологічно активних речовин в ірисі угорському впродовж вегетаційного періоду. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12. № 2 (30). С. 135–140 (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, інтерпретації одержаних даних, оформленні статті).
 7. Кєрімова Г., Кречун А., Рибак В., Михайленко О., Ковальов В. Дослідження антиексудативної активності сухих екстрактів листя та

- кореневищ *Iris hungarica*. *Ukrainian Biopharmaceutical Journal*. 2019. № 4 (61). Р. 55–58. (Особистий внесок – брала участь у проведенні експерименту, пробопідготовці, оформленні статті).
8. Ковальов В.М., Кречун А.В., Михайленко О.О., Домарьов А.П. Спосіб одержання засобу з антигерпетичною, антиоксидантною та антимікробною активністю з листя півників угорських : пат. на корисну модель 135620 Україна. № и 2019 00863 ; заявл. 28.01.19 ; опубл. 10.07.19. Бюл. № 13. (Особистий внесок – брала участь у патентному пошуці, виконанні експерименту, оформленні патенту).
 9. Krechun A. V., Kovalev V. N., Mykhailenko O. O. Determination of quantitative composition of xanthones in the underground organs of *Iris sibirica* and *Iris hungarica*. *Topical issues of new drugs development : abstracts of XXII international scientific and practical conference of young scientists and student*, April 23, 2015. Kh., 2015. Vol. 1. P. 80–81
 10. Krechun A. V., Mykhailenko O. A., Kovalev V. N. Research of quantitative value amount of γ – piron of *iris hungarica* and *iris sibirica* leaves. *Topical issues of new drugs development : abstracts of XXIII international scientific and practical conference of young scientists and student*, April 21, 2016. Kh., 2016. Vol. 1. P. 84–85.
 11. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В. Фенольні сполуки півників угорських та їх антибактеріальна активність. *Хімія природних сполук* : матеріали конф., 21–22 квіт. 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 22–23.
 12. Krechun A. V. Perspectiveness of the use of some representatives of the genus *Iris* L. *Topical issues of new drugs development : abstracts of XXIV international scientific and practical conference of young scientists and student*, April 20, 2017. Kh., 2017. Vol. 1. P. 85–86.
 13. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В. Перспективність створення антимікробного засобу на основі півників. *Ліки–людині* : матеріали I Міжнар. наук.–практ. конф., 30–31 берез. 2017 р. Харків, 2017. С. 186.

- 14.Кречун А. В., Михайленко О. А. Предварительное изучение биологически активных веществ некоторых сортов рода *Iris* L. методом хроматографии. *Актуальные вопросы современной медицины и фармации 2017* : материалы 69-й итоговой науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, г. Витебск, ВГМУ, 19–20 апр. 2017 г. Витебск : ВГМУ, 2017. С. 199–200.
- 15.Krechun A. V., Mykhailenko O. O. Primary screening of the biologically active compounds of *Iris hungarica* Waldst. Et Kit. *Relevant issues of modern medicine: the experience of Poland and Ukraine* : International research and practice conference. Lublin, 2017. P. 117–120.
- 16.Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М. Розробка методики одержання сухих екстрактів з листя та кореневищ сортових півників. *Актуальні питання медичної теорії та практики* : зб. матеріалів міжнар. наук.-практ. конф., м. Дніпро, 8–9 груд. 2017 р. Дніпро : Організація наукових медичних досліджень «Salutem», 2017. С. 113–114.
- 17.Krechun A., Kovalyov V., Mykhailenko O. Establishment of elemental composition of the leaves and rhizomes of *Iris hybrida* hort. “Indian Pow Wow” : The International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy practice is organized by the Faculty of Pharmacy of Lithuanian Health Sciences University in collaboration with Lithuanian Pharmaceutical Association and LSMU FF Alumni Association. Kaunas, 2017. P. 73–75.
- 18.Krechun A. V., Mykhailenko O. O., Kovalyov V. M. Organic and hydrocinnamic acids of *Iris hungarica*. *Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации* : материалы респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием. Ташкент, 2016. С. 6–7.
- 19.Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М. Встановлення основних технологічних показників сировини півників гібридних сортів «Mini Динамо» та «Indian Pow Wow». *Медична наука та практика XXI століття* : зб. тез наук. робіт учасників міжнар. наук.-практ. конф., м. Київ, 2–3 лют. 2018 р. Київ : «Київський медичний науковий центр», 2018. С. 104–107.

- 20.Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М., Ковальов С. В. Хроматографічний аналіз амінокислот рослин родини Iridaceae. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези доп. Всеукр. наук.–практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 80–річчю з дня народж. д-ра фармац. наук, проф. О. М. Гайдукевича, 12–13 квіт. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 271.
- 21.Krechun A. V., Mykhailenko O. O. The use of thin-layer chromatography in analysis of xanthonenes of plant objects. *Topical issues of new medicines development* : матеріали XXVI Міжнар. наук.–практ. конф. молодих учених та студентів, м. Харків, 10–12 квіт. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. С. 49–50.
- 22.Кречун А. В., Михайленко О. О. До питання стандартизації сировини півників. *Управління якістю в фармації* : матеріали XII наук.–практ. конф., м. Харків, 18 трав. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 106–107.
- 23.Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М. Макро– та мікроскопічний аналіз сировини півників угорських. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.–практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 20–й річниці заснування Дня фармац. працівника України, м. Харків, 19–20 верес. 2019 р. : у 2 т. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 224–226.
- 24.Кречун А. В., Михайленко О. О. Дослідження вмісту ізофлавоноїдів у сировині сортових півників. *Perspectives of science and education* : Proceedings of the 11th International youth conference. New York, 2019. С. 113–117.
- 25.Krechun A. V., Mykhailenko O. O., Kovalyov V. M. Determination of the xanthon glycoside mangiferin content in the rhizomes of *Iris hungarica* by HPLC method. *XIII International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds*. October 16–19. Shanghai, 2019. P. 127.
- 26.Krechun A., Mykhailenko O., Kovalyov V. Chemical compositions of the essential oil of Irises hybrid rhizomes. *Science and Practice 2019* : The 10th

International Pharmaceutical Conference, Lithuanian University of Health Sciences, Faculty of Pharmacy. Kaunas, 2019. P. 48.

- 27.Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В. Оптимальні терміни заготівлі кореневищ іриса угорського (*Iris hungarica* Waldst. et Kit.) : інформ. лист № 374–2018. Вип. 47 з проблеми «Фармація». Київ, 2018. 4 с.
- 28.Михайленко О. О., Ковальов В. М., Буйдін Ю. В., Кречун А. В. Оптимальні умови вирощування лікарської та ефіроолійної рослинної сировини кореневищ сортових ірисів (*Iris hybrida*) в Україні : інформ. лист № 375–2018. Вип. 48 з проблеми «Фармація». Київ, 2018. 4 с.

ANNOTATION

Krechun A.V. Study of biologically active compounds of *Iris hungarica* and development of substances based on them. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript. Dissertation for the degree Philosophy Doctor in specialty 226-Pharmacy (22- Health care), National University of Pharmacy, Kharkiv, 2020.

The dissertation is devoted to the complex pharmacognostic study of raw materials of *Iris hungarica* and 5 varieties of hybrid iris, isolation of individual compounds, study of herbal medicin, based on the *Iris hungarica* raw materials, the development of the QCM for medicinal plant raw materials of the *Iris hungarica*.

TLC, PC, HPLC and HPTLC were used to identify xanthone compounds in the tested raw material of the iris: mangiferin, isomangiferin; hydroxycinnamic acid derivatives: coffee, p-coumaric, ferulic, chlorogenic, neochlorogenic, cinnamic, hydroxycinnamic; flavonoids: quercetin, isoquercetin, hyperoside; isoflavonoids: ononine, nigricin, tectoridine, tectorigenin; 9 amino acids. Was established the content of mangiferin xanthone glycoside by the HPLC method in the leaves and rhizomes of *Iris hungarica*, which amounted to 4,85 % and 2,47 %, respectively.

The quantitative content of the main groups of biologically active compounds – flavonoids, isoflavonoids, xanthenes, hydroxycinnamic acids in the raw material of *Iris hungarica* and hybrid iris was determined by spectrophotometric method. Determined that hydroxycinnamic acids (1,14-4,2 %) and xanthenes (0,33-2,47 %) accumulate in greater quantity in the leaves of iris, the flavonoids content in the iris leaves and rhizomes is in the average values of 1,04-3,55 %. The content of isoflavonoids, on average, is higher in the rhizome of iris and ranges from 1,07 to 3,15 %. Were identified 7 compounds and established their contents in the rhizomes of the *Iris hungarica* by HPLC method: mangiferin, tectoridine, nigricin-4'-O- β -D-glucopyranoside, iristectorigenin B, nigricin, irigenin, 5,6-dihydroxy-7,8,3',5'-tetramethoxyisoflavone.

The elemental composition of the raw material of *Iris hungarica* and hybrid iris was determined by atomic emission spectroscopy with arc excitation. The quantitative content of the elements is dominated by potassium (K), calcium (Ca) and magnesium (Mg), the larger of which accumulate in the leaves of the iris. Elements such as iron (Fe), aluminum (Al), sodium (Na), strontium (Sr), zinc (Zn) and silicium (Si) have a higher content in the iris rhizome.

For the first time a component composition of essential oil was investigated in the leaves and rhizomes of *Iris hungarica* and hybrid iris by chromatographic mass spectrometric method. Essential oil from the *Iris hungarica* leaves in comparison with hybrid iris contains in a rather small amount of triterpene row hydrocarbons of squalene (1,62 %), alkanes (docosan, tricosan, pentacosan, heptacosan, nonacosan-5,62 %), the content of ketones is only 1,71 %. The oil from the *Iris hungarica* rhizomes has 0,37 % squalene and alkanes 4,24 %. Carboxylic acids compos 93,74 % of the total essential oil content. Myristic (40,71 %) and linoleic acid (12,04 %) are dominant.

Iris hybrida leaves contain squalene in the amount of 5,44-18,87 %, geranylacetone 0,46-4,10 %. Dominant among carboxylic acids are palmitic (11,44-21,70 %), palmitooleic (4,01-8,45 %), myristic (3,56-6,98 %). The content

of carboxylic acids is from 42,72 to 55,78 %. Terpenes contain in the amount of 19,5 to 30,22 % of the total content of essential oil.

The technological parameters of obtaining biologically active substances in the form of a dry extract from the leaves and rhizomes of the *Iris hungarica* have been developed. The best solvent for the extraction of biologically active substances is purified water and ethanol (70 % v/v). The optimum ratio of raw material to extractant is 1:10. The complete separation of biologically active substances is achieved by triple extraction.

For the first time, 18 substances were isolated by column chromatography on silica gel, the structure of which was established using spectral methods of analysis (^1H -NMR spectroscopy, mass spectrometry, IR, UV spectroscopy). Among the identified substances are xanthones (mangiferin, isomangiferin), isoflavonoids (nigracin, irigenin, tectoridin, tectorigenin, genistein, daidzein, ononin, formononetin), derivatives of hydroxycinnamic acid (chlorogenic, neochlorogenic, coffee, ferulic), flavonoids (quercetin, apigenin, embinin, hyperoside).

A new method of obtaining mangiferin from the *Iris hungarica* leaves has been developed. The method is based on the phased purification of herbal raw materials, extraction, filtration, drying and evaporation. The method is carried out in several steps using chloroform, water with the addition of acetic acid (pH 5,0 to 5,5), ethanol (70 % v/v), sulfuric acid, butanol. The yield of the final product is 1,05 %.

Methods for quality control of raw materials and dry extracts of *Iris hungarica* have been developed. Leaves and leaves dry extract of *Iris hungarica* were standardized by quantitative content of the amount of xanthones, rhizomes and rhizomes dry extract – the sum of isoflavonoids and mangiferin. The main quality indicators and technological parameters were determined – weight loss on drying (no more than 12 %) and total ash (no more than 10 %).

The accumulation dynamics of the main groups of BAS in the leaves and rhizomes of *Iris hungarica* during the growing season in different places of growth

in the territory of Ukraine was conducted. It is established that the best time for harvesting raw materials is the spring season.

The basic morphological and anatomical diagnostic signs of the *Iris hungarica* raw material have been established. The leaves are fragmented into pieces 4-5 cm long, 3-4 cm wide. Leaf surface is smooth, flat, with visible parallel vein, ends are pointed. At the break, the veins are light green, the aroma is fragrant. Sheet plate of insolateral structure. In the powder of the leaves under the microscope in a solution of *chloralhydrate* revealed: single-row epidermis with uniformly thickened membranes of cells, which meet papillary outgrowths; prosenchymal cells of the upper and lower surfaces; homogeneous mesophyll; vascular-fiber bundles; tetracitic type of breathing apparatus; collateral open conductive bundles.

The rhizome fragments are pieces 2-5 cm long and 2-4 cm in diameter. On the surface there are scars from stems and numerous roots. The surface is dark brown, on the break - brownish yellow. The texture is solid, cracked tight. In the rhizome powder in the solution of *chloralhydrate* are: single-layer epidermis with a caked upper layer of primary bark; cells of the cortical parenchyma and the central cylinder are filled with starch; endoderm with U-thickened cell membranes; there are styloids and prismatic crystals. The rhizome has a bundle structure. Centrofloem vascular-fibrous bundles are arranged erratically.

The pharmacological activity of dried extracts from the leaves and rhizomes of *Iris hungarica* was investigated. According to the results of studies, the drugs are classified as V class toxicity (almost non-toxic substances) according to the classification of K.K. Sidorov. Studies on the anti-inflammatory activity of leaf and rhizomes extracts of the *Iris hungarica* were carried out in accordance with the guidelines «Preclinical studies of drugs». The most pronounced anti-exudative effect is exhibited by the *Iris hungarica* rhizomes extract obtained by ethanol (70 % v/v) at a dose of 150 mg/kg, suppressing the inflammatory process by 41,6 %. The anabolic activity of the *Iris hungarica* rhizomes dry extract is more

pronounced than the leaf extract, showing a moderate anabolic effect at a dose of 150 mg/kg.

In the study of the antimicrobial activity of *Iris hungarica* and hybrid iris dry extracts obtained by purified water extraction, it was found that all tested samples have a bacteriostatic effect against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Basillus subtiliste*, *Candida vulgaris* and weak action against *Proteus vulgaris* and *Pseudomonas aeruginosa*.

The antiherpetic activity of the *Iris hungarica* leaves dry extract obtained by extraction with water purified was studied on a strain of *herpes simplex* virus in the culture of Hep-2 (human laryngeal epithelial carcinoma cells), which are used to isolate adenoviruses and herpes virus. Antiherpetic activity was established by the number of cells with a solution of *Iris hungarica* leaves dry extract, killed by the introduced virus.

Iris hungarica leaves dry extract at a concentration of 100 µg/ml showed the most pronounced effect and caused death in more than 27 % of the cells of the virus.

Keywords: *Iris hungarica*, hybrid iris, raw materials, biological active substances, pharmacological activity.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	20
ВСТУП.....	21
РОЗДІЛ 1. БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД І ЗАСТОСУВАННЯ В МЕДИЦИНІ РОСЛИН РОДИНИ ІРИСОВІ (<i>IRIDACEAE</i>) (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	30
1.1 Назва рослини «півники», синоніми, короткий опис систематики.....	30
1.2 Ботанічна характеристика <i>Iris hungarica</i> та сортових півників.....	32
1.3 Сучасний стан дослідження півників на території України та ха її межами.....	36
1.4 Хімічний склад рослин роду <i>Iris</i> L.	36
1.5 Фармакологічне застосування рослин родини <i>Iridaceae</i> та проблема стандартизування.....	42
1.6 Розмноження півників.....	48
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	
РОЗДІЛ 2. ЯКІСНИЙ ТА КІЛЬКІСНИЙ АНАЛІЗ СИРОВИНИ ПІВНИКІВ	
2.1 Вибір загальної методології дослідження.....	50
2.2 Якісний аналіз листя та кореневищ півників угорських та сортових півників.....	60
2.2.1 Якісний аналіз на вміст різних груп БАР.....	60
2.2.2 Хроматографічне дослідження сировини півників угорських та сортових півників.....	62
2.3 Визначення кількісного вмісту біологічно активних речовин у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників.....	73
2.3.1 Визначення втрати в масі при висушуванні сировини півників угорських та сортових півників.....	73

2.3.2 Дослідження вмісту амінокислот у сировині півників угорських методом газової хроматографії	74
2.3.3 Кількісне визначення суми гідроксикоричних кислот у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників.....	75
2.3.4 Кількісне визначення флавоноїдів у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників.....	78
2.3.5 Кількісне визначення ізофлавоноїдів у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників.....	81
2.3.6 Кількісне визначення ксантонів у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників	83
2.3.7 Дослідження хімічного складу кореневищ півників угорських методом ВЕРХ	87
2.3.8 Визначення кількісного вмісту мангіферину в сировині півників угорських методом ВЕТШХ.....	89
2.3.9 Кількісний аналіз сировини півників угорських з різних місць зростання.....	91
2.3.10 Дослідження ефірної олії сировини півників угорських та сортових півників	93
2.3.11 Ідентифікація жирнокислотного складу листя та кореневищ півників угорських.....	98
2.3.12 Встановлення компонентного складу нижчих карбонових кислот у листі та кореневищі півників угорських.....	100
2.3.13 Встановлення компонентного складу мінерального комплексу сировини півників угорських та сортових півників.....	101
Висновки до розділу 2.....	103
РОЗДІЛ 3. ВИДІЛЕННЯ ПРИРОДНИХ СПЛУК З КОРЕНЕВИЩ ПІВНИКІВ УГОРСЬКИХ	109
3.1 Екстракція природних сполук з кореневищ півників угорських.....	109
3.2 Розділення речовин з еталацетат-хлороформної фракції.....	109

3.3 Встановлення структури виділених речовин.....	111
3.3.1 Флавоноїди	113
3.3.2 Ізофлавоноїди	115
3.3.3 Ксантони.....	126
3.3.4 Гідроксикоричні кислоти.....	128
3.4 Розробка методу виділення мангіферину з листя півників угорських...	130
Висновки до розділу 3	134
РОЗДІЛ 4. РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ОДЕРЖАННЯ СУБСТАНЦІЙ ТА ВСТАНОВЛЕННЯ ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ	135
4.1 Розробка методик контролю якості сировини півників угорських.....	135
4.1.1 Встановлення морфолого-анатомічних ознак листя та кореневищ півників угорських.....	136
4.1.1.1 Макроскопічні ознаки.....	136
4.1.1.2 Мікроскопічні ознаки.....	136
4.2 Методики контролю якості листя та кореневища півників угорських	139
4.2.1 Півників угорських листя.....	139
4.2.2 Півників угорських кореневища.....	142
4.3 Вибір оптимального екстрагента.....	147
4.4 Технологічний процес одержання сухих екстрактів.....	150
4.5 Дослідження фармакологічної активності екстрактів півників угорських	154
4.5.1 Дослідження гострої токсичності сухих екстрактів з листя та кореневищ півників угорських.....	154
4.5.2 Дослідження протизапальної активності сухих екстрактів листя та кореневищ півників угорських.....	156
4.5.3 Дослідження анаболічної активності сухих екстрактів листя та кореневищ півників угорських.....	159

4.5.4 Дослідження антимікробної активності сухих екстрактів листя та кореневищ півників угорських.....	162
4.5.4.1 Антимікробна активність.....	163
4.5.4.2 Дослідження мікробіологічної чистоти сухих екстрактів з листя та кореневищ півників угорських.....	165
4.5.5 Антимікробна активність сухих екстрактів з листя та кореневищ сортових півників.....	166
4.5.6 Дослідження антигерпетичної активності сухого екстракту листя півників угорських	171
4.6 Методики контролю якості сухих екстрактів півників угорських.....	173
4.6.1 Півників угорських листя екстракт сухий.....	173
4.6.2 Півників угорських кореневища екстракт сухий.....	176
4.6.3 Півників угорських листя екстракт водний сухий	179
Висновки до розділу 4.....	181
ВИСНОВКИ.....	185
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	189
ДОДАТКИ.....	209

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

аом	– атомна одиниця маси
БАР	– біологічно активні речовини;
ВЕРХ	– високоефективна рідинна хроматографія;
ВЕТШХ	– високоефективна тонкошарова хроматографія
ГХ	– газова хроматографія;
ДМСО	– диметилсульфоксид
ДФ	– Державна фармакопея СРСР;
ДФУ	– Державна фармакопея України;
ЄФ	– Європейська фармакопея;
ІЧ – спектр	– інфрачервоний спектр
ЛР	– лікарська рослина;
ЛРС	– лікарська рослинна сировина;
МБ _ц К	– мінімальна бактерицидна концентрація
МІК	– мінімальна інгібуюча концентрація
МС	– мас спектр
МКЯ	– методики контролю якості;
НД	– нормативна документація;
ПХ	– паперова хроматографія;
ТУ	– технічні умови;
ТШХ	– тонкошарова хроматографія;
УФ-спектр	– ультрафіолетовий спектр;
СЗ	– стандартний зразок.
ЯМР	– ядерний магнітний резонанс

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Актуальність дослідження лікарської рослинної сировини зумовлюється трьома концепціями: по-перше, вторинні метаболіти (вони ж біологічно активні речовини) рослинного походження мають більшу спорідненість до людського організму, ніж синтетичні препарати, тому мають набагато меншу токсичну дію; по-друге, лікарські засоби рослинного походження за рахунок своєї м'якої та помірної дії можуть застосовуватися у лімітованих групах споживачів, серед яких літні люди, вагітні, діти, хворі із супутніми захворюваннями. Третя концепція включає в себе економічний фактор – лікарські засоби на рослинній основі мають меншу вартість, тому є доступними.

Таким чином, дослідження лікарських рослин та створення субстанції на їх основі є досить перспективним напрямом у сучасній фармацевтичній галузі.

Одним із джерел БАР є рослини родини півникові, роду Ірис (*Iris*). Півники мають давню історію свого медичного застосування у багатьох країнах світу, а також визнані багатими джерелами БАР, входять до складу 9 дієтичних добавок. Завдяки своїм декоративним якостям, півники широко розповсюджені майже на всіх континентах, а також на території України. Ареал роду *Iris* L. охоплює регіони з помірним і субтропічним кліматом. До флори України входять 15 видів півників: болотяні, злаколисті, угорські, солелюбні, германські, сибірські, бліді, різнокольорові та інші. Також півники широко культивуються та селекціонуються, завдяки чому у світі виведено більше, ніж 35 тисяч сортів. Сировинна база півників досить потужна, що робить можливим дослідження та виділення біологічно активних речовин з цієї сировини. Починаючи з 2000 року у складі сировини півників виявлено та ідентифіковано понад 90 сполук флавоноїдної природи, серед яких 35 – нові сполуки. Найціннішими, з точки зору фітохімії, є

сполуки фенольної природи, що проявляють широкий спектр біологічної активності – флавоноїди, ізофлавоноїди, ксантони, сапоніни, дубильні речовини, прості феноли. У зв'язку з тим, що кількість рослин, які акумулюють ізофлавоноїди та ксантони, досить обмежена, то дослідження сировини півників є актуальним.

Кореневище півників використовується у народній медицині у якості протизапального, ранозагоювального, сечогінного, відхаркувального, протигрибкового засобу. Фармакологічний ефект зумовлений наявністю сполук фенольної природи, зокрема, флавоноїдів, ізофлавоноїдів, ксантонів. Перспективною сировиною для дослідження та виділення БАР є півники угорські (*Iris hungarica*), що широко розповсюджені на території України та країнах ближнього зарубіжжя.

Таким чином, сировина півників є джерелом БАР, що обґрунтовує перспективність дослідження, а також розробку лікарських препаратів на її основі.

Сортові півники культивуються всемісцево, що робить заготівлю і розмноження півників більш простим і контрольованим на усіх етапах вирощування. Хімічний склад культивованих півників схожий з дикорослим видом півників угорських, тому є альтернативною сировиною для одержання біологічно активних речовин. Фармакогностичне дослідження сортових півників дозволить розширити сировинну базу для заготівлі.

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

Дисертаційна робота є фрагментом 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 дисертаційної роботи було фармакогностичне вивчення листя і кореневищ півник угорських та 5 сортів гібридних бородатих півників,

стандартизація сировини та екстрактів з листя і кореневищ півників угорських, створення субстанцій на їх основі.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- проаналізувати та узагальнити дані наукових джерел щодо сучасного стану дослідження сортових півників та півників угорських: ботанічної характеристики, географічного поширення, сировинних запасів, заготівлі, культивування, вивчення хімічного складу, фармакологічних властивостей та застосування в медицині;
- провести попереднє фітохімічне дослідження якісного складу листя та кореневищ півників угорських та сортових півників;
- провести кількісне визначення груп БАР, ідентифікованих у сировині півників угорських та сортових півників;
- встановити кількісний вміст компонентів ефірної олії листя та кореневищ півників угорських та сортових півників;
- встановити мінеральний вміст листя та кореневищ півників угорських та сортових півників;
- виділити в індивідуальному стані природні сполуки з кореневищ півників угорських, встановити їх структуру;
- розробити новий метод виділення мангіферину з сировини півників угорських;
- розробити схеми одержання сухих екстрактів з листя та кореневищ півників угорських;
- розробити проекти методик контролю якості (МКЯ) на сировину та на одержані екстракти з листя та кореневищ півників угорських;
- встановити фармакологічну активність екстрактів з листя та кореневищ півників угорських;

Об'єкт дослідження. Комплексне фармакогностичне вивчення листя та кореневищ півників угорських та сортових півників.

Предмет дослідження. Виявлення, виділення в індивідуальному стані, ідентифікація БАР у сировині півників; одержання сухих екстрактів півників; вивчення параметрів їх стандартизації; їх фармакологічна активність.

Методи дослідження

Якісний склад і кількісний вміст БАР сировини півників угорських та сортових півників визначали за фармакопейними методами: ТШХ, ПХ, ВЕРХ, гравіметрія, хромато-мас-спектрометрія та абсорбційна спектрофотометрія в УФ- та видимій областях спектра; структуру індивідуальних речовин встановлювали методом УФ-, ІЧ-спектрофотометрії, ^1H ЯМР-спектроскопії; реакції ідентифікації БАР; фармакологічні дослідження проводили *in vivo* та *in vitro* з використанням стандартних методик. Обробку результатів експериментальних досліджень проводили статистичними методами із використанням програми Microsoft Excel 7.0 та пакета прикладних програм «Statistika».

Наукова новизна отриманих результатів

Вперше за допомогою ТШХ, ПХ, ВЕТШХ та ВЕРХ у досліджуваній сировині півників угорських та сортових півників було ідентифіковано сполуки ксантонової природи, похідні гідроксикоричної кислоти, флавоноїди, ізофлавоноїди, амінокислоти.

Методом ГХ у кореневищі півників угорських встановили вміст вільних амінокислот, що склав 6,25 %. Методом спектрофотометрії у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників встановлено вміст основних груп БАР – флавоноїдів, ізофлавоноїдів, гідроксикоричних кислот, ксантонів. Встановлено, що в листях півників у більшій кількості накопичуються гідроксикоричні кислоти (1,14-4,2 %) та ксантони (0,33-2,47 %), вміст флавоноїдів у листі та кореневищі півників знаходиться в середніх значеннях 1,04-3,55 %. Вміст ізофлавоноїдів, в середньому, вищий у кореневищі півників та складає від 1,07 до 3,15 %. Вперше проведено дослідження вмісту основних груп БАР в листі та кореневищі півників угорських з різних місць зростання на території України.

Методом ВЕРХ у кореневищі півників угорських ідентифіковано 7 сполук: мангіферин, текторидин, нігрицин-4'-O- β -D-глюкопіранозид, іристекторигенін В, нігріцин, іригенін, 5,6-дигідрокси-7,8,3',5'-тетраметоксиізофлавонол; у листі півників угорських – хлорогенова кислота і мангіферин, встановлено їх вміст. Вперше методом ВЕТШХ встановили вміст ксантонового глікозиду мангіферину у листях та кореневищах півників угорських, який склав 4,85 % і 2,47 % відповідно.

Вперше хромато-мас-спектрометричним методом у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників досліджено компонентний склад ефірної олії – вихід ефірної олії коливався від 0,1 до 0,3%.

Вперше встановлено мінеральний склад сировини півників угорських та сортових півників: за кількісним вмістом елементів домінує калій (K), кальцій (Ca) і магній (Mg), більша кількість яких накопичуються у листі півників. Такі елементи як залізо (Fe), алюміній (Al), натрій (Na), стронцій (Sr), цинк (Zn) та кремній (Si) мають більший вміст у кореневищі півників. Важкі метали містяться у допустимих межах.

Вперше за допомогою методу колонкової хроматографії з кореневищ півників угорських було виділено 18 речовин, структуру яких встановлено з використанням спектральних методів аналізу (УФ-, ІЧ- спектрофотометрія, ^1H ЯМР-спектроскопія). Серед ідентифікованих речовин ксантони – мангіферин, ізомангіферин, ізофлавоноїди – нігріцин, іригенін, текторидин, текторигенін, геністеїн, даїдзеїн, ононін, формонетин, гідроксикоричні кислоти – хлорогенова, неохлорогенова, каваова, ферулова кислоти, флавоноїди – кверцетин, апігенін, ембінін, гіперозид.

Розроблено технологію одержання біологічно активних речовин у вигляді сухого екстракту з листя та кореневищ півників угорських.

Вивчення фармакологічної активності проводилося на базі Центральної науково-дослідної лабораторії Національного фармацевтичного університету при керівництві доктора біологічних наук, доцента кафедри патологічної фізіології Рибак Вікторії Анатоліївни. Експериментальні дослідження

проводились згідно вимог комісії з біоетики та «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», що узгоджується з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей». Встановлено, що екстракти проявляють антигерпетичну, анаболічну, протизапальну активність у дозі 150 мг/кг.

Вперше встановлено основні морфолого-анатомічні діагностичні ознаки сировини півників угорських, розроблені проекти методик контролю якості сировини півників угорських та сухих екстрактів.

Практичне значення отриманих результатів

Розроблено проекти МКЯ «Півників угорських листя», «Півників угорських кореневища», «Півників угорських листя екстракт сухий», «Півників угорських кореневища екстракт сухий», «Півників угорських листя екстракт водний сухий», що може бути використано для впровадження у промислове виробництво.

Вперше розроблений новий метод виділення мангіферину з листя півників угорських (заявки на винахід а 2019 10508 та корисну модель ц 2019 10516). Результати досліджень щодо оптимальних умов культивування та заготівлі півників викладено в 2 інформаційних листах. Матеріали роботи впроваджені у навчальний процес кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського, кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету, кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (акти впровадження від 13.01.2020, 6.01.2020).

Особистий внесок здобувача

Наукові дослідження проводилися при участі наукових керівників: постановка мети та задач, обговорення результатів, керівництво дослідженнями. Здобувачем самостійно виконана експериментальна частина дисертаційної роботи, проведена графічна та статистична обробка одержаних результатів,

написані всі розділи дисертаційної роботи та сформульовані висновки. Аспірантом підготовлені та стандартизовані сухі екстракти з листя та кореневищ півників угорських для встановлення фармакологічної активності.

Аспірантом самостійно:

- вивчені, проаналізовані та узагальнені дані літератури з питань, що стосуються теми дисертації;
- проведено комплексне фармакогностичне дослідження сировини півників, що включає якісний та кількісний аналіз основних груп БАР у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників;
- досліджено вміст БАР у листі та кореневищі півників угорських за місцем зростання;
- досліджено морфолого-анатомічну будову листя та кореневищ півників угорських та встановлено їх основні діагностичні ознаки;
- розроблено проекти МКЯ «Півників угорських листя», «Півників угорських кореневища»
- розроблена технологія одержання сухих екстрактів з листя та кореневищ півників угорських, розроблені МКЯ «Півників угорських листя екстракт сухий», «Півників угорських кореневища екстракт сухий», «Півників угорських листя екстракт водний сухий»
- розроблений новий метод виділення ксантонового глікозиду мангіферину з листя півників угорських

Наукові роботи опубліковані у співавторстві з Ковальовим В.М., Михайленко О.О., Ковальовим С.В., Орловою Т.Г., Осолодченко Т.П., Буйдіним Ю.В., Гришиною О.В., Четвернею С. О. Співавторами наукових праць є наукові керівники та науковці, які брали участь у проведенні досліджень.

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня і з'їздах: XXIII international scientific and practical conference of young scientists and student (Kharkiv, April

26, 2016), конференція «Хімія природних сполук (Тернопіль, 21-22 квітня 2016), XXIV international scientific and practical conference of young scientists and student (Kharkiv, April 20, 2017), I Міжнародна науково-практична конференція «Ліки-людині» (Харків, 30-31 березня 2017), 69-я итоговая научно-практическая конференция студентов и молодых ученых (г. Витебск, ВГМУ, 19-20 апреля 2017 г.), International research and practice conference «Relevant issues of modern medicine: the experience of Poland and Ukraine», (Lublin (Poland) October 20-21, 2017), Організація наукових медичних досліджень «Salutem» – міжнародна науково-практична конференція (м. Дніпро, 8-9 грудня 2017 р.), The International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy practice is organized by the Faculty of Pharmacy of Lithuanian Health Sciences University in collaboration with Lithuanian Pharmaceutical Association and LSMU FF Alumni Association (Kaunas, Lithuania, December 15, 2017), республиканская научно-практическая конференция (с международным участием) «Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации» (Ташкент, 2016), Медична наука та практика XXI століття – міжнародної науково-практичної конференції (м. Київ, 2-3 лютого 2018 р.), Всеукраїнська наук.-практична конференція з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича (Харків, 12-13 квітня 2018 р.), XXVI Міжнародна наук.-практична конференція молодих учених та студентів (м. Харків, 2019), Управління якістю в фармації: XII наук.-практична конференція (м. Харків, 18 травня 2018 р.), Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку: наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України (м. Харків, 19-20 вересня 2019 р), Perspectives of science and education – 11th International youth conference (New York, USA, August 2, 2019), XIII International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds (October 16–19 Shanghai, 2019), Science and Practice 2019: The 10th International

Pharmaceutical Conference, Lithuanian University of Health Sciences, Faculty of Pharmacy (Kaunas, November 15, 2019).

Обсяг та структура дисертації

Дисертаційна робота викладена на 250 сторінках машинописного тексту, складається з анотації, вступу, 4 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 4 додатків, з яких 1 додаток містить 4 акти впровадження. Обсяг основного тексту дисертації складає 162 сторінки друкованого тексту. Робота проілюстрована 41 таблицями, 52 рисунками, 4 схемами. Список використаних джерел налічує 176 найменування, з них 86 кирилицею та 90 латиницею.

РОЗДІЛ 1.
БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД І
ЗАСТОСУВАННЯ В МЕДИЦИНІ РОСЛИН РОДИНИ ІРИСОВІ
(IRIDACEAE)
(Огляд літератури)

1.1 Назва рослини «півники», синоніми, короткий опис систематики

Синоніми: *Iris aphylla* ssp. *dacica* (Beldie), *Iris aphylla* ssp.; *Iris hungarica* (Waldst. & Kit.) Hegi; *Iris babadagica* Rzazade & Golneva; *Iris dacica* Beldie; *Iris diantha* K. Koch; *Iris furcata* var. *diantha* (K. Koch) Grossh.; *Iris hungarica* ssp. *dacica* (Beldie) Prodan [1].

Свою назву рослина одержала від імені грецької богині Іриди, котра сходила по веселці на землю, тому «ірис» у перекладі з грецького значить – райдуга, веселка, а рослина одержала цю назву своєю багату палітру кольорів. Назву цій рослині дав Гіпократ, а Карл Ліней, запропонувавши єдину систему назв рослин, залишив її [2]. В Росії довго використовували назву «касатик» – асоціювали листя півників з косою. Народи Болгарії, Сербії, Хорватії називали рослину в честь слов'янського бога Перуна – «перуніка», в Україні – «півники», тому що схожі на хвіст півня. Також в народі мали інші назви: пискульник, вовчий огірок, пролеска, сазани, лепешник, чикан [3].

Родина Півникові (Iridaceae) розподіляється на 3 підродини [4]:

- Crocoideae (шафранові) – *Crocus* L., *Romulea* Maratti, *Galaxia* Thunb
- Iridoideae (власно півники) – 35 родів, серед яких найчисельніші *Iris* L., *Moraea* L. *Libertia* Spreng., *Sisyrinchium* L., *Aristea* Aiton.
- Ixioideae (іксиєві) – *Ixia* L., *Tritonia* Ker Gawl., *Gladiolus* L., *Antholyza* L., *Cuninia* Mill.

Першим рід ірис систематизував Карл Лінней у 1753 році, який розділив півники на борідкові та безбороді. За останні два століття

класифікація дещо змінилась і доповнилась. Г.І. Родіоненко [5] та Б. Метью (B. Mathew) [6] є авторами двох найбільш поширених класифікацій роду.

Рід Ірис – *Iris* L. – охоплює понад 300 видів. Ареал зростання, переважно, Середземномор'я, Середня та Мала Азія, країни Європи. На території України у дикому виді зростають 15 видів півників: *болотяні* (*Iris pseudacorus*), *угорські* (*Iris hungarica*), *злаколисті* (*Iris graminea*), *солелюбні* (*Iris halophila*), *карликові* (*Iris pumila*), *сибірські* (*Iris sibirica*), *спурія* (*Iris spuria*), *строкаті* (*Iris variegata*) та інші [7], *півники бліді* (*Iris pallida*), *германські* (*Iris germanica*) культивуються.

Історія садових півників починається з XVIII століття. Перші культурні сорти, переважно бородаті, є гібридами *I. pallida* та *I. variegata*, що досить розповсюджені по Європі. Близько 350 років тому були описані морфологічні характеристики більш ніж 74 різновидів високих бородатих півників: колір приквітника, розмір квітконоса, листя, кореневищ та ін. Таким чином, різновиди півників були внесені в культуру і мали різні комерційні найменування [8].

З виникненням поліплоїдних сортів півників стало можливим створення нових морфологічних ознак: розмір і колір квітки, стійкість квітконосів, кількість бутонів, ін. Американською організацією півників (American Iris Society – AIS) щороку реєструється сотні сортів, що на теперішній час складають більш ніж 80 тисяч сортів бородатих півників різних класів [9].

Півники садові (*Iris hybrida Hort*) нараховують 1700 видів, серед яких 30 тисяч сортів бородатих півників. Усі сорти бородатих півників за висотою квітконоса поділяються на 3 групи [10]:

низькорослі (карликові) – 25-37 см

середньорослі – 38-69 см

високі – більше 70 см (рис. 1.1)

Міжнародна класифікація півників виділяє 15 садових класів [11,12]:

1. Tall bearded (TB) – високі бородаті

2. Border bearded (BB) – бордюрні бородаті
3. Miniature tall bearded (MTB) – мініатюрні високі бородаті
4. Intermedia bearded (IB) – інтермедіа бородаті
5. Standard dwarf bearded (SDB) – стандартні карликові бородаті
6. Miniature dwarf bearded (MDB) – мініатюрні карликові бородаті
7. Aril (AR) – аріли
8. Arilbred (AB) – арілбреди
9. Siberian (SIB) – сибірські
10. Spuria (SPU) – спурія
11. Japanese (JI) – японські
12. Louisiana (LA) – луїзіанські
13. Californian (CA) – каліфорнійські
14. Species (SPEC) – видові гібриди
15. Interspecies (SPEC-X) – міжвидові гібриди

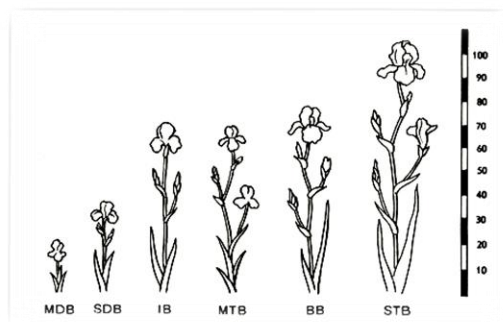


Рис. 1.1 Класифікація сортових півників за висотою рослини

Об'єктами дослідження є 5 сортових півників, що відносяться до класу стандартних карликових бородатих півників з класифікацією AIS. Наведені сорти легко культивуються та мають широке розповсюдження, що забезпечить сировинну базу [13].

1.2 Ботанічна характеристика *Iris hungarica* та сортових півників

Iris hungarica Waldst. et Kit.— багаторічна трав'яниста рослина з розгалуженим кореневищем завтовшки до 2 см, завдовжки 8-12 см. Листки

мечоподібні, плоскі, 25-30 см завдовжки. Квітки поодинокі, на коротких квітконіжках, піднесені на квітконосах середньої довжини, найчастіше вони синьо-фіолетові, рідше – темно-пурпурово-фіолетові або блідо-лілові (рис. 1.2). Плід – коробочка. Квітне у другій половині травня. Розмножується насінням і вегетативно, причому насіннєвий спосіб домінує у густому травостої, а вегетативний там, де рослини зазнають антропогенного впливу. Ареал виду охоплює Кавказ, Закавказзя, Східну Європу та південно-східну частину Центральної Європи, зокрема Угорщину.



Рис. 1.2 Півники угорські
(*Iris hungarica*)



Рис. 1.3 Різане кореневище півників
угорських

В Україні півники угорські трапляються в лісостеповій і степовій зонах, зрідка – в південній частині Полісся. Ці рослини зростають серед чагарників, на узліссях дібров, на галявинах мішаних і листяних лісів, рідше – на луках [14]. Сировинну базу для досліджень складають інтродуковані рослини, що зростають у ботанічних садах, дендропарках, тощо. Тому можна стверджувати, що розширення сировинної бази за рахунок культивованих півників є актуальним.

Об'єктами дослідження обрано стандартні карликові бородаті півники (рис. 1.4), тому що вони походять від бородатих півників і є результатом селекції півників угорських. Обрані сорти є більш розповсюдженими, що облегшує заготівлю сировини.

Сорти *I. hybrida* мають різне забарвлення квіток – жовте, біле, світло-бузкове, з борідкою різного кольору. Розмір квітки від 6 до 10 см у діаметрі. Листя, переважно, зелено-сизі з характерними ознаками, що притаманні півникам – гострий край листа, паралельне жилкування, прикореневе розташування. Довжина листа 16-22 см, ширина – 2-3 см. Кореневище вузлувате, у певних сортів відрізняється тим, що більш гладке і масивне. Ботанічна характеристика досліджуваних сортових півників наведена у таблиці 1.1.



Рис. 1.4 а – *I. hybrida* 'Little Dream'; б – *I. hybrida* 'Bright white'; в – *I. hybrida* 'Indian Pow Waw'; г – *I. hybrida* 'Mini Dynamo'; д – *I. hybrida* 'Galleon Gold'

Основні морфологічні характеристики досліджуваних зразків сортових півників

Назва сорту	Забарвлення квітки/борідки	Висота рослини	Розмір квітки, запах	Листя	Розмір кореневища	Характеристика рослини	Посилання
Galleon Gold Schreiner 1977	яскраво-жовта/бузково-фіолетова	30 см	10 см, середній квітковий	прикореневі, сизі	2 см завтовшки, 3-4 вузла, багато коренів	3-4 квітконоса на рослині. Квітне 15-17 днів, з середини травня.	15
Bright White W.Welch 1957	біла/ біла	30 см	8-9 см, слабкий квітковий	прикореневі, зелено-сизуваті	1,5-2 см завтовшки, 5-10 см завдовжки, до 4-5 вузлів,	4-5 пучка по 5 листків. Квітне у травні-червні	16
Indian Pow Wow Brown 1971	кремова/яскраво-синя	31-35 см	11-12 см, запах помірний, трав'яний	прикореневі, світло – зелені	1-1,5 см завтовшки, 7-10 см завдовжки, 3-4 вузла	4-5 пучка по 3-4 листка. Квітне напочатку травня	17
Little dream Schreiner 1970	бузкова/світло-блакитна	35 см	6,5-11,5 см, пряний, помірний	прикореневі, темно-зелені, сизуваті	2-3 см завтовшки, 6-8 см завдовжки, багато вузлів	3 пучка по 4-5 листків	18
Mini Dynamo Brown 1978	брунатна/фіолетово-синя	30-35 см	6,5-10 см, свіжий, приємний, слабкий	прикореневі, сизі	1,5-2 см завтовшки, 8-9 см завдовжки	5 пучків по 2-4 листка	19

1.3 Сучасний стан дослідження півників на території України та за її межами

За останні 20 років інтерес до рослин роду *Iris* значно збільшився, що зумовлено дослідженням хімічного складу рослин і виділенням цінних речовин. На території України півники культивують у багатьох ботанічних садах і дендропарках (Умань, Біла Церква, Закарпаття, Київ, Харків, Донецька обл.). Дослідженням інтродукції, біорізновиду, агротехнічних умов зростання півників займаються українські вчені Буйдін Ю., Скрипка Г., Макарова Д., Швець Т., Китаєв О., Н. А. Шиварова, Л. А. Полковникова, Л. М. Миронова, А. Ф. Рахімова, З. В. Долганова, В. І. Попова [10, 14, 20, 21, 22]; вчені зарубіжжя – Van Kleunen M., Johnson S. D., Fischer M., Arnold M., Raycheva T., Stoyanov K., Denev I. [23, 24, 25].

Дослідженням хімічного складу півників, динаміки накопичення БАР, фармакологічної активності займаються вчені з України – Михайленко О., Ковальов В.М. [19], зарубіжні – Доронькін В.М., Тихомирова Л.І., Базарнова Н.Г., Бородич Г.С., Козіна В.В., Алексєєва Н.Б., Глизін В., W. Kukula-Koch, I. Crisan, P. Kaššák, Wang Hui, Cui Yanmei, Zhao Changqi та інші [26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33].

1.4 Хімічний склад рослин роду *Iris* L.

Сировина півників має різноманітний склад біологічно активних речовин: кореневища накопичують, переважно, ізофлавоноїди, полісахариди, білки, ефірну олію та тритерпенові сапоніни; листя півників – ксантонів, гідроксикоричних кислот. За літературними даними, з кореневищ півників (*Iris florentina*, *Iris ensata*, *Iris bungei*, *Iris rosii*, *Iris nigricans*, *Iris pseudopumila*, *Iris albicans*, *Iris germanica*, *Iris pallida*, *Iris lactea*, *Iris domestica*) виділено та ідентифіковано більше 50 сполук ізофлавоноїдної природи [34, 35, 36]. Найбільш розповсюдженими є ізофлавоноїди ірилон, ірисолон, текторигенін, текторидін, ірисфлорентин, іридин, нігриканін. Серед

флавоноїдів – ембінін, ірифлофенон, вітексин, гомоорієнтин, орієнтин, кверцетин, апігенін, мірицетин, гіперозид [37].

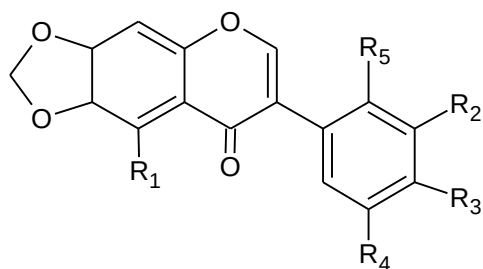
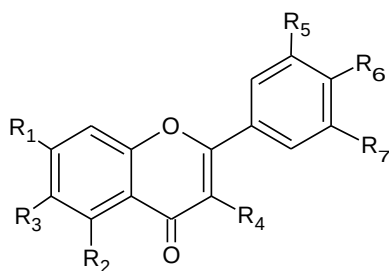


Рис. 1.5 Похідні метилendioксиізфлавоноу, ідентифіковані у рослинах роду *Iris*

Таблиця 1.2

Сполуки з метилendioксидною структурою

Назва сполуки	Замісники				
	R1	R2	R3	R4	R5
ірилон	ОН	Н	ОН	Н	Н
ірифлогенін	ОН	OMe	ОН	Н	Н
4'-О-метилірилон	ОН	Н	OMe	Н	Н
ірисолон	OMe	Н	ОН	Н	Н
4'-метилірисолон	OMe	Н	OMe	Н	Н
скварозин	ОН	OMe	OMe	Н	Н
діхотомітин	ОН	ОН	OMe	OMe	Н
ізоірискашміріанін	OMe	ОН	Н	OMe	Н
ірискумаонін	OMe	ОН	OMe	Н	Н
нігріканін	OMe	OMe	ОН	Н	Н
ірискумаонін метиловий ефір	OMe	OMe	OMe	Н	Н
кашмігенін	Н	OMe	ОН	OMe	Н
софоранін А	ОН	ОН	OMe	Н	Н
норірисфлорентин	ОН	OMe	OMe	OMe	Н
ірисон А	ОН	Н	Н	Н	OMe
ірисон В	ОН	Н	Н	Н	ОН
ірисфлорентин	OMe	OMe	OMe	OMe	Н
бетавульгарин	OMe	Н	Н	Н	ОН
тлатанціїн	OMe	Н	Н	Н	OMe

Рис. 1.6 Похідні флавону, ідентифіковані у рослинах роду *Iris*

Таблиця 1.3

Флавоноїди, ідентифіковані у рослинах роду *Iris* [38, 39]

Назва сполуки	Замісники						
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7
Ембінін	ОН	ОН	Glu	H	H	OCH ₃	H
Ембігенін	ОН	ОН	H	H	H	OCH ₃	H
Свертизин	OCH ₃	ОН	Glu	H	H	ОН	H
Ізовітексин	ОН	ОН	Glu	H	H	ОН	H
Ізоорієнтин	ОН	ОН	Glu	H	H	ОН	ОН
5-гідроксил-4',7-диметоксифлавіон	ОН	OCH ₃	H	H	H	OCH ₃	H
Кверцетин	ОН	H	ОН	ОН	ОН	ОН	H
Мірицетин	ОН	ОН	H	ОН	ОН	ОН	ОН
Апігенін	ОН	ОН	H	H	H	ОН	H
Рутин	ОН	H	ОН	O-Glu	ОН	ОН	H
Гіперозид	ОН	H	ОН	O-Glu-O-Rham	ОН	ОН	H

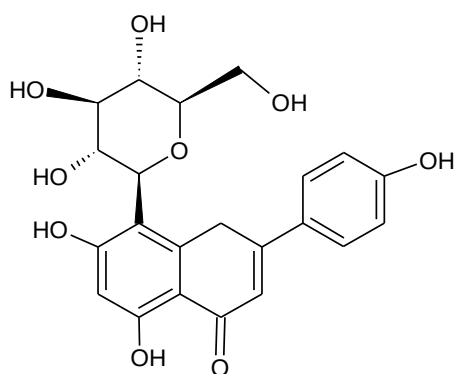
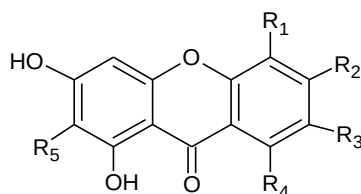


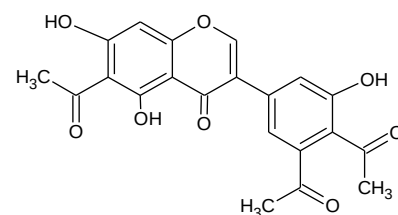
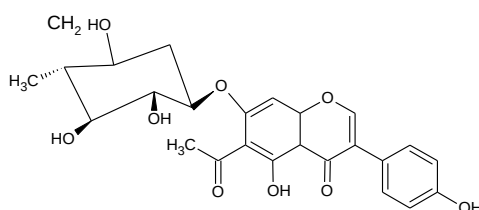
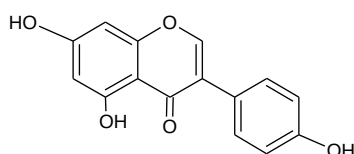
Рис. 1.7 Структурна формула вітексину

Рис. 1.8 Похідні дибензо-γ-пірону, ідентифіковані у рослинах роду *Iris*

Таблиця 1.4

Сполуки, ідентифіковані у рослинах роду *Iris*, що мають структуру дибензо-γ-пірону [33]

Назва сполуки	Замісники				
	R1	R2	R3	R4	R5
неомангіферин	H	OH	O-Glu	H	Glu
мангіферин	H	OH	OH	H	Glu
нігріканізид	OH	H	H	OH	Glu



Іристекторин В

Іристекторин А

Іристекторигенін А

Рис. 1.9 Структурна формула ізофлавоноїдів, ідентифіковані у рослинах роду *Iris*

Таблиця 1.5.

**Фенольні сполуки, ідентифіковані у деяких представників родини
Iridaceae [40]**

Назва сполуки	Формула	Вид півників
беламкандал	$C_{32}H_{48}O_6$	<i>I. japonica</i>
дихотомітин	$C_{18}H_{14}O_8$	<i>I. dichotoma</i> , <i>I. potaninii</i>
6,4'-диметокси-5-гідроксифлавіон 7-глюкозид	$C_{23}H_{24}O_{11}$	<i>I. carthaliniae</i>
ембінін	$C_{29}H_{34}O_{14}$	<i>I. japonica</i> , <i>I. tectorum</i>
германаїзм А ірискашміріанін	$C_{24}H_{24}O_{12}$	<i>I. germanica</i>
германаїзм В нігріцин	$C_{23}H_{22}O_{11}$	<i>I. germanica</i>
22,23-епоксиіридал	$C_{30}H_{50}O_4$	<i>I. cristata</i>
іридал	$C_{30}H_{50}O_3$	<i>I. germanica</i>
іридин	$C_{24}H_{26}O_{13}$	<i>I. germanica</i> , <i>I. dichotoma</i> , <i>I. unguicularis</i> , <i>I. florentina</i> , <i>I. komonoensis</i>
іридотекторал А	$C_{30}H_{46}O_5$	<i>I. tectorum</i>
іридотекторал В	$C_{30}H_{46}O_5$	<i>I. tectorum</i>
ірифлогенін	$C_{17}H_{12}O_7$	<i>I. germanica</i> , <i>I. potaninii</i>
ірифлофенон	$C_{13}H_{10}O_5$	<i>I. potaninii</i> , <i>I. florentina</i>
іригенін	$C_{18}H_{16}O_8$	<i>I. germanica</i> , <i>I. dichotoma</i> , <i>I. tectorum</i>
ірисфлорентин	$C_{20}H_{18}O_8$	<i>I. dichotoma</i>
ірискашміріанін	$C_{18}H_{14}O_7$	<i>I. germanica</i>
ірисоїд А	$C_{17}H_{12}O_7$	<i>I. bungei</i>
ірисоїд В	$C_{18}H_{14}O_7$	<i>I. bungei</i>
ірисоїд С	$C_{18}H_{14}O_7$	<i>I. bungei</i>
ірисоїд D	$C_{17}H_{10}O_7$	<i>I. bungei</i>
ірисоїд Е	$C_{17}H_{10}O_8$	<i>I. bungei</i>
ірисолідон	$C_{17}H_{14}O_6$	<i>I. germanica</i>
ірисолідон 7-глюкозид	$C_{23}H_{24}O_{11}$	<i>I. germanica</i>
ірисхінон А	$C_{24}H_{38}O_3$	<i>I. pseudacorus</i> , <i>I. pallasii</i> , <i>I. lactea</i>
іристоригенін В	$C_{29}H_{34}O_{17}$	<i>I. carthaliniae</i>
ізоіридогерманал	$C_{30}H_{50}O_4$	<i>I. japonica</i>
свертіяпонін	$C_{22}H_{22}O_{11}$	<i>I. sanguinea</i>
текторідин	$C_{22}H_{22}O_{11}$	<i>I. dichotoma</i> , <i>I. tectorum</i>
текторигенін	$C_{16}H_{12}O_6$	<i>I. dichotoma</i> , <i>I. tectorum</i> , <i>I. germanica</i>

Ефірна олія. Хімічна будова ірисової олії досить складна: вона містить значну кількість міристинової кислоти (близько 80%) з домішками метилових ефірів жирних кислот, а також компоненти з важливими для парфумерії властивостями – іонони (ірон та його ізомери), ноніловий та дециловий альдегіди, фурфурол [41]. Іонони – ненасичені кетони циклогексенового ряду, мають приємний запах. Це безбарвні рідини, які киплять при високій температурі, добре розчинні у спирті [42].

Натуральний ірон – це індикатор ефірної олії півників (як правило, *Iris florentina*, *Iris pallida*, *Iris germanica*), вміст якого складає майже 5% [43]. Ірон знаходиться у вигляді чотирьох структурних ізомерів, також присутні продукти його дегідратації (рис. 1.10).

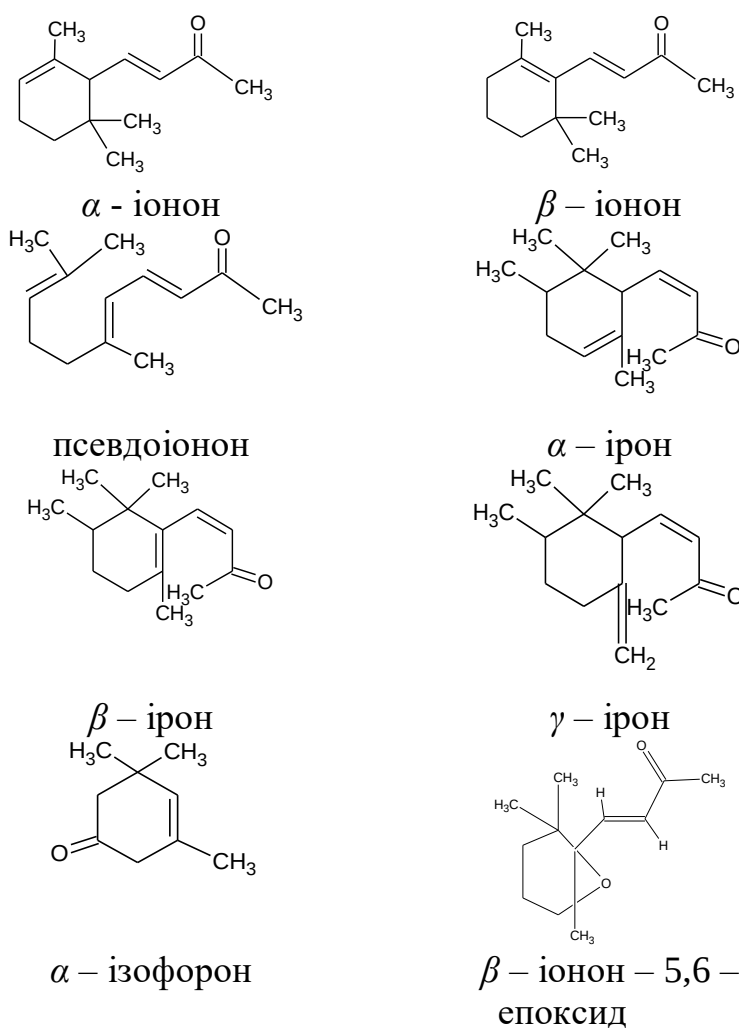


Рис.1.10 Основні компоненти ефірної олії півників.

1.5 Фармакологічне застосування рослин родини Iridaceae та проблема стандартизування сировини

Для введення лікарської рослинної сировини у якості діючого компонента у будь-яку лікарську форму або субстанцію необхідно провести стандартизацію цієї сировини, а також довести фармакологічну активність. Для стандартизації рослинної сировини, як правило, використовується відповідна нормативна документація, зокрема, монографії на дану рослинну сировину (таблиця 1.6). В Державній Фармакопеї України відсутня стаття на сировину півників, але є інші зарубіжні джерела, за якими регламентується якість рослинної сировини півників інших видів. В результаті аналізу було встановлено, що кореневища півників різнокольорових (*Blue flag*, *Iridis versicoloris rhizoma*) є офіційною сировиною та входять до Гомеопатичної фармакопеї Сполучених Штатів Америки і є джерелом отримання ізофлавоноїду іридину або іризину [44]. *Iris versicolor* та *Iris florentina* входять до *United States Pharmacopeia, Sixth Revision (1880-1890)* [45]. Крім того, кореневища *Iris versicolor*, у якості лікарського засобу входили до *British homoeopathic pharmacopoeia* [46]. Кореневища *Iris florentina*, *Iris germanica*, *Iris pallida* (*Orris root*, *Iridis rhizoma*) входять до Британської фармакопеї (*British Pharmacopea Codex, 1973*) [47]. Якість сировини встановлюють за вмістом та ідентифікацією ефірної олії. Кореневища *Iris germanica* входили до Фармакопеї Німеччини (1922) [48]. До Китайської Фармакопеї (2005) [49] та *Monographs for Quality Evaluation of Chinese Crude Drugs* (2011) [50] входять кореневища *Iris domestica* (syn. *Belamcanda chinensis*), в якості офіційного препарату з протипухлинною дією. Кореневища *I. tectorum* включено до Китайської Фармакопеї (видання 2010) (*The State Pharmacopoeia Commission of PR China*) [51]. Якість сировини кореневищ півників болотяних (*Rhizomata Iridis pseudacori*) регламентувалась ФС 42-17-72 [52]. Контролю підлягають числові показники: вміст вологи (не більше 12 %), сторонніх домішок не більше 5,0 % (залишків стебел і листків,

у тому числі відділених при аналізі), а також старих відмерлих кореневищ; не більше 5,0 % сторонніх часток, у тому числі не більше 3 % домішок мінерального походження. В інших монографіях присутні такі показники, як втрата в масі при висушуванні (10-12 %), масова частка загальної золи (5-8 %), масова частка золи, що нерозчинна у хлористоводневій кислоті (1-2 %), органічні домішки (1-5 %). Також у більш сучасних виданнях наведені розділи ідентифікації сировини півників (ТШХ) та кількісного визначення ірисфлорентину (метод ВЕРХ) [51]. Так, British Herbal Pharmacopeia пропонує ідентифікувати сировину за вмістом рутину, Taiwan Herbal Pharmacopeia – за наявністю характерних плям на пластинці, кількісним вмістом ірисфлорентину (не менше 0,1 %). ДФУ 2.1. пропонує стандартизацію сировини *I. domestica* також за вмістом ірисфлорентину (0,1 %), якісний аналіз – на ірисфлорентин і кумарин.

Кореневища півників болотяних входять до складу Збору М.М. Здренка [53], для лікування папіломатозу сечового міхура, антацидного гастриту, виразкової хвороби шлунка (Україна; РФ); та до складу БАД «Панкріюфіл» («Фітолінія СмартМед», НВО «Міжнародний медичний центр», Україна) для лікування хвороб підшлункової залози, кишечника, ферментативної недостатності; має знеболюючі, протизапальні властивості, пригнічує протеолітичні ферменти (трипсин, хімотрипсин, калікреїн, плазмин) в плазмі крові [54,55]. У народній медицині півники знайшли застосування як спазмолітичний, анальгезуючий, протизапальний, в'язучий, проносний засіб. Свіже кореневище давали дітям, коли в них різалися зуби [56, 57].

Зростаючий інтерес до рослин роду *Iris* зумовлений наявністю різних хімічних сполук в рослинній сировині, що забезпечують фармакологічну активність. Кореневища та листя *Iris domestica* (*Belmcanda chinensis*) широко використовуються у китайській народній медицині, на науковому рівні встановлено, що субстанції, одержані з кореневищ *Iris domestica* проявляють гепатопротекторну, протипухлинну, антиоксидантну, протизапальну дію [58,

59, 60]. Також, субстанції, одержані з інших видів півників проявляють імуномодулюючу [61, 62], антимікробну [63, 64], протизапальну [65, 66, 67], антиоксидантну [68, 69, 70, 71], гепатопротекторну [72], протипухлинну [73, 74], гіпоглікемічну [75] дію (таблиця 1.7). Листя півників є мало досліджуваними – встановлена гіпоглікемічна та антимікотична дія субстанцій з листя *Iris domestica* та *Iris kashmiriana* [76, 77].

Результати порівняння вимог щодо якості сировини півників

Показник	ДФ СРСР – VIII, 1952	ФС 42-17-72	Edition of the London Pharmacopeia, 1971	The British Herbal Pharmacopeia, 1992	Taiwan Herbal Pharmacopeia	ДФУ 2.1. 2016
1	2	3	4	5	6	7
Вид півників	<i>I. germanica</i> L., <i>I.</i> <i>florentina</i> L., <i>I. pallida</i> Lam.	<i>Iris</i> <i>pseudacorus</i>	<i>I. florentina</i> , <i>I. pseudacorus</i>	<i>I. versicolor</i> L	<i>Belamcanda chinensis</i> (<i>I. domestica</i>)	<i>Belamcanda chinensis</i> (<i>I. domestica</i>)
Опис зовнішнього вигляду	+	+	+	+	+	+
Макро- та мікроскопічний аналіз	Порошок кореневища	-	-	Порошок кореневищ	Порошок кореневищ	Порошок кореневищ
Втрата в масі при висушуванні, %	-	Не більше 12 %	-	-	Не більше 10 %	Не більше 10 %
Масова частка загальної золи, %	Не більше 5 %	-	-	Не більше 8 %	Не більше 8 %	Не більше 7 %
Масова частка золи, що нерозчинна в 10% соляній кислоті, %	-	-	-	Не більше 2 %	Не більше 2 %	Не більше 1 %
Залишки листя	-	-	-	Не більше 5 %	-	-
Придаткових коренів, відокремлених від кореневищ	-	Не більше 3 %	-	-	-	-

1	2	3	4	5	6	7
Побурілих та почорнілих на зламі кореневищ	-	Не більше 5 %	-	-	-	-
Вміст органічних домішок	-	Не більше 1 %	-	-	-	-
Вміст мінеральних домішок	-	Не більше 1 %	-	-	-	-
Масова частка сторонніх домішок	-	-	-	Не більше 2 %	-	-
Розчинність екстракту у 60% спирті	-	-	-	Не менше 25 %	Не менше 12 %	-
Розчинність екстракту у воді	-	-	-	-	Не менше 12 %	-
Ідентифікація (ТІХ)	-	-	-	Забарвлення зон, стандарт: рутин, УФ 366 нм. Етил-ацетат:ангідрид мурашиної кислоти:оцтова кислота:вода (100:11:11:27)	Rf плям, забарвлення, УФ 254, етил-ацетат:метанол:вода (10:2:1)	Rf плям, забарвлення, стандарт: розчин ірисфлорентину і кумарину; УФ 254 та 365 нм. Оцтова кислота льодяна:циклогексан:етилацетат (1:20:80)
Кількісне визначення (HPLC)	-	-	-	-	вміст ірисфлорентину. Рухома фаза метанол і 0,2% розчин фосфорної кислоти (53:47), $\lambda_{\max}$ 266 нм.	вміст ірисфлорентину. Рухома фаза 0,05% розчин фосфорної кислоти, ацетонітрил, $\lambda_{\max}$ 266 нм.
					Не менше 0,1 %	Не менше 0,1 %
Вміст ефірної олії	Не менше 0,1 %	-	-	-	-	-

Таблиця 1.7

**Фармакологічна активність субстанцій, одержаних з сировини
різних видів півників**

Вид, що досліджувався	Сировина	Активність	Доза субстанції
1	2	3	4
<i>I. domestica</i>	Кореневища	протизапальна	
		антиоксидантна	0,5 ммоль/г
		гепатопротекторна	10 μМ, 25 мг/кг
<i>I. germanica</i>		імуномодуюча	0,1-0,8 мг/кг
<i>I. pseudopumila</i>		антиоксидантна	
<i>I. germanica</i>		протираковинна	5 μМ
<i>I. tectorum</i>			30 мг/кг
<i>I. domestica</i>		антимікробна	0,2-6,25 мг/мл
<i>I. pseudacorus</i>			5,0 мг/мл
<i>I. pallida</i>			0,25 г/л
<i>I. rossii</i>		протизапальна	
<i>I. lactea</i>			0,05 г
<i>I. medwedewii</i> , <i>I. carthaliniae</i>			0,4 мл/100 г
<i>I. unguicularis</i>		протираковинна	400 μМ
<i>I. ensata</i>		гіпоглікемічна	50мг/кг
<i>I. domestica</i>		естрогенна	10 μМ
		протираковинна	
		антиоксидантна	100 мг/кг
		гепатопротекторна	50 – 100 мг/кг

1	2	3	4
<i>I. songarica</i>		антиоксидантна	305,5; 15,7; 322,0 мг/мл
<i>I. pseudacorus</i>			4,5 мкг
<i>I. medwedewii</i> , <i>I. carthaliniae</i>		діуретична	0,2; 0,3; 0,4; 0,5 мл/100 г
<i>I. pseudacorus</i>			25, 40, 150 мг/кг
<i>I. versicolor</i>		гіпопролактинемічна	162 мг
<i>I. domestica</i>	Листя	гіпоглікемічна	125, 250 мг/кг
<i>I. kashmiriana</i>		антимікотична	-

1.6 Розмноження півників

Цвітуть півники в травні-червні. Півники відносяться до зимостійких рослин. Вегетація починається весною при температурі ґрунту 8-10 °С. До ґрунту півники невимогливі та є засухостійкими рослинами [78].

Розмножуються насінням й вегетативно: шматками кореневищ і відростками (однолітніми новотворами). Для розмноження звичайно використовують відростки з добре розвиненими придатковими коренями [79].

Для висадки готують оранку глибиною 27-30 см, за необхідністю вносять добрива. Оптимальним терміном висадки півників є друга половина вересня. Посадковий матеріал заготовляють на спеціально висаджених чистосортних маточниках. З однієї рослини одержують до 12 молодих відростків. Для посадки відбирають відрізки кореневищ масою 30-50 г з мочковою системою корінців і декількома листками. Листя на дві третини укорочують. Півники висаджують у ґрунт із площею 70×30 см на глибину 8-10 см [80].

На другому році життя півників плантацію підтримують у пухкому й чистому від бур'янів стані. Для цього застосовують культивування в міжряддях і прополку в рядах. Поливати півники треба лише під час посухи, а так, як правило, їм вистачає й атмосферних опадів. Проте обов'язкові поливи під час

висадки, у період бутонізації і водночас з підживлюванням. Необхідно видаляти зів'ялі квітки, а після цвітіння й квітконоси.

У жовтні листя півників підрізають у вигляді конусів заввишки 10-15 см. Перед настанням заморозків кореневища присипають землею на 5-7 см [81].

Збір врожаю й зберігання сировини. На другий рік після посадки в серпні кореневище викопують плугом або підрізають скобою. Викопане кореневище миють, сушать, подрібнюють за необхідністю. Зберігають в сухому приміщенні. Урожайність кореневищ становить 5-8 т/га [82].

Представники родини *Iridaceae* є перспективною сировиною для вивчення з метою розробки нових фітопрепаратів, про що свідчать літературні дані наведеного розділу. Історія застосування півників у народній медицині зумовлена високою біологічною активністю через вміст різних груп БАР. Півники угорські, що відносяться до флори України, є мало вивченою рослиною, а сорти гібридних півників – зовсім не досліджені, що створює передумови для дослідження даної сировини півників.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

РОЗДІЛ 2

ЯКІСНИЙ ТА КІЛЬКІСНИЙ АНАЛІЗ СИРОВИНИ ПІВНИКІВ

2.1 Вибір загальної методології дослідження

1. Сировиною для дослідження були листя та кореневища півників угорських, заготовлені у різних місцях по території України:

- м. Біла Церква, Дендрологічний парк «Олександрія» НАН України (квітень 2017) [CWU0056603]
- м. Умань, Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України (квітень 2017) [CWU0056598]
- м. Київ, Національний ботанічний сад ім. Гришка НАН України (вересень 2014, травень 2017) [CWU005660 (14), CWU0056598 (15)]
- м. Харків, ботанічний сад Харківського Національного університету ім. В.Н. Каразіна (вересень 2017, травень 2019) [CWU0056604, CWU0056601].

Також об'єктами дослідження були листя та кореневища сортових півників заготовлені у Національному ботанічному саду ім. М. М. Гришка (м. Київ), ваучерні номери [CWU0056595, CWU0056596, CWU0056602, CWU0056597, CWU0056603 CWU0056599] (таблиця 2.1, Додаток В).

Таблиця 2.1

Об'єкти дослідження

№	Вид/сорт	Сировина	Рік заготівлі	Місце заготівлі
1	2	3	4	5
1	Півники угорські	листя	квітень 2017	м. Біла Церква, дендрологічний парк «Олександрія»
2		кореневище		
3		листя	квітень 2017	м. Умань, національний дендрологічний парк «Софіївка»
4		кореневище		
5		листя	травень 2017	м. Київ, Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка
6		кореневище	вересень 2014	
7		кореневище	травень 2017	
8		листя	вересень 2017	м. Харків, ботанічний сад им. В.Н. Каразіна
9		кореневище	травень 2018	
10		листя	травень 2019	м. Харків, ботанічний сад им. В.Н. Каразіна
11		кореневище	травень 2019	
12	<i>I. hybrida</i> 'Little Dream'	листя	травень 2015	м. Київ, Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка
13		кореневища	травень 2015	
14		листя	вересень 2017	м. Київ, Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка
15		кореневища	вересень 2017	

Продовж. табл. 2.1

1	2	3	4	5
16	<i>I. hybrida</i> 'Mini Dynamo'	листя	травень 2015	м. Київ, Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка
17		кореневища	травень 2015	
18		листя	вересень 2017	м. Київ, Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка
19		кореневища	вересень 2017	
20		кореневища	травень 2018	м. Донецьк, Донецький ботанічний сад
21	<i>I. hybrida</i> 'Bright white'	листя	травень 2015	м. Київ, Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка
22		кореневища	травень 2015	
23		листя	вересень 2017	м. Київ, Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка
24		кореневища	вересень 2017	
25	<i>I. hybrida</i> 'Galleon Gold'	листя	травень 2015	м. Київ, Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка
26		кореневища	травень 2015	
27		листя	вересень 2017	м. Київ, Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка
28		кореневища	вересень 2017	
29	<i>I. hybrida</i> 'Indian Pow Wow'	листя	травень 2015	м. Київ, Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка
30		кореневища	травень 2015	
31		листя	вересень 2017	м. Київ, Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка
32		кореневища	вересень 2017	

2. Хроматографічне дослідження проводили на папері «Filtrak» (FN-1), пластинках «Silufol» UV-254 (Чехія), Merk 60 F, Merk F₂₅₄ (Німеччина). Для хроматографування використовували наступні системи розчинників:

№ 1 – *n*-бутанол-оцтова кислота-вода (БОВ) (4:1:2) – для виявлення флавоноїдів, ксантонів, гідроксикоричних кислот, контроль виділених фракцій речовин;

№ 2 – 2 % оцтова кислота – для виявлення гідроксикоричних кислот;

№ 3 – 15 % оцтова кислота – для виявлення флавоноїдів, поліфенольних сполук, ксантонів;

№4 – хлороформ-метанол (9:1) – виявлення ізофлавоноїдів (ТШХ)

№5 – бензол-етилацетат-оцтова кислота-вода (50:50:1:1) – аглікони флавоноїдів та ізофлавоноїдів;

№ 6 – *n*-пропанол-25 % розчин амоніаку (4:6) – органічні кислоти;

№ 7 – толуол-етилацетат-циклогексан-мурашина кислота (24:6:3:0,9) – виявлення агліконів ізофлавононів.

№ 8 – етилацетат-оцтова кислота-мурашина кислота-вода (100:5:5:15) – виявлення ксантонів, флавоноїдів.

№ 9 – етилацетат-метанол-мурашина кислота-вода (32:6:3:2) – виявлення ксантонів.

№ 10 – кислота оцтова льодяна-бутанол (5:95) – виявлення агліконів ізофлавононів.

№ 11 – толуол-етилацетат-мурашина кислота (5:4:1) – виявлення агліконів ізофлавононів.

3. Процес хроматографування проводили методами висхідної (ПХ, ТШХ), низхідної, одномірної, двомірної хроматографії (ПХ). Співвідношення розчинників, вказано цифрами, взяті у об'ємних одиницях.

4. На хроматограмах речовини виявляли до і після обробки різними реактивами за забарвленням у денному світлі та за флюоресценцією їх у фільтрованому УФ – світлі при 366 та 254 нм:

А – пари амоніаку;

Б – 1 % спиртовий розчин алюміній хлориду;

В – 3 % розчин ферум(III) хлориду;

Г – розчином аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти (10 г/л).

Для проявлення та фотографування використовували візуалізатор Camag (TLC Visualizer, Gamag Linomat 5 (Kuriame Lietuvos ateiti) з програмним забезпеченням Win CATS).

5. Гідроліз речовин ізофлавоноїдної природи проводили з використанням 5 % сірчаної кислоти, нагріваючи на водяній бані протягом 2 годин.

6. Для виділення індивідуальних сполук методом колонкової хроматографії використовували силікагель марки SilicaGel 100-200 (з розміром часток 75-150 мкм) (США), що був попередньо відмитий від йонів металів 0,5 % розчином хлористоводневої кислоти. Силікагель висушували на повітрі при кімнатній температурі та активували при температурі 120 °С впродовж 3 год у сушильній шафі.

7. Для вимірювання густини суміші хлороформ-етанол використовували набір ареометрів АОН–1 (ГОСТ 1848 1-81, 1989 р.).

8. Температуру плавлення визначали за допомогою блока Кофлера (Franz Kostner nich K:G:Dresden; N.K. 70/3314k).

9. Речовини аналізували після двох-, трикратної кристалізації з відповідних розчинників і висушування у вакуумі при 10^{-2} мм.рт.ст. над P_2O_5 при температурі 110-115 °С впродовж 5 год.

10. УФ-спектри поглинання та оптичну густину розчинів знімали на спектрофотометрах Carl Zeiss Specord M-80 (Германія), «Evolution 60S» (США), SPEKOL 1500 (Analytik Jena AG, Германія) у кюветах з товщиною шару 10 мм.

11. Для отримання УФ-спектрів поглинання застосовували іонізуючі та комплексоутворюючі реагенти: 10 % спиртовий розчин натрій гідроксиду; 2 % спиртовий розчин цирконіл хлориду (оксоцирконіл (IV) хлорид); 3 % спиртовий розчин борної кислоти; 2 % спиртовий розчин лимонної кислоти; натрій ацетат (прожарений при 120-150 °С).

12. ІЧ-спектри реєстрували на спектрофотометрі Tensor 27, UR – 20 (ГДР) у таблетках калій броміду при співвідношенні речовини та наповнювача 1:200-1:400.
13. Спектри ^1H ЯМР знімали на приладі Varian Mercury-VX-200 (200 MHz) (США), розчинник $\text{DMSO-}D_6$ (внутрішній стандарт ТМС, хімічні зсуви наведено у шкалі δ (м.ч).
14. Мас-спектри знімали на приладі Varian 1200 L (США) (температура іонізаційної камери 150-300 °C, іонізуюча напруга 70 eV, 40-600 m/z).
15. Аналіз метилових ефірів жирних кислот та компонентний склад ефірної олії проводили методом хромато-мас-спектрометрії 5973N/6890N MSD/DS Agilent Technologies (США).

Аналіз метилових ефірів жирних кислот. До наважки сировини (50,0 мг) у віалу на 2,0 мл додавали внутрішній стандарт (розчин 50,0 мкг тридекан у гексані) і 1,0 мл метилуючого агенту (14 % BCl_3 у метанолі, Supelco 3-3033). Суміш витримували в герметично закритій віалі 8 годин при 65 °C. Реакційну суміш зливали з осаду рослинного матеріалу і розбавляли 1,0 мл дистильованої води. Метилові ефіри екстрагували 0,2 мл хлористого метилену, обережно струшуючи кілька разів протягом години, потім хроматографували отриманий екстракт.

Аналіз метилових ефірів карбонових кислот проводили методом хроматографії-мас-спектрометрії на 5973N/6890N MSD/DS Agilent Technologies (США). Внутрішній стандарт (розчин тридекану (50,0 мкг) в гексані) та 1,0 мл метилуючого агента (14 % BCl_3 в метанолі, Supelco 3-3033) додавали до зваженого зразка продукту (50,0 мг) у флаконі 2,0 мл. Суміш витримували при 65 °C у герметичному флаконі протягом 8 годин. У цей час жирна олія була повністю екстрагована з рослинної сировини. Вільні органічні та фенолкарбонові кислоти метилювали одночасно. Реакційну суміш елюювали з рослинного матеріалу та розводили 1,0 мл дистильованої води. Метилові ефіри екстрагували 0,2 мл розчином

метиленхлориду, обережно струшували кілька разів протягом години, а потім отриманий екстракт хроматографували.

Аналіз компонентів ефірної олії. До наважки сировини (50,0 мг) у віалу на 2,0 мл додавали внутрішній стандарт (розчин 50,0 мкг тридекан у гексані) і 10,0 мл води. Леткі сполуки відганяли з водяною парою протягом 2-х годин з використанням зворотнього холодильника. У процесі відгону леткі речовини адсорбуються на внутрішній поверхні холодильника. Адсорбовані речовини після охолодження системи змивали повільним додаванням 3,0 мл особливо чистого пентана Fluka 76869 (вміст мікродомішок 1,0 мг на 1,0 л) в суху віалу на 10,0 мл. Змив концентрували продувкою (100 мл/хв) особливо чистого азоту до залишкового об'єму екстракту 10,0 мкл, який повністю відбирали хроматографічним шприцем. Подальше концентрування проби проводили у самому шприці до обсягу 2,0 мкл.

Умови хроматографування. Введення проби (2,0 мкл) у хроматографічну колонку проводили в режимі без поділу потоку протягом 0,2 хвилин. Для поділу застосовували капілярну колонку HP-INNOWAX (30 м×250 мкм×0,50 мкм). Рухома фаза: гелій, швидкість потоку газу – 1,2 мл/хв. Температура нагрівача введення проби – 250 °С. Температура термостата програмована від 50 до 250 °С зі швидкістю 4 град/хв. Для ідентифікації компонентів використовували дані бібліотек мас-спектрів NIST05 і WILEY 2007 із загальною кількістю спектрів більше 470000 у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS і NIST. Вміст речовин розраховували щодо внутрішнього стандарту. Відносний вміст жирних кислот визначали у відсотках від їх суми.

16. Аналіз амінокислотного вмісту проводили методом газової хроматографії-мас спектрометрії. Стандартні розчини амінокислот (еталонні зразки аланіну, серину, валіну, треоніну, лейцину, ізолейцину, проліну, аспарагінової кислоти, глютамінової кислоти, лізину, метіоніну, фенілаланіну, тирозину) висушували під дією азоту до сухого залишку,

потім додавали 100 мкл ацетонітрилу і 100 мкл N-трет-бутилдиметилсиліл-N-метилтрифторацетаміду. Отриманий розчин нагрівали при 100 °С протягом 2,5 годин у гліцериновій бані.

Дослідження проводилось на приборі SHIMADZU GC-MS-QP2010. Ультра хроматографічна система з RXI-5ms (корпорація Restek), капілярна колонка (довжина 30 м, зовнішній діаметр 0,25 мм та товщина рідкої стаціонарної фази 0,25 мкм) з рідкою нерухомою фазою (5 % дифенілу та 95 % полісилоксану), газ-носій – гелій.

Температуру духової шафи підтримували від 75 °С протягом 5 хв, потім збільшували на 10 °С/хв до 290 °С протягом 5 хв, після – на 20 °С/хв до 320 °С і підтримували постійною протягом 5 хв. Температура інжектора становила 260 °С, об'єм інжекції 1 мкл, коефіцієнт розщеплення 1:20, напруга джерела іону 70 еВ. Діапазон сканування масових спектрів m/z 35-500 аом з масовим часом сканування 0,2 секунди, температура інтерфейсу 280 °С. Швидкість потоку колонки становила 1,5 мл/хв, тиск 100 кПа, загальні витрати: 34,4 мл/хв. Час проходження – 41 хв.

17. Фармакологічну активність встановлювали у відповідності до методичних рекомендацій «Доклінічні дослідження лікарських засобів».

Для дослідження протизапальної активності використовували карагенін фірми «Sigma» (США). У якості препаратів порівняння використовували диклофенак натрію (ТОВ «Харківське фармацевтичне підприємство «Здоров'я народу», м. Харків, Україна), альтан (ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», м. Київ, Україна). Отримані результати піддавали статистичному аналізу з використанням критерію Ньюмена-Кейлса за допомогою Excel 2010 р.

Для встановлення анаболічної активності зважування тварин (натще) проводили на лабораторних електронних вагах AD 300 (Axis, Польща). Кількісний вміст білку в сироватці крові визначали біуретовим методом за допомогою стандартного набору реактивів «Загальний білок

(Біуретовий з калібратором)» HP010.01 (ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика», Україна) фотоелектроколориметрі КФК-3. Статистичний аналіз результатів проводили із застосування параметричних методів аналізу (ANOWA, t – критерій Ст'юдента) за допомогою стандартного пакету програми STATISTICA 6.0.

У відповідності з рекомендаціями ВООЗ для оцінки протимікробної активності досліджуваних зразків використовувались наступні музейні тест -штами: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Basills subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885/653. Визначення чутливості штамів мікроорганізмів до антибактеріальних лікарських засобів проводили у відповідності до методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» (Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 05.04.2007 р. № 167) диско-дифузійним методом на середовищі Мюлера-Хінтона (HiMedia, Індія) з використанням стандартних комерційних дисків (фірма «Аспект», Україна).

Приготування суспензій мікроорганізмів проводили за допомогою стандарту каламутності (0,5 од. за шкалою McFarland). Використовували прилад Densi-La-Meter (виробництва PLIVA-Lachema, Чехія; довжина хвилі 540 нм). Суспензію готували згідно з інструкцією до приладу та інформаційного листа про нововведення в системі охорони здоров'я № 163-2006 «Стандартизація приготування мікробних суспензій», м.Київ. Синхронізацію культур проводили за допомогою низької температури (4 °C).

Визначення чутливості штамів мікроорганізмів до антибактеріальних лікарських засобів проводили у відповідності до методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» (Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 05.04.2007 р. № 167) методом колодязів на середовищі

Мюллера-Хінтона («Himedia Laboratorles Pvt. Ltd India»), яке готували відповідно до інструкції виробника. Чутливість грибів визначали на середовищі Сабуро.

Визначення чутливості дослідних речовин проводили на двох шарах поживного середовища, які розливали у чашки Петрі. Нижчий шар складався з агар-агару (10 мл). На нього встановлювали 3-6 металеві стерильні циліндри діаметром 8 мм та висотою 10 мм. Навколо циліндрів заливали верхній шар (14 мл поживного середовища і 1 мл мікробного розчину 0,5 од. за шкалою McFarland), який складався з поживної агарізованого середовища з відповідним стандартом добової культури мікроорганізма. Після застигання стерильним пінцетом виймають колодязі і в лунки вносять дослідну речовину (0,3 мл).

Для визначення мінімальної бактерицидної концентрації (МБ_цК) виконували дозовані висіви на тверде поживне середовище (агар Мюллер-Хінтона) культуральної рідини з усіх пробірок, у яких не спостерігали росту мікроорганізму. За МБ_цК вважали найнижчу концентрацію, яка викликала загибель не менше 99,9 % бактерій. При постановці дослідів додатково проводили контролі росту культури в середовищі без досліджуваних речовин.

Випробування на мікробіологічну чистоту проводили методом прямого посіву на рідкі живильні середовища. Розливали асептично по пробірках у соєво-казеїновий бульйон, тіогліколеве середовище та рідке середовище Сабуро по 10,0 мл. В кожную з пробірок вносили по 1 г, 0,1 г та 0,001 г досліджуваного препарату. Посіви інкубували 14 днів на соєво-казеїновому бульйоні, тіогліколовому середовищі в термостаті при температурі 35 °С, посіви на рідкому середовищі Сабуро при температурі 25 °С. Нейтралізацію антибактеріальних властивостей досліджуваних зразків проводили інактиватором, який включає полісробат-80 (30 г/л) та ліцетин (3 г/л).

Встановлення антигерпетичної активності вивчали на штамі вірусу простого герпесу на культурі клітин Нер-2 (клітини епітеліальної карциноми гортані людини), які використовуються для виділення аденовірусів, а також вірусу простого герпесу. Для дослідження були використані клітинні моношари, з котрих виділявся вірус. У роботі використовували мікроскоп Granum R-60-Люкс, термостат електричний, термостат TV-80.

18. Для морфолого-анатомічного дослідження використовували кореневища з коренями та листя півників угорських. Дослідження проводили на свіжій, фіксованій і висушеній сировині. Як консервант і фіксатор використовували суміш рівних частин 96 % спирту, гліцерину і води, як проявляючу рідину – розчин хлоралгідрату і 3 % розчин лугу. Зрізи виконували лезом від руки. Готували і фарбували препарати по загальновідомим методиках. Препарат фотографували на мікроскопі МБІ-6 апаратом Nikon XP.

19. Статистичний аналіз результатів кількісних визначень проводили згідно з вимогами ДФУ, 1-е вид., доп. 1, п. 5.3; обробка інформації здійснювалася за допомогою програмного забезпечення (Microsoft Office Excel 7.0) та програми «Statistika».

2.2 Якісний аналіз листя та кореневищ півників угорських та сортових півників

2.2.1 Якісний аналіз на вміст різних груп БАР

Для визначення основних груп БАР у листі та кореневищах півників угорських та сортових півників використовували хімічні реакції ідентифікації, які проводили з водними та водно-спиртовими екстрактами з листя і кореневища півників угорських та сортових півників відповідно. Одержані екстракти досліджувалися на наявність основних груп БАР з використанням загальновідомих методів [83,84].

Для виявлення у сировині похідних простих фенолів до 1 мл фільтрату додавали кристалик заліза (III) хлориду.

Виявлення вільних цукрів здійснювали додаванням реактиву Фелінга: до 1 мл спиртового екстракту додавали 1 мл реактиву Фелінга та нагівали.

Встановлення вмісту танінів здійснювали за допомогою реакцій ідентифікації [85]:

- до 5 мл фільтрованого водного екстракту додавали однакову кількість свіжо приготовленого 1 % розчину желатину та 2 краплі 10 % розчину натрію хлориду;

- до 5 мл фільтрату додавали 3 % розчин заліза (III) хлориду;

- до 5 мл водного екстракту додавали 2-3 краплі 10 %-ного розчину оцтової кислоти та 10 мл 10 % розчину свинцю (II) ацетату.

Встановлення вмісту сапонінів [86]:

- в дві пробірки з однаковим діаметром переносили по 2 мл випробуваного екстракту; в одну додавали 2 мл 0,5 % розчину хлористоводневої кислоти ($pH=1$), а в іншу – 2 мл 0,5 % розчину натрію гідроксиду ($pH=13$) та енергійно струшували;

- до 2 мл екстракту додавали кілька крапель ацетату свинцю;

Виявлення флавоноїдів [87]:

- ціанідинава реакція за Бріантом. До 1 мл спиртового екстракту додавали 0,1 г порошку магнію та 0,5 мл концентрованої кислоти хлористоводневої. Пробірку нагрівали 2-3 хв на водяному нагрівнику.

- реакція з реактивом Фоліна-Деніса;

- реакції з реактивом Вільсона;

- 3 % розчином заліза (III) хлориду.

Ідентифікацію кумаринів здійснювали за допомогою реакції лактонної проби та діазореактивом у лужному середовищі [88]: додавали до 2 мл спиртового екстракту, 5 крапель 10 % розчину калію гідроксиду в етанолі, нагрівали на водяному нагрівнику протягом 5 хв. Вміст пробірки охолоджували, додавали 2 мл дистильованої води, вміст струшували, до

кислої реакції (лакмусовий папір), додавали розчин 10 % хлористоводневої кислоти. Реакція з діазореактивом у лужному середовищі: до 2 мл спиртового екстракту додавали 5 крапель 10 % розчину калію гідроксиду в етанолі та нагрівали на водяному нагрівачі протягом 3-5 хв, потім додавали 5 крапель свіжоприготованої діазосульфокислоти.

Виявлення алкалоїдів у екстрактах здійснювалось за допомогою реакцій на предметному склі за допомогою реактивів: 10 % розчину таніну, Драгендорфа, Зонненштейна, Вагнера, Бушарда, Майєра, 1 % розчином пікринової кислоти [89].

Висновок: За результатами проведеного фітохімічного дослідження у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників встановлена наявність флавоноїдів, сапонінів (тритерпенових – у кореневищах, стероїдних – в листях), кумаринів, танінів, простих фенолів; алкалоїди та вільні цукри не виявлені.

2.2.2 Хроматографічне дослідження сировини півників угорських та сортових півників

Для проведення хроматографічного аналізу сировини півників угорських та сортових півників попередньо адаптували та розробили умови хроматографування, при яких визначили найбільш ефективні для виявлення фенольних сполук. Під час розробки умов хроматографування проводили на пластинках з тонким шаром сорбенту марок Silufol, Sorbfil, Merk у рухомих фазах з використанням органічних та неорганічних розчинників. Рухомі фази толуол-етилацетат-циклогексан-мурашина кислота (24:6:3:0,9), толуол-етилацетат-мурашина кислота (16:6:3), бутанол-оцтова кислота льодяна (95:5) були найбільш ефективними для виявлення ізофлавоноїдів; етилацетат-метанол-мурашина кислота-вода (50:2:6:3), оцтова кислота-мурашина кислота безводна -вода-етилацетат (11:11:27:100) – для виявлення ксантонів; етилацетат-оцтова кислота-мурашина кислота-вода (100:5:5:15) –

для виявлення ксантонів, гідроксикоричних кислот та флавоноїдів. Підбір умов хроматографування проводили за літературними даними та емпірично.

Дослідження фенольних сполук. Для дослідження поліфенольних сполук у сировині півників угорських та сортових півників використовувався метод двомірної паперової хроматографії у системах №1 і №3. Використовували спиртові екстракти (етанол 70 % об/об) листя та кореневищ півників і наносили на хроматографічний папір, хроматографували, потім висушували і проявляли в УФ-світлі парами аміаку [90].

На хроматограмах спостерігались зони з коричневою, жовтою, жовто-оранжевою, блакитною, зелено-блакитною флуорисценцією, які були віднесені до груп БАР – флавоноїдів, ізофлавоноїдів, ксантонів, гідроксикоричних кислот, органічних кислот.

Дослідження органічних та гідроксикоричних кислот. Органічні кислоти в органах рослин містяться у вигляді вільних сполук та рідше – у вигляді нейтральних солей. Широке розповсюдження органічних кислот у рослинах підтверджує той факт, що вони виконують ряд важливих функцій у рослинному організмі – участь у процесі дихання, біосинтезі жирів, пігментів, лігніну, амінокислот (фенілаланін, тірозин, триптофан), алкалоїдів та ін [91]. Також деякі органічні кислоти мають біологічну активність, чим привертають увагу.

Гідроксикоричні кислоти – збірна назва сполук, що мають у своїй будові бензольне кільце, зв'язане з карбоксильною групою через етиленовий зв'язок. Гідроксикоричні кислоти в більшій кількості накопичуються у надземних органах рослин, володіють біологічною активністю – є природними антиоксидантами, проявляють слабку протизапальну, антимікробну, гепатопротекторну дію [92].

Для дослідження органічних кислот одержані спиртові екстракти (етанол 70 % об/об) листя і кореневищ півників наносили на хроматографічний папір зі зразками карбонових кислот. Хроматографування

проводили у системі розчинників № 6. Хроматограму висушували, обробляли розчином 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрія і спостерігали появу рожевих плям на синьому фоні. Значення R_f плям на хроматограмі порівнювали з R_f зразків та ідентифікували наявність у сировині лимонної (R_f 0,29), щавлевої (R_f 0,35) і аскорбінової (R_f 0,67) кислот [93].

Хроматографічне визначення гідроксикоричних кислот у сировині півників угорських та сортових півників проводили у системі № 2. Хроматограму після проходження висушували і проявляли в УФ-світлі до і після обробки парами аміаку і діазореактивом. Результати дослідження представлені у таблиці 2.2.

Хлорогенова, неохлорогенова, корична і гідроксикорична кислоти ідентифіковані в листі та кореневищах півників угорських та сортових півників. Ферулова кислота ідентифікована у листі та кореневищі *I. hybrida* 'Galleon Gold', *I. hybrida* 'Little Dream', *I. hybrida* 'Indian Pow Waw' та у листі *I. hungarica*. Кавова кислота – у листі *I. hybrida* 'Bright white' *I. hybrida* 'Indian Pow Waw', *I. hungarica*, та у кореневищі *I. hybrida* 'Mini Dynamo', *I. hybrida* 'Little Dream'; *p*-кумарова кислота ідентифікована у листі та кореневищі *I. hybrida* 'Bright white', *I. hybrida* 'Little Dream' та у листі *I. hungarica* [94].

Хроматографічне дослідження ксантонів. Найпоширенішим ксантоном, що був ідентифікований у рослинах роду *Iris*, є мангіферин, а також його ізомер – ізомангіферин [95]. Екстракти з листя та кореневищ одержували методом екстракції метанолом на УЗ-бані (0,5 г в 50 мл метанолу). На пластинку з шаром силікагелю (Merk 60F) наносили екстракти півників та стандарт мангіферину (Fluka), хроматографували у системі розчинників № 8 та № 9, висушували на повітрі та переглядали при довжині хвилі 254 та 365 нм. Обробляли розчином 2 % $AlCl_3$ (рис. 2.1) та розчином аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти (10 г/л) (рис. 2.2-2.3) [96, 97].

Таблиця 2.2

Хроматографічний аналіз гідроксикоричних кислот у сировині півників угорських та сортових півників

Назва кислоти	УФ - флуоресценція			Rf	Вид/сорт	
	до обробки	після обробки NH ₃ ↑	Після обробки діазореактивом	*	листя	кореневища
1	2	3	4	5	6	7
хлорогенова	блакитна	синє-зелена	червоно-коричнева	0,66	<i>I. hungarica</i> <i>I.hybrida</i> 'Galleon Gold'	<i>I. hungarica</i> <i>I.hybrida</i> 'Galleon Gold'
неохлорогенова	блакитна	синє-зелена	темно-червона	0,70	<i>I. hybrida</i> 'Little Dream' <i>I. hybrida</i> 'Indian Pow Waw' <i>I. hybrida</i> 'Bright white' <i>I.hybrida</i> 'Mini Dynamo'	<i>I. hybrida</i> 'Little Dream' <i>I. hybrida</i> 'Indian Pow Waw' <i>I. hybrida</i> 'Bright white' <i>I.hybrida</i> 'Mini Dynamo'
ферулова	блакитна	синє-фіолетова	червоно-коричнева	0,43	<i>I.hybrida</i> 'Galleon Gold' <i>I. hybrida</i> 'Little Dream' <i>I. hybrida</i> 'Indian Pow Waw' <i>I. hungarica</i>	<i>I.hybrida</i> 'Galleon Gold' <i>I. hybrida</i> 'Little Dream' <i>I. hybrida</i> 'Indian Pow Waw'
корична	блідо-блакитна	синє – фіолетова	коричнева	0,54	<i>I. hungarica</i> <i>I.hybrida</i> 'Galleon Gold' <i>I. hybrida</i> 'Little Dream' <i>I. hybrida</i> 'Indian Pow Waw'	<i>I. hungarica</i> <i>I.hybrida</i> 'Galleon Gold' <i>I. hybrida</i> 'Little Dream' <i>I. hybrida</i> 'Indian Pow Waw'
гідроксикорична	коричнева	коричнева	червоно-коричнева	0,58	<i>I. hybrida</i> 'Bright white' <i>I.hybrida</i> 'Mini Dynamo'	<i>I. hybrida</i> 'Bright white' <i>I.hybrida</i> 'Mini Dynamo'

Продовж. табл. 2.2

1	2	3	4	5	6	7
кавова	блідо- блакитна	яскраво- синя	червоно- коричнева	0,32	<i>I.hybrida</i> 'Bright white' <i>I.hybrida</i> 'Indian Pow Waw' <i>I. hungarica</i>	<i>I.hybrida</i> 'Mini Dynamo' <i>I.hybrida</i> 'Little Dream'
<i>p</i> -кумарова	блакитна	синє- фіолетова	темно-червона	0,48	<i>I. hybrida</i> 'Bright white' <i>I.hybrida</i> 'Little Dream' <i>I. hungarica</i>	<i>I. hybrida</i> 'Bright white' <i>I.hybrida</i> 'Little Dream'

Примітка. * – система розчинників № 2.

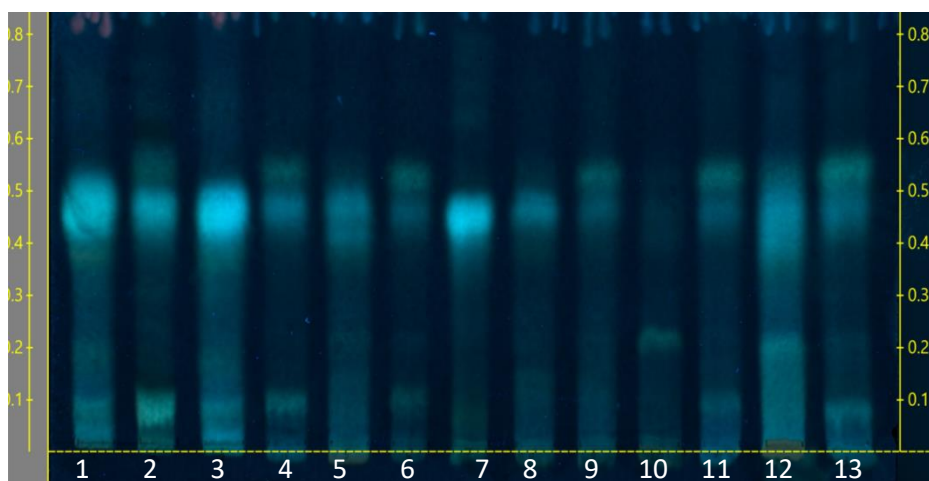


Рис. 2.1 Тонкошарова хроматограма екстрактів листя та кореневищ півників угорських і сортових півників зі стандартним зразком мангіферину, рухома фаза: етилацетат-оцтова кислота-мурашина кислота-вода (100:5:5:15), 366 нм

Примітка. 1-13 екстракти:

1-*I.hungarica* листя

2- *I.hungarica* кореневища

3- *I. hybrida* 'Indian Pow Waw' листя

4- *I. hybrida* 'Indian Pow Waw' кореневища

5- *I. hybrida* 'Galleon Gold' листя

6- *I.hybrida* 'Galleon Gold'кореневища

7-мангіферин (Fluka)

8- *I. hybrida* 'Little Dream' листя

9 - *I. hybrida* 'Little Dream' кореневища

10 - *I. hybrida* 'Mini Dynamo' листя

11 - *I. hybrida* 'Mini Dynamo' кореневища

12- *I. hybrida* 'Bright white' листя

13- *I. hybrida* 'Bright white' кореневища

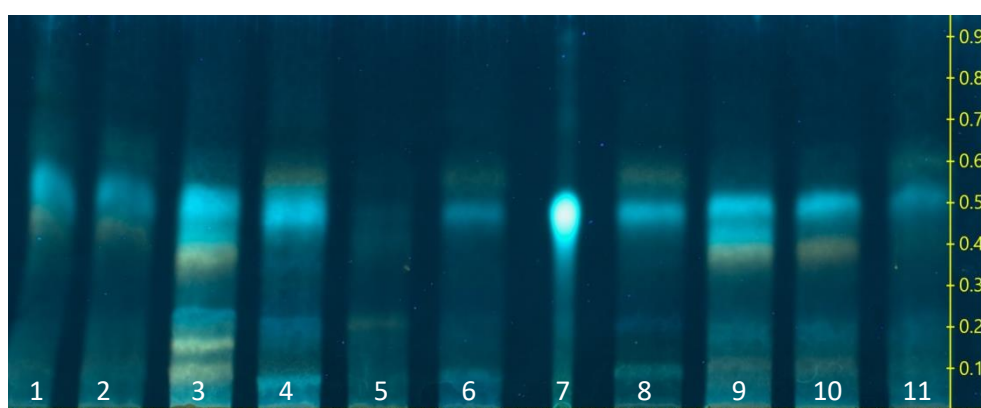


Рис. 2.2 Тонкошарова хроматограма екстрактів листя та кореневища сортових півників зі стандартним зразком мангіферину, рухома фаза: етилацетат-метанол-мурашина кислота-вода (32:6:3:2), 254 нм

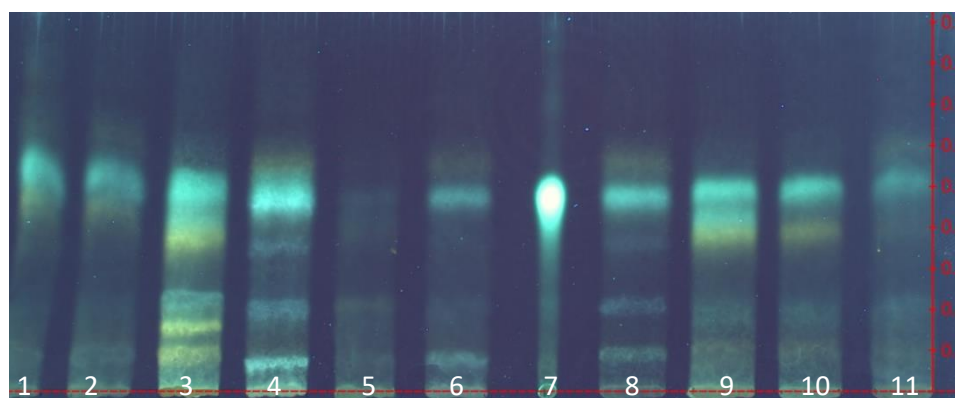


Рис. 2.3 Тонкошарова хроматограма екстрактів листя та кореневищ сортових півників зі стандартним зразком мангіферину, рухома фаза: етилацетат-метанол-мурашина кислота-вода (32:6:3:2), 366 нм

Примітка. 1-13 екстракти:

- | | |
|--|--|
| 1- <i>I. hybrida</i> 'Indian Pow Waw' листя | 7-мангіферин (Fluka) |
| 2- <i>I. hybrida</i> 'Indian Pow Waw' кореневища | 8- <i>I. hybrida</i> 'Galleon Gold' кореневища |
| 3- <i>I. hybrida</i> 'Bright white' листя | 9 - <i>I. hybrida</i> 'Galleon Gold' листя |
| 4- <i>I. hybrida</i> 'Bright white' кореневища | 10 - <i>I. hybrida</i> 'Little Dream' листя |
| 5- <i>I. hybrida</i> 'Mini Dynamo' листя | 11 - <i>I. hybrida</i> 'Little Dream' кореневища |
| 6- <i>I. hybrida</i> 'Mini Dynamo' кореневища | |

Висновок. У листі та кореневищі півників угорських та сортових півників ідентифікований ксантоновий глікозид мангіферин.

Хроматографічне дослідження ізофлавоноїдів. За літературними даними сировина півників містить досить велику кількість ізофлавоноїдів, серед яких є загально відомі, а також специфічні для рослин роду *Iris* [98]. Ізофлавоноїди як клас біологічно активних речовин проявляє естрогенну, анаболічну, адаптогенну, антигіпоксичну дію [99]. У рослинах містяться, переважно, у вигляді глікозидів, рідше – агліконів. Ізофлавоноїди з листя та кореневищ півників угорських та сортових півників досліджували після гідролізу. Для цього одержували екстракт (етанол 70 % об/об) з листя та кореневищ півників відповідно, упарювали у круглодонній колбі до об'єму приблизно 20-25 мл, додавали рівну кількість 10 % кислоти сірчаної та

нагрівали на водяній бані впродовж 2 годин. Після цього вміст колби фільтрували крізь двошаровий паперовий складчатий фільтр, осад промивали дистильованою водою. Надлишок кислоти нейтралізували BaCO_3 , утворений осад відфільтровували. Вміст колби переносили у ділільну лійку, додавали етилацетат тричі порціями по 20 мл для повного вилучення агліконів. Одержану фракцію промивали дистильованою водою до повного знебарвлення води. Етилацетатну фракцію упарювали, сухий залишок змивали етанолом (96 % об/об). Одержані етилацетатні екстракти, а також екстракт (етанол 70 % об/об) з листя та кореневищ півників відповідно наносили на пластинку із шаром силікагелю та хроматографували у системі розчинників № 10 та № 11. Пластинки висушували на повітрі, переглядали при довжині хвилі 254 та 365 нм [100].

Також для ідентифікації агліконів ізофлавоноїдів використовували метод низхідної паперової хроматографії. Одержані етилацетатні екстракти наносили на хроматографічний папір, попередньо імпрегнований сумішшю формамід-етанол (96 % об/об) у співвідношенні 1:3. Хроматографування проводили у системі розчинників № 5. Після проходження хроматограму висушували на повітрі та переглядали в УФ світлі, обробляючи парами аміаку [101].

За характерною флуоресценцією та значеннями R_f у кореневищах всіх сортових півників та півників угорських були ідентифіковані аглікони – геністеїн, даїдзеїн, формонетин, нігріцин, глікозид ононін. У листі півників угорських, *I. hybrida* 'Galleon Gold' *I. hybrida* 'Little Dream' виявили нігріцин, у листі листі *I. hybrida* 'Bright white' *I. hybrida* 'Indian Pow Waw' та *I. hybrida* 'Mini Dynamo' – геністеїн [102].

Хроматографічне дослідження флавоноїдів. Флавоноїди є найбільш розповсюдженим класом БАР у рослинному матеріалі. Відомо, що флавоноїди у формі агліконів і глікозидів володіють високою біологічною активністю – проявляють протизапальний, капіляростабілізуючий, антитромботичний, ранозагоювальний, жовчогінний та ін. ефекти [103]. У

сировині багатьох видів рослин роду *Iris* речовини флавоноїдної природи були ідентифіковані раніше [104, 105], але у листі та кореневищі півників угорських, а також сортових півників – вперше. Для дослідження флавоноїдів у сировині півників угорських та сортових півників використовувався метод паперової хроматографії у системі розчинників № 1. Використовували спиртові екстракти (етанол 70 % об/об) листя та кореневищ півників, що наносили на хроматографічний папір поряд з достовірними зразками флавоноїдів, хроматографували, потім висушували і проявляли в УФ – світлі парами аміаку та 10 % розчином лугу [106]. Також використовували метод ТШХ у системі розчинників № 8, хроматограму після висихання обробляли розчином аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти (10 г/л).

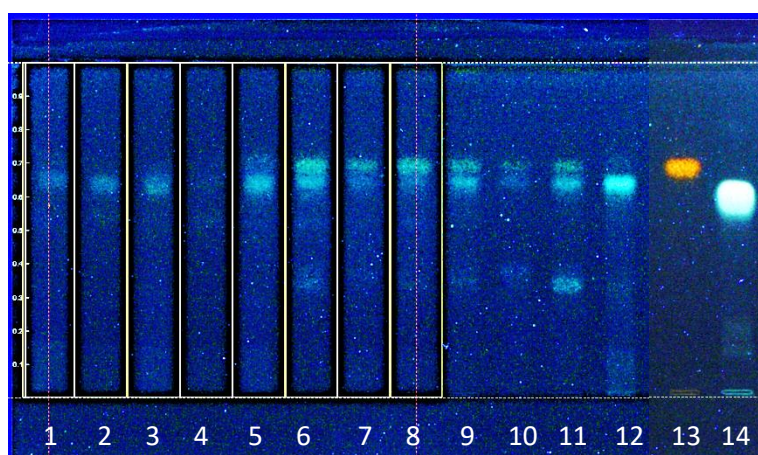


Рис. 2.4 Тонкошарова хроматограма екстрактів листя та кореневищ півників угорських і сортових півників зі стандартними зразками, рухома фаза: етилацетат-оцтова кислота-мурашина кислота-вода (100:5:5:15), 254 нм

Примітка. 1-13 екстракти:

- | | |
|---|--|
| 1 – <i>I. hybrida</i> 'Little Dream' листя | 8 – <i>I. hybrida</i> 'Bright white' кореневища |
| 2 – <i>I. hybrida</i> 'Mini Dynamo' листя | 9 – <i>I. hybrida</i> 'Galleon Gold' кореневища |
| 3 – <i>I. hybrida</i> 'Galleon Gold' листя | 10 – <i>I. hybrida</i> 'Indian Pow Waw' кореневища |
| 4 – <i>I. hybrida</i> 'Indian Pow Waw' листя | 11 – <i>I. hungarica</i> кореневища |
| 5 – <i>I. hybrida</i> 'Bright white' листя | 12 – <i>I. hungarica</i> листя |
| 6 – <i>I. hybrida</i> 'Little Dream' кореневища | 13 – гіперозод (Sigma) |
| 7 – <i>I. hybrida</i> 'Mini Dynamo' кореневища | 14 – хлорогенова кислота(Sigma) |

У листі та кореневищі півників угорських та сортових півників ідентифіковані кверцетин, кемпферол, рутин. У листі *I. hybrida* 'Bright white' та у кореневищах всіх зразків ідентифікован гіперозид.

Хроматографічне дослідження амінокислот. Амінокислоти, що містяться у рослинах, виконують ряд важливих функцій – структурну, транспортну, захисну, каталітичну та ін [107]. Дослідження амінокислотного вмісту у рослинній сировині дозволяє простежити ймовірні реакції взаємодії під час екстрагування рослинної сировини. Відомо, що існує дві форми існування амінокислот – у вільному та зв'язаному стані. У нативному екстракті виявляються тільки вільні амінокислоти [108]. Якісний вміст вільних амінокислот проводили з використанням екстрактів (вода дистильована) з листя та кореневищ півників угорських та сортових півників. На хроматографічний папір наносили екстракти півників та достовірні зразки незамінних амінокислот. У якості рухомої фази використовували систему розчинників № 1. Хроматографування проводили висхідним методом тричі, кожного разу висушуючи хроматограму на повітрі. Після проходження хроматограму висушували та обробляли 0,2 % спиртовим розчином нінгідрину. Після чого поміщали у сушильну шафу та нагрівали при температурі 100-105 °С продовж кількох хвилин. Вільні амінокислоти проявлялись у вигляді рожево-фіолетових плям.

У листі та кореневищі півників угорських та сортових півників ідентифіковані вільні амінокислоти: треонін, метіонін, триптофан, аргінін, валін, лейцин (таблиця 2.2) [109]. Наведені амінокислоти є незамінними для людського організму, тож сировина півників в певному обсязі може слугувати як природне джерело амінокислот. Також відомо, що амінокислоти мають амфотерні властивості [110], тож можливе утворення комплексів з різними групами біологічно активних речовин, що містяться у сировині півників.

Таблиця 2.2

Амінокислоти у сировині півників

Досліджуваний зразок	Rf	Ідентифікована амінокислота	
		листя	кореневище
<i>Iris hungarica</i>	0,57	треонін	треонін
	0,49	метіонін	метіонін
	0,62	-	триптофан
<i>Iris hybrida</i> 'Little Dream'	0,55	аргінін	аргінін
	0,57	треонін	треонін
<i>Iris hybrida</i> 'Bright White'	0,57	треонін	-
	0,62	триптофан	-
	0,55	-	аргінін
<i>Iris hybrida</i> 'Mini Dynamo'	0,55	слідові кількості	аргінін
<i>Iris hybrida</i> 'Galleon Gold'	0,55	аргінін	слідові кількості
	0,57	треонін	
<i>Iris hybrida</i> 'Indian Pow Wow'	0,70	-	лейцин
	0,65	-	валін
	0,57	-	треонін
	0,55	аргінін	аргінін

Висновки:

1. У сировині півників угорських та сортових півників ідентифіковані флавоноїди, ізофлавоноїди, ксантони, гідроксикоричні кислоти, амінокислоти, органічні кислоти, дубильні речовини, сапоніни, кумарини.
2. Хроматографічним методом зі стандартними зразками встановлена наявність у сировині півників органічних кислот (щавелевої, аскорбінової, лимонної), гідроксиоксикоричних кислот (*p*-кумарової, хлорогенової, неохлорогенової, коричневої, гідроксикоричної, ферулової, кавової), агліконів ізофлавоноїдів (геністеїн, даїдзеїн, формононетин, нігріцин, ононін), флавоноїдів (кверцетин, кемпферол, рутин), також у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників ідентифіковані вільні амінокислоти (треонін, метіонін, триптофан, аргінін, валін, лейцин).

2.3 Визначення кількісного вмісту біологічно активних речовин у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників

2.3.1 Визначення втрати в масі при висушуванні сировини півників угорських та сортових півників

Показником якості рослинної сировини є втрата в масі при висушуванні. Визначення даного показника для досліджуваної сировини є необхідним для розробки нормативної документації, а також є невід'ємним складовим при встановленні кількісного вмісту певних сполук [111].

Наважку сировини 1,0 г поміщали у бюкси, доведені до постійної маси, і сушили при температурі 100–105 °С. Кореневище півників зважували через 3 години, листя – через 2 години. Постійна маса вважається досягнутою, якщо різниця між зважуваннями не перевищує 0,0005 г після 30 хв сушіння і 30 хв охолодження в ексікаторі. Вміст води обчислювали за формулою:

$$X = \frac{(m - m_1) \times 100}{m}, \quad (2.1)$$

де m – маса сировини;

m_1 – маса висушеної сировини.

Середнє арифметичне значення двох паралельних проб вважають достовірним результатом.

Втрата в масі при висушуванні сировини півників склала від 2,92 до 11,83 %, що знаходиться в допустимих межах у вимогах до рослинної сировини (таблиця 2.3).

Найбільша втрата в масі при висушуванні у кореневищах *Iris hybrida* `Little Dream` – 11,83 %, у листі та кореневищі *Iris hybrida* `Galleon Gold`, листі *Iris hybrida* `Little Dream` та кореневищі *Iris hungarica* вологість складає майже 10 %. Найменший показник у листі *Iris hybrida* `Indian Pow Wow` (2,92 %), *Iris hybrida* `Mini Dynamo` (3,82 %) та кореневищі *Iris hybrida* `Bright White` (2,89 %).

Таблиця 2.3

**Втрата в масі при висушуванні сировини півників угорських та
сортних півників, $n=3$, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)**

Досліджуваний зразок	Втрата в масі при висушуванні, %	
	листя	кореневище
<i>Iris hungarica</i>	8,86±0,01	9,90±0,10
<i>Iris hybrida</i> 'Little Dream'	9,67±0,12	11,83±0,13
<i>Iris hybrida</i> 'Bright White'	8,15±0,09	2,89±0,11
<i>Iris hybrida</i> 'Mini Dynamo'	3,82±0,13	7,68±0,07
<i>Iris hybrida</i> 'Galleon Gold'	9,72±0,08	9,98±0,11
<i>Iris hybrida</i> 'Indian Pow Wow'	2,92±0,11	7,77±0,09

Висновок: встановлений показник втрати в масі при висушуванні сировини у півників угорських та сортних півників, що склав від 2,92 до 11,83 % та відповідає нормам, зазначених для рослинної сировини.

2.3.2 Дослідження вмісту амінокислот у сировині півників угорських методом газової хроматографії

Амінокислоти у зв'язаному або вільному стані є продуктами первинного обміну, забезпечують основні життєві функції організму [112]. Дослідження якісного та кількісного вмісту амінокислот у рослинах є важливим завданням: по-перше, робить можливим використання ЛРС як джерело незамінних амінокислот у комбінації з іншими групами БАР; по-друге, дані сполуки можуть впливати на екстракцію та вступати у взаємодію з іншими сполуками, що містяться у сировині. У літературних джерелах відсутні дані про дослідження вмісту амінокислот у сировині півників угорських. Для приготування випробувального розчину сухий екстракт кореневищ півників угорських, одержаний водою очищеною, 0,1 г зважували в мірну колбу і екстрагували метанолом (10 мл) на ультразвуковій ванні при кімнатній температурі (20 ± 2 °C) протягом 15 хв. Отриманий розчин центрифугували, 500

мкл аліквоти випарювали під газом азоту до сухого залишку. Одержаний осад розчиняли у 100 мкл ацетонітрилу та 100 мкл N-трет-бутилдиметилсиліл-N-метилтрифторацетаміду. Даний розчин нагрівали при 100 °С протягом 2,5 годин у гліцериновій бані. 1 мкл досліджуваного розчину вводили в газовий хроматограф [113].

Таблиця 2.4

**Вміст вільних амінокислот у кореневищі півників угорських,
n=3, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)**

№ з/п	Rt,хв	Амінокислота	Вміст від загальної кількості а/к, %
1	14,98	L-аланін	22,82 ± 0,12
2	16,51	L-валін	7,63 ± 0,06
3	17,00	L-лейцин	4,55 ± 0,09
4	17,34	ізолейцин	6,28 ± 0,10
5	19,84	L-піроглутамова кислота (у перерахунку на L-глутамову кислоту)	51,75 ± 0,19
6	21,86	L-аспарагінова кислота	6,97 ± 0,12

Вміст суми амінокислот у кореневищі півників угорських склав 6,25%. За результатами дослідження (таблиця 2.4) найбільший вміст у кореневищі півників угорських піроглутамової кислоти у перерахунку на глутамову кислоту, що складає більше 50 % від загальної кількості амінокислот у сировині. Аланін міститься у кількості 22,82 % від загальної кількості амінокислот. Інші ідентифіковані амінокислоти, у тому числі незамінні – валін, лейцин, ізолейцин, мають менший вміст – від 4,55 до 7,63 % від загального вмісту амінокислот. Дані дослідження можуть бути використані при встановленні біологічної активності сировини півників угорських.

2.3.3 Кількісне визначення суми гідроксикоричних кислот у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників

При попередньому дослідженні у сировині півників угорських та сортових півників були ідентифіковані похідні гідроксикоричної кислоти. Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у листях та кореневищах півників угорських та сортових півників встановлювали методом спектрофотометрії у перерахунку на хлорогенову кислоту, яка була ідентифікована в усіх досліджуваних зразках:

Близько 1 г (точна наважка) подрібненої сировини, що проходить крізь сито з отворами діаметром 1 мм, поміщали у колбу місткістю 200 мл, додавали 50 мл спирту (етанол 20 % об/об). Колбу з'єднували зі зворотним холодильником і нагрівали на водяній бані протягом 1 години. Охолоджений екстракт зважували, компенсували втрату екстрагенту. Потім фільтрували крізь паперовий складчатий фільтр. 1 мл фільтрату переносили у мірну колбу об'ємом 50 мл та доводили до мітки спиртом (етанол 20 % об/об). У якості компенсаційного розчину використовували етанол 20 %. Щільність одержаного розчину вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 327 нм.

Вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту обчислювали за формулою [114]:

$$X, \% = \frac{A \cdot 50 \cdot 50 \cdot 100}{531 \cdot m_n \cdot 1 \cdot (100 - W)}; \text{ де} \quad (2.2)$$

A – оптична щільність досліджуваного розчину;

m – наважка сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %;

$E_{1\text{см}}^{1\%}$ – питомий показник поглинання хлорогенової кислоти, 531

Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у сировині півників у перерахунку на хлорогенову кислоту становив від 0,79 до 2,83 % (таблиця 2.5).

Таблиця 2.5

Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у сировині півників у перерахунку на хлорогенову кислоту, %, $n=3$, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Зразок	Вміст ГКК, %	
	листя	кореневище
<i>Iris hungarica</i>	$4,2 \pm 0,28$	$2,2 \pm 0,11$
<i>I. hybrida</i> 'Galleon Gold'	$2,82 \pm 0,03$	$0,79 \pm 0,09$
<i>I. hybrida</i> 'Little Dream'	$2,83 \pm 0,07$	$2,49 \pm 0,11$
<i>I. hybrida</i> 'Bright white'	$2,44 \pm 0,1$	$1,25 \pm 0,07$
<i>I. hybrida</i> 'Mini Dynamo'	$2,55 \pm 0,13$	$1,77 \pm 0,08$
<i>I. hybrida</i> 'Indian Pow Waw'	$1,14 \pm 0,08$	$0,97 \pm 0,12$

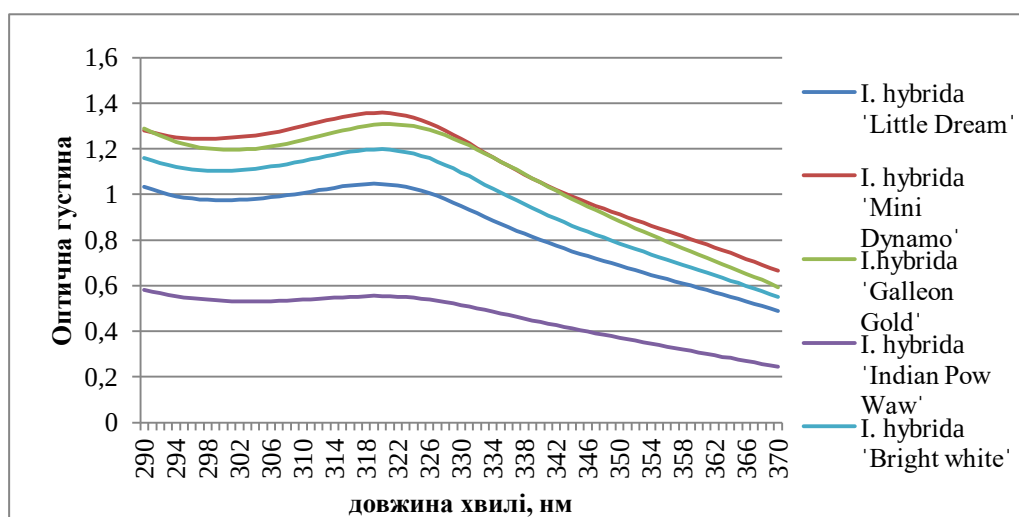


Рис. 2.5 УФ-спектри етанольних екстрактів з листя сортів півників

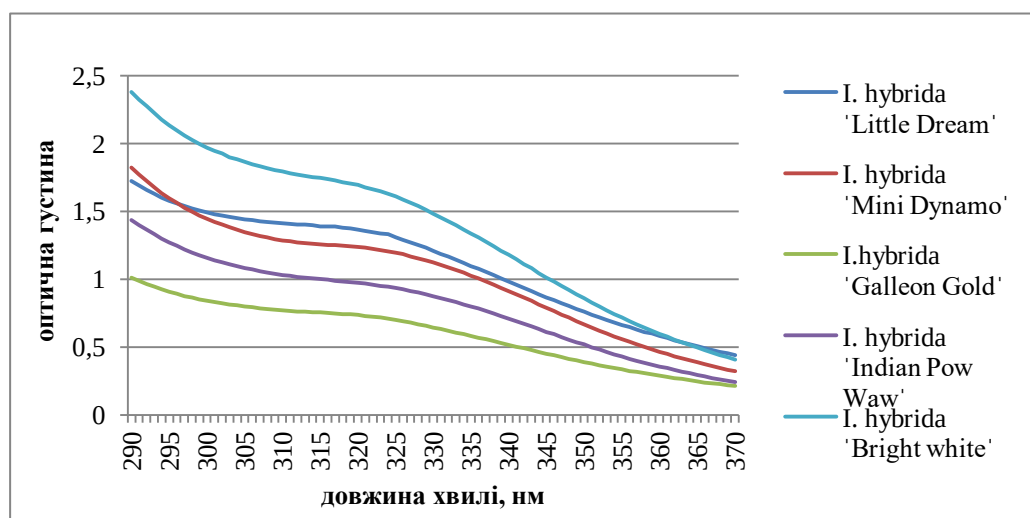


Рис. 2.6 УФ-спектри етанольних екстрактів з кореневищ сортів півників

Найбільший вміст суми гідроксикоричних кислот у листі півників і коливався в межах від 1,14 до 4,2 %. Листя *Iris hungarica*, *Iris hybrida* 'Little Dream', *Iris hybrida* 'Galleon Gold', *Iris hybrida* 'Mini Dynamo' накопичують найбільшу кількість сполук даної природи – від 2,55 до 4,2 %. Відмічено, що кореневища *Iris hungarica* та *Iris hybrida* 'Little Dream' також накопичують значну кількість – 2,2 і 2,49 %. Найменше гідроксикоричних кислот містилося у кореневищі *Iris hybrida* 'Galleon Gold' (0,79 %).

Висновок: У сировині півників угорських та сортових півників встановлений вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту, який склав від 0,79 до 4,2 %, найбільший вміст – у листях.

2.3.4 Кількісне визначення суми флавоноїдів у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників

При попередньому дослідженні листя та кореневища півників угорських та сортових півників були ідентифіковані сполуки флавоноїдної природи, рутин був ідентифікований у всіх досліджуваних зразках сировини півників. Тому для визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів у сировині методом спектрофотометрії перерахунок робили на рутин [115].

Аналітичну пробу сировини подрібнювали до розміру часток, що проходять крізь сито з отворами діаметром 1 мм. Близько 2 г (точна наважка) подрібненої сировини поміщали в конічну плоскодонну колбу місткістю 100 мл із притертою пробкою, додавали 50 мл етанолу (70 % об/об), закривали колбу пробкою й зважували (з погрішністю $\pm 0,01$). Потім колбу з'єднували зі зворотним холодильником, нагрівали вміст колби на водяній бані до кипіння й підтримували слабе кипіння протягом 2,5 годин. Після охолодження колбу знову закривали пробкою й зважували, втрату в масі компенсували етанолом (70 % об/об) і

настоювали протягом 1 години. Потім екстракт фільтрували через сухий паперовий фільтр у суху колбу місткістю 50 мл та доводили до мітки тим самим розчинником (розчин А).

У мірну колбу місткістю 25 мл переносили 1 мл розчину А, 1 мл 2 % розчину AlCl_3 в етанолі (70 % об/об) й доводили об'єм розчину етанолом (70 % об/об) до мітки.

Через 40 хв. вимірювали оптичну щільність розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі 396 ± 2 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовували розчин, що складається з 1 мл екстракту, 1 краплі розведеної оцтової кислоти й доведені етанолом (70 % об/об) до мітки в мірній колбі місткістю 25 мл. УФ-спектр етанольного екстракту кореневищ півників угорських представлений на рис. 2.6.

Паралельно вимірювали оптичну щільність розчину Державного стандартного зразка рутину, приготовленого аналогічно випробуваному розчину.

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин й абсолютно суху сировину в % (X) обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \times m_0 \times 25 \times 50 \times 100 \times 100}{A_0 \times m \times 1 \times (100 - W)}, \text{ де} \quad (2.3)$$

A – оптична щільність випробуваного розчину;

A_0 – оптична щільність розчину СЗ рутину, 0,4296

m – маса сировини в грамах;

m_0 – маса рутину в грамах, 0,06258 г.

W – втрата в масі при висушуванні сировини в %.

Примітка. Приготування розчин стандартного зразка (СЗ) рутину: близько 0,05 г (точна наважка) СЗ рутину, попередньо висушеного при температурі 130-135 °С впродовж 3 годин, розчиняють в 85 мл спирті в мірній колбі місткістю 100 мл при нагріванні на водяній бані, охолоджують,

кількісно переносять у мірну колбу місткістю 100 мл, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки й перемішують.

Вміст суми флавоноїдів у сировині півників у перерахунку на рутин склав від 1,04 до 3,55 % (таблиця 2.6).

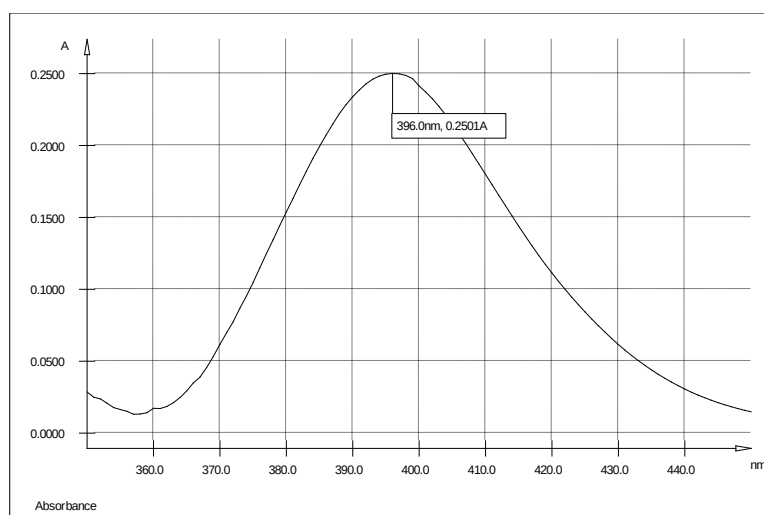


Рис. 2.7 УФ-спектр етанольного екстракту кореневищ півників угорських

Таблиця 2.6

Кількісний вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин у листі та кореневищі півників, %, $n=3$, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Досліджуваний зразок	Сировина	Вміст флавоноїдів, %
<i>Iris hungarica</i>	листя	$2,10 \pm 0,07$
	кореневище	$2,22 \pm 0,19$
<i>Iris hybrida</i> 'Little Dream'	листя	$2,52 \pm 0,11$
	кореневище	$2,89 \pm 0,13$
<i>Iris hybrida</i> 'Bright White'	листя	$2,90 \pm 0,12$
	кореневище	$1,04 \pm 0,11$
<i>Iris hybrida</i> 'Mini Dynamo'	листя	$2,40 \pm 0,09$
	кореневище	$2,35 \pm 0,11$
<i>Iris hybrida</i> 'Galleon Gold'	листя	$3,55 \pm 0,09$
	кореневище	$2,62 \pm 0,16$
<i>Iris hybrida</i> 'Indian Pow Wow'	листя	$3,01 \pm 0,11$
	кореневище	$1,89 \pm 0,08$

Найбільший вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин відмічено у листях *Iris hybrida* 'Galleon Gold', *Iris hybrida* 'Indian Pow Wow', *Iris hybrida* 'Bright White' (2,90-3,55 %) та кореневищі *Iris hybrida* 'Little Dream' (2,89 %). Кореневище *Iris hybrida* 'Bright White' накопичує найменше – 1,04 %. Кількісний вміст флавоноїдів у сировині півників угорських знаходився в середніх значеннях.

Висновок: у сировині півників угорських та сортових півників встановлений вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин склав від 1,04 до 3,55 %.

2.3.5 Кількісне визначення суми ізофлавоноїдів у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників

За результатами попереднього аналізу сировини півників угорських та сортових півників було встановлено наявність агліконів та глікозидів ізофлавоноїдів у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників. Кількісний вміст суми ізофлавоноїдів у сировині півників встановлювали спектрофотометричним методом у перерахунку на ононін, тому що всі спектри досліджуваних зразків півників мали максимум поглинання при 260 ± 2 нм, що є характерним для ононіну.

На даному етапі роботи встановлювали вміст суми ізофлавоноїдів за методикою: 2,0 г подрібненої на порошок сировини поміщали у колбу місткістю 100 мл, додавали 40 мл етилового спирту (70 % об/об), нагрівали на водяній бані впродовж 1 години. Після екстракції колбу з вмістом охолоджували, зважували, втрату розчинника компенсували. Розчин фільтрували крізь паперовий складчастий фільтр. 0,5 мл вихідного розчину переносили у мірну колбу місткістю 50 мл, об'єм розчину доводили до мітки етанолом (70 % об/об). У якості компенсаційного розчину використовували етанол (70 % об/об). Оптичну густину вимірювали при довжині хвилі 260 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. УФ-спектр етанольного екстракту з

кореневищ півників угорських наведено на рис. 2.6. Кількісний вміст суми ізофлавоноїдів у перерахунку на ононін розраховували за формулою [116]:

$$X = \frac{A \times 50 \times 100}{E_{1\text{см}}^{1\%} \times m \times 0,5 \times (100 - W)} \quad (2.4)$$

де:

A – оптична густина випробуваного розчину;

$E_{1\text{см}}^{1\%}$ – питомий показник поглинання ононіну (715);

0,5 – об'єм піпетки (мл);

m – маса наважки;

W – вологість сировини.

Результати визначення кількісного вмісту суми ізофлавоноїдів у перерахунку на ононін у сировині півників угорських та сортових півників наведені у таблиці 2.7.

Таблиця 2.7

Кількісний вміст суми ізофлавоноїдів у перерахунку на ононін у листі та кореневищі півників, %, $n=3$, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Вміст суми ізофлавоноїдів, %		зразок
листя	кореневище	
1,16 ± 0,09	2,15 ± 0,16	<i>Iris hungarica</i>
1,58 ± 0,13	3,15 ± 0,09	<i>I.hybrida</i> 'Galleon Gold'
1,33 ± 0,13	1,07 ± 0,14	<i>I. hybrida</i> 'Little Dream'
1,66 ± 0,04	1,32 ± 0,12	<i>I. hybrida</i> 'Bright white'
1,73 ± 0,08	2,50 ± 0,06	<i>I. hybrida</i> 'Mini Dynamo'
1,17 ± 0,08	1,13 ± 0,11	<i>I. hybrida</i> 'Indian Pow Waw'

Найбільший вміст суми ізофлавоноїдів у кореневищі *I.hybrida* 'Galleon Gold' (3,15 %) і *I. hybrida* 'Mini Dynamo' (2,5 %), найменший – у кореневищі *I. hybrida* 'Little Dream' (1,07 %). Також відмічено, що листя сортових півників накопичують досить велику кількість ізофлавоноїдів – від 1,17 % (*I. hybrida* 'Indian Pow Waw') до 1,73 % (*I. hybrida* 'Mini Dynamo'). У порівнянні з

сировиною півників угорських, листя сортових півників мають більший вміст ізофлавоноїдів, а кореневище у середньому (1,86 %) – менший [117].

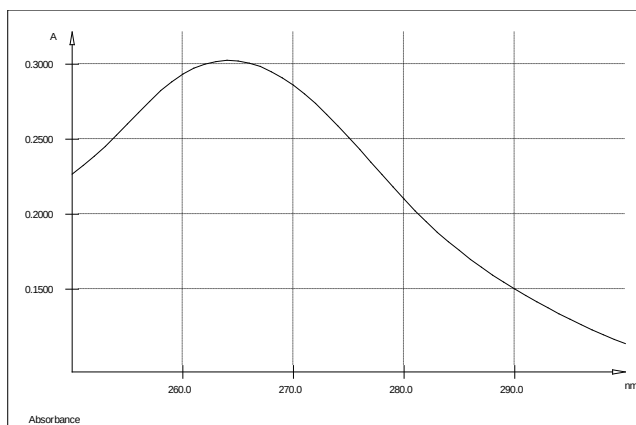


Рис. 2.8 УФ – спектр етанольного екстракту з кореневищ півників угорських

Найбільший вміст суми ізофлавоноїдів у кореневищі *I. hybrida* 'Galleon Gold' (3,15 %) і *I. hybrida* 'Mini Dynamo' (2,5 %), найменший – у кореневищі *I. hybrida* 'Little Dream' (1,07 %). Також відмічено, що листя сортових півників накопичують досить велику кількість ізофлавоноїдів – від 1,17 % (*I. hybrida* 'Indian Pow Waw') до 1,73 % (*I. hybrida* 'Mini Dynamo'). У порівнянні з сировиною півників угорських, листя сортових півників мають більший вміст ізофлавоноїдів, а кореневище у середньому (1,86 %) – менший.

Висновок: вміст суми ізофлавоноїдів у перерахунку на ононін у сировині півників угорських та сортових півників склав від 1,07 до 3,15 %.

2.3.6 Кількісне визначення суми ксантонів у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників

Методом ТШХ у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників був ідентифікований ксантоновий глікозид мангіферин. У ДФУ та зарубіжних фармакопеях відсутні дані про використання спектрофотометричного методу для кількісного визначення суми ксантонів у рослинній сировині, тому була використана модифікована методика Асланукова з авт. [118], яка відрізнялась об'ємом проби і масою аналітичного

зразка: 2,5 г (точна наважка) подрібненої сировини переносили у колбу місткістю 250 мл і проводили екстракцію етанолом (80 % об/об). З метою очищення екстракт обробляли хлороформом (тричі по 10 мл). Очищений екстракт переносили у мірну колбу місткістю 50 мл та доводили до мітки етанолом (80 % об/об) – розчин А. Потім 1 мл розчину А переносили у колбу місткістю 25 мл, також доводили об'єм розчину до мітки тим самим розчинником – розчин Б. Оптичну густину розчину Б вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 369 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Розрахунок суми ксантонів у перерахунку на мангіферин проводили по формулі:

$$X = \frac{A \times 50 \times 25 \times 100}{E_{1\text{cm}}^{1\%} \times m \times 1 \times (100 - W)} \quad (2.5)$$

де А – оптична густина досліджуваного розчину

$E_{1\text{CV}}^{1\%}$ - питомий показник поглинання мангіферину (295)

m – маса наважки;

W – вологість сировини

Таблиця 2.8

Кількісний вміст суми ксантонів у перерахунку на мангіферин у листі та кореневищі півників, %, n=3, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Досліджуваний зразок	сировина	Вміст ксантонів, %
<i>Iris hungarica</i>	листя	1,64 ± 0,03
	кореневище	0,86 ± 0,07
<i>Iris hybrida</i> `Little Dream`	листя	1,96 ± 0,12
	кореневище	0,35 ± 0,09
<i>Iris hybrida</i> `Bright White`	листя	2,47 ± 0,10
	кореневище	0,26 ± 0,11
<i>Iris hybrida</i> `Mini Dynamo`	листя	0,69 ± 0,08
	кореневище	0,15 ± 0,13
<i>Iris hybrida</i> `Galleon Gold`	листя	0,72 ± 0,07
	кореневище	0,61 ± 0,11
<i>Iris hybrida</i> `Indian Pow Wow`	листя	0,33 ± 0,13
	кореневище	1,48 ± 0,09

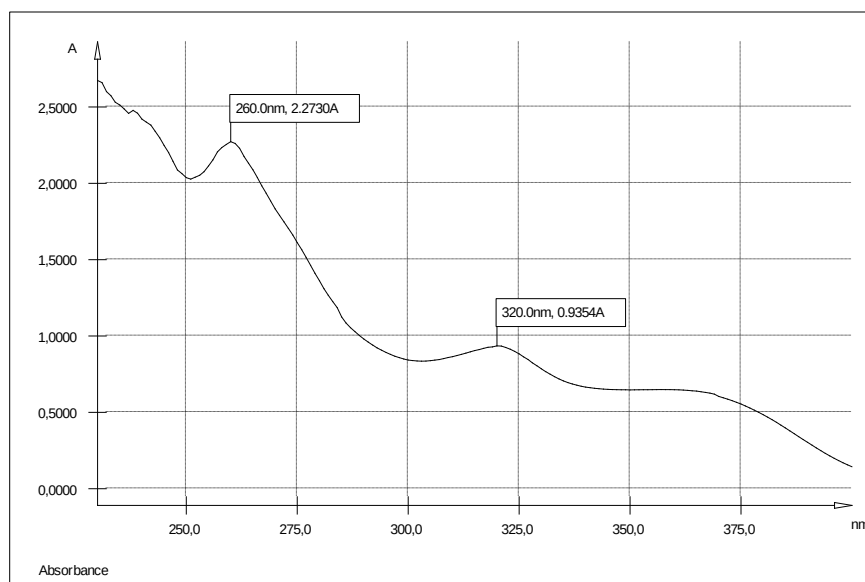


Рис. 2.9 УФ – спектр етанольного екстракту з листя півників угорських

Сировина півників містить суму ксантонових сполук у перерахунку на мангіферин у кількості від 0,15 до 2,47 %. Переважно, ксантони накоплюються у листі півників: від 0,33 до 2,47 %. У кореневищі вміст менший – від 0,15 до 1,48 %. Листя *Iris hybrida* 'Bright White', *Iris hybrida* 'Little Dream', *Iris hungarica* містять найбільшу кількість (1,64-2,47 %) [119, 120].

Найменше ксантонів накопичується у листі *Iris hybrida* 'Indian Pow Wow', *Iris hybrida* 'Mini Dynamo'. Однак, слід відзначити, що кореневище *Iris hybrida* 'Indian Pow Wow' має досить високий вміст – 1,48 %.

Висновок: у сировині півників угорських та сортових півників встановлений вміст суми ксантонів у перерахунку на мангіферин складав від 0,15 до 2,47 %.

За результатами кількісного аналізу методом спектрофотометрії встановлено, що в листях півників у більшій кількості накопичуються гідроксикоричні кислоти (1,14-4,2 %) та ксантони (0,33-2,47 %), вміст флавоноїдів у листі та кореневищі півників знаходиться в середніх значеннях 1,04-3,55 %. Вміст суми ізофлавоноїдів, в середньому, вищий у кореневищі півників – 1,07-3,15 % (таблиця 2.9).

Таблиця 2.9

Кількісний вміст основних груп БАР у листі та кореневищі півників

Досліджуваний зразок	Сировина	Групи БАР, %				
		гідроксикоричні кислоти	ізофлавоноїди	флавоноїди	ксантони	фенольні сполуки
<i>Iris hungarica</i>	листя	4,2 ± 0,28	1,16 ± 0,09	2,10 ± 0,07	1,64 ± 0,03	6,17 ± 0,13
	кореневище	2,2 ± 0,14	2,15 ± 0,16	2,22 ± 0,19	0,86 ± 0,07	5,43 ± 0,09
<i>Iris hybrida</i> 'Little Dream'	листя	2,83 ± 0,10	1,33 ± 0,13	2,52 ± 0,11	1,96 ± 0,12	5,88 ± 0,14
	кореневище	2,49 ± 0,12	1,07 ± 0,14	2,89 ± 0,13	0,35 ± 0,09	5,03 ± 0,07
<i>Iris hybrida</i> 'Bright White'	листя	2,44 ± 0,09	1,66 ± 0,04	2,90 ± 0,12	2,47 ± 0,10	2,65 ± 0,11
	кореневище	1,25 ± 0,08	1,32 ± 0,12	1,04 ± 0,11	0,26 ± 0,11	5,71 ± 0,15
<i>Iris hybrida</i> 'Mini Dynamo'	листя	2,55 ± 0,15	1,73 ± 0,08	2,40 ± 0,09	0,69 ± 0,08	2,95 ± 0,13
	кореневище	1,77 ± 0,10	2,50 ± 0,06	2,35 ± 0,11	0,15 ± 0,13	2,28 ± 0,09
<i>Iris hybrida</i> 'Galleon Gold'	листя	2,82 ± 0,12	1,58 ± 0,13	3,55 ± 0,09	0,72 ± 0,07	2,45 ± 0,08
	кореневище	0,79 ± 0,07	3,15 ± 0,09	2,62 ± 0,16	0,61 ± 0,11	4,01 ± 0,12
<i>Iris hybrida</i> 'Indian Pow Wow'	листя	1,14 ± 0,13	1,17 ± 0,08	3,01 ± 0,11	0,33 ± 0,13	4,30 ± 0,09
	кореневище	0,97 ± 0,10	1,13 ± 0,11	1,89 ± 0,08	1,48 ± 0,09	5,32 ± 0,11

2.3.7 Дослідження хімічного складу листя та кореневищ півників угорських методом ВЕРХ

Використовуючі попередні дані щодо кількісного вмісту основних груп біологічно активних речовин у сировині півників угорських, одержаних спектрофотометричним методом, проведено порівняння з методом ВЕРХ на вміст сполук ксантонової та ізофлавоноїдної природи [121]. У якості речовин-стандартів були обрані ксантон мангіферин та ізофлавоноїди, що характерні для рослин роду *Iris* – текторидін, нігріцин-4'-O- β -D-глюкопіранозид, іристекторигенін В, нігріцин, іригенін, 5,6-дигідрокси-7,8,3',5'-тетраметоксиізофлавонон.

Використовували методику: 0,1 г здрібненої на порошок кореневищ півників угорських поміщали у мірну колбу на 10 мл, доводили до мітки метанолом і залишали на ультразвуковій бані на 30 хвилин. Екстракт фільтрували крізь мембранний фільтр (0,45 мкм), 20 мкл аліквоти відбирали інжектували в хроматографічну колонку. Розчини речовин порівняння у концентрації 1,0 мг/мл у метанолі також вводили у колонку.

Хроматографічна колонка ACE C18 (250 мм×4,6 мм, 5,0 мкм; Pennsylvania, USA). Швидкість потоку – 1 мл/хв. У якості рухомої фази використовували два розчинника: А – 0,1% розчин оцтової кислоти; В – ацетонітрил. Схема проходження рухомої фази крізь хроматографічну колонку: 0-8 хв, 5-15 % В; 8-30 хв, 15-20 % В; 30-48 хв, 20-40 % В; 48-58 хв, 40-50 % В; 58-65 хв, 50 %; 65-66 хв, 50-95 % В. Підтримувана температура колонки складала 25 °С.

Вміст сполук у рослинному екстракті розраховували (мг/г) за формулою:

$$X, \frac{mg}{g} = \frac{S \times m_{st} \times V}{S_{st} \times m \times V_{st}}; \quad (2.6)$$

де: S – середнє значення площі піків фенольних сполук, обчислене з паралельних хроматограм досліджуваного розчину;

S_{st} – середнє значення площі піків стандарту, обчислене з паралельних хроматограм стандартного розчину;

m – маса наважки, г;

m_{st} – маса наважки стандарту, мг;

V – об'єм колби досліджуваного екстракту, мл;

V_{st} – об'єм колби стандартного розчину, мл;

Таблиця 2.10

Результати кількісного визначення сполук, ідентифікованих у сировині півників угорських, $n=3$, ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Сполука	RT, хв	Вміст, мг/г	
		листя	кореневища
Хлорогенова кислота	9,08	$16,4 \pm 0,05$	-
Мангіферин	14,02	$6,62 \pm 0,12$	$2,4 \pm 0,023$
Текторидин	29,48	-	$3,9 \pm 0,071$
нігріцин-4'-O- β -D-глюкопіранозид	39,27	-	$6,3 \pm 0,030$
Іристекторигенін В	49,04	-	$7,5 \pm 0,003$
Нігріцин	49,41	-	$2,3 \pm 0,003$
Іригенін	49,91	-	$4,9 \pm 0,038$
5,6-дигідрокси-7,8,3',5'-тетраметоксиізофлавіон	56,0	-	$1,0 \pm 0,002$

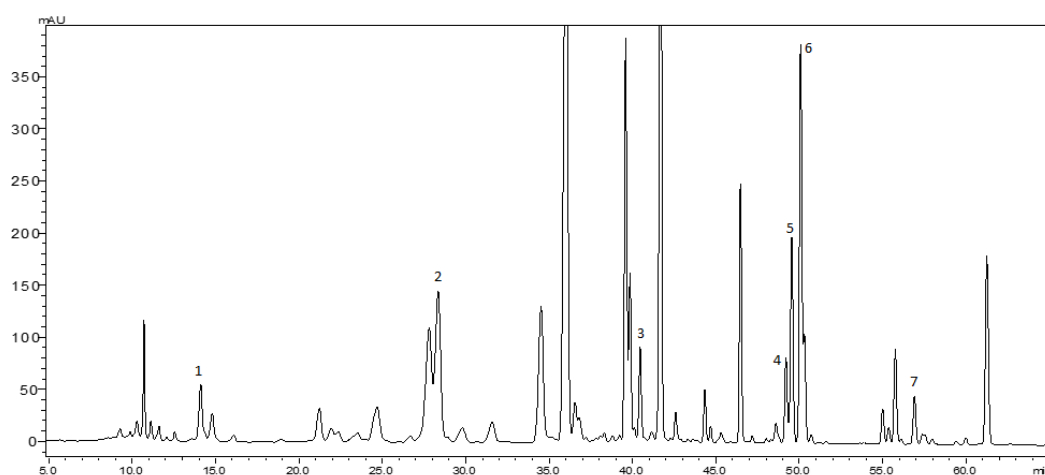


Рис. 2.10 ВЕРХ – хроматограма екстракту кореневищ півників угорських: мангіферин (1), текторидин (2), нігріцин-4'-O- β -D-глюкопіранозид (3), іристекторигенін В (4), нігріцин (5), іригенін (6), 5,6-дигідрокси-7,8,3',5'-тетраметоксиізофлавіон (7).

Висновок: методом ВЕРХ у кореневищі півників угорських ідентифіковано 7 сполук: мангіферин, текторидин, нігріцин-4'-O- β -D-глюкопіранозид, іристекторигенін В, нігріцин, іригенін, 5,6-дигідрокси-7,8,3',5'-тетраметоксиізофлавоон; у листі – 2 сполуки: хлорогенова кислота, мангіферин [122]. Досить у великій кількості у кореневищі півників угорських містяться ізофлавоон іригенін (4,9 мг/г), нігріцин-4'-O- β -D-глюкопіранозид (6,3 мг/г), текторидін (3,9 мг/г), нігріцин (2,3 мг/г), у листі – ксантон мангіферин (6,6 мг/г).

2.3.8 Визначення кількісного вмісту мангіферину в сировині півників угорських методом ВЕТШХ

Дослідження проводили на приборі Camag (Германія), у якості стандартного зразку використовували мангіферин (Sigma). Хроматографування проводили на ВЕТШХ пластинках із шаром силікагелю F₂₅₄ розміром 10×10 см. 100 мг (т.н.) здрібненої на порошок сировини екстрагували метанолом на УЗ-бані (30 хв, 20 °С), фільтрували крізь мембранний фільтр у мірну колбу на 50 мл, доводили тим самим розчинником до мітки. Розчин порівняння: 10 мг стандарту мангіферину поміщали у мірну колбу на 10 мл, розчиняли у метанолі та доводили до мітки. Екстракти наносили смугами 6 мм по 4 мкл. Хроматографування проводили у системі розчинників № 8. Відстань, що має пройти рухома фаза – 8 см від лінії старту. Висушували на повітрі. Хроматограму обробляли розчином дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру у метанолі (10 г/л), потім – розчином макрогону 400 (50 г/л) у метанолі, висушували на повітрі протягом 30 хв. Переглядали в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм. Вміст сполук у рослинному екстракті розраховували (мг/г) за формулою:

$$X, \% = \frac{S \times m_{st} \times V \times 100}{S_{st} \times m \times V_{stx}}, \quad (2.7)$$

де: S – площа піку мангіферину, обчислене з паралельних хроматограм досліджуваного розчину;

S_{st} – значення площі піку стандарту, обчислене з паралельних хроматограм стандартного розчину;

m – маса наважки, г;

m_{st} – маса наважки стандарту, мг;

V – об'єм колби досліджуваного екстракту, мл;

V_{st} – об'єм колби стандартного розчину, мл.

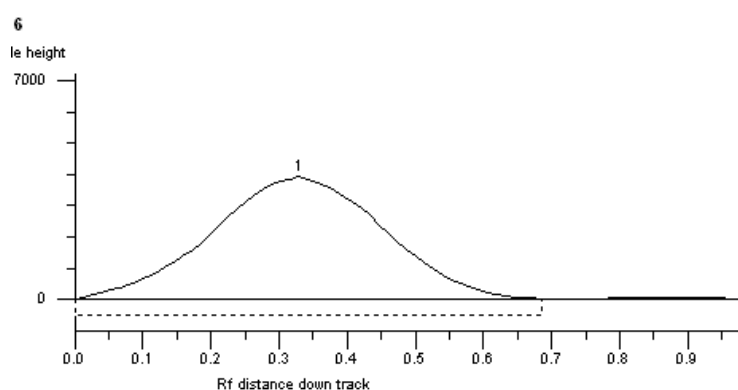


Рис. 2.11 ВЕТШХ-хроматограма кореневища півників угорських

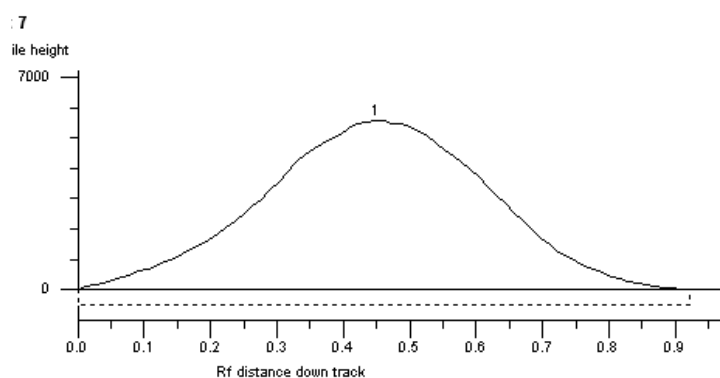


Рис. 2.12 ВЕТШХ-хроматограма листя півників угорських

За даними кількісного аналізу методом ВЕТШХ вміст ксантонового глікозиду мангіферину у кореневищі півників угорських склав 2,47 %, у листі – 4,85 %.

2.3.9 Кількісний аналіз сировини півників угорських з різних місць зростання

Для кількісного аналізу використовувалась сировина півників угорських, що була заготовлена в різних місцях зростання на території України, тому доречним було визначити, як впливає географічне розташування та кліматичні особливості місцевості на вміст БАР у сировині півників угорських.

Сировину збирали на території ботанічних садів і денропарків у Харківській, Київській та Вінницькій областях.

Досліджувана сировина – листя, заготовлені навесні до початку цвітіння, та кореневища півників угорських, заготовлені рано навесні до появи листя. Під час збору листя з однієї рослини зрізали приблизно у кількості 40-50 %. Заготівля сировини півників угорських здійснювалась в різних регіонах України, тому був проведений скринінг накопичення БАР у сировині (таблиця 2.11).

Таблиця 2.11

Досліджувані зразки сировини півників угорських

Зразок	сировина	рік заготівлі	місце заготівлі сировини
1	листя	травень 2017	м. Біла Церква, дендрологічний парк «Олександрія»
2	кореневище	квітень 2017	
3	листя	травень 2017	м. Умань, національний дендрологічний парк «Софіївка»
4	кореневище	квітень 2017	
5	листя	травень 2017	м. Київ Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка
6	кореневище	травень 2017	
7	листя	травень 2017	м. Харків, ботанічний сад им. В.Н. Каразіна
8	кореневище	квітень 2018	

Кількісний вміст основних груп БАР (флавоноїдів, ізофлавоноїдів, гідроксикоричних кислот, ксантонів) встановлювали за загально відомими методиками [123].

Таблиця 2.12

Вміст БАР у сировині півників угорських, % $n=3$, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Досліджувані зразки	Класи БАР			
	Гідроксикоричні кислоти ¹	Ізофлавоноїди ²	Флавоноїди ³	Ксантони ⁴
1	2,66 ± 0,10	1,03 ± 0,09	2,60 ± 0,12	1,54 ± 0,11
2	4,41 ± 0,11	1,45 ± 0,14	3,04 ± 0,10	1,65 ± 0,12
3	7,44 ± 0,08	1,07 ± 0,10	2,12 ± 0,15	1,72 ± 0,12
4	6,37 ± 0,14	1,29 ± 0,11	2,73 ± 0,12	1,47 ± 0,09
5	3,92 ± 0,09	1,33 ± 0,08	2,82 ± 0,11	1,55 ± 0,10
6	4,19 ± 0,14	1,22 ± 0,17	3,02 ± 0,10	1,34 ± 0,13
7	4,81 ± 0,15	1,33 ± 0,13	2,95 ± 0,16	1,55 ± 0,13
8	3,15 ± 0,09	1,24 ± 0,13	2,95 ± 0,12	1,43 ± 0,11

Примітка. 1 – у перерахунку на хлорогенову кислоту; 2 – у перерахунку на ононін; 3 – у перерахунку на рутин; 4 – у перерахунку на мангіферин.

Як видно з таблиці 2.12, гідроксикоричних кислот накопичується приблизно в рівній кількості як в листях, так і кореневищах – середнє значення для листя – 4,7 %, для кореневищ – 4,6 %. Помічено, що в зразках, заготовлених в південно-західній частині України, вміст гідроксикоричних кислот набагато більший – становить 7,44 % в листях і 6,37 % – в кореневищах. Мінімальний вміст гідроксикоричних кислот спостерігається в листях, заготовлених у північно-центральної частині України – 2,66 %.

Вміст ізофлавоноїдів з досліджуваних зразків становить від 1,03 до 1,45 %, що відрізняється незначно в листях і кореневищах. Найменшу кількість виявлено в листях, заготовлених у північно-центральної частині, що становить 1,03 %, найбільшу кількість – в кореневищах того ж місця заготівлі (1,79 %).

Середнє значення кількісного вмісту флавоноїдів в листях півників угорських становить 2,62 %, в кореневищах – 2,6 %, що близьке за

значеннями. За даними таблиці 2 видно, що кореневища накопичують флавоноїдів більше – від 2,73 до 3,04 %.

Вміст ксантонів у листях склав від 1,54 до 1,72 %, у кореневищах – 1,34 – 1,65 %. Найбільшу кількість зафіксовано в листях, заготовлених у південно-західній частині України.

Таким чином, встановлено кількісний вміст основних груп БАР у листі та кореневищі півників угорських, заготовлених з різних місць зростання, що варіюється, але у невеликих межах [124].

2.3.10 Дослідження ефірної олії сировини півників угорських та сортових півників

Аналіз метилових ефірів жирних кислот та компонентний склад ефірної олії проводили методом хромато-мас-спектрометрії [125].

Ефірна олія, що міститься у рослинах, є продуктом вторинного метаболізму. Її призначення – захист рослини від хворобоутворюючих бактерій, грибів та вірусів [126]. У народній медицині лікарські рослини, що містили ефірну олію, використовувались саме у якості антибактеріального, противірусного, інсектицидного, протигрибкового засобу [127]. Також пізніше деякі ефірно-олійні рослини почали використовувати у харчовій та парфумерній промисловості [128].

Ірисова ефірна олія є найдорожчою у світі – через великий вміст іронів, що надають їй неповторного фіалкового аромату, вона ціниться у парфюмерії [129]. Виробляють ірисову олію лише у Франції та Італії, використовуючи як сировину кореневища півників флорентійських, блідих, германських. За літературними даними, кореневище півників містить 0,1-0,2 % ефірної олії [130].

Хімічна будова ірисової олії представлена похідними терпів, аліфатичними сполуками, жирними кислотами: містить значну кількість міристинової кислоти (близько 80 %) з домішками метилових ефірів жирних

кислот, кетони циклогексенового ряду (іонони та псевдоіонони), сполуки ациклічного ряду (альдегіди та кетони) [131].

Натуральний ірон – це початок ефірної олії півників, вміст якого складає майже 5 % [132].

Ефірна олія півників («ірис-конкрет») – це продукт перегонки з водяною парою подрібнених кореневищ півників, має вигляд напівтвердої маси жовтого кольору. Абсолютну ірисову олію отримують обробкою ірис-конкрету розчином натрію карбонату, що дозволяє відділити міристинову кислоту [133].

Ірисова олія цінна не тільки своїми ароматними якостями, а ще й антибактеріальною активністю [134]. Тому було важливо дослідити активність сухих екстрактів, одержаних з листя та кореневищ півників угорських та сортових півників.

Антибактеріальну та протигрибкову активність ірисової олії надають речовини терпенової природи, такі як фарнезол, ліналоол, борнеол, міртенол, нерілацетон, фітол, сквален, терпен-4-ол, кадинол та інші [135].

Дослідження ефірної олії сировини півників угорських та сортових гібридних півників показало, що компонентний склад дикорослої культури значно відрізняється від сортових (Додаток Б, таблиця 2.13). Так, леткі сполуки листя та кореневищ півників угорських та сортових півників містять 42-48 компонентів. Спільними компонентами ефірної олії листя півників угорських та сортових півників були 22 сполуки, серед яких найбільший вміст мали фенілацетальдегід, геранілацетон, β -іонон-5,6-епоксид, β -іонон, α -ірон, транс-2,6- γ -ірон, сквален, жирні кислоти.

У кореневищі виявлено 19 спільних компонентів, серед яких домінуючі α -ірон, транс-2,6- γ -ірон, сквален, жирні кислоти.

У листі півників угорських виявлені індивідуальні речовини, такі як індол, евгенол, 3-фенілпіридин, гераніаль, мегастігматриєнон-1, мегастігматриєнон-2; гексагідрофарнезилацетон, неофітадієн, 10-октадеценова кислота, фарнезилацетон, арахінова, бегенова, трикозанова,

тетракозанова кислоти, метилцерактоат, 1,27-октакозадієн, унтриаконтан. У кореневищі ідентифіковані β -ізометиліонон, 11-тетрадеканова, гексадеконова, *цис*-вакценова, маргарінова кислоти, також докозан.

У сировині сортових півників ідентифіковано речовини, що також є специфічними для гібридних сортів, серед них ліналоол, нонаналь, фарнезол, псевдоіонон, каріофіленоксид, кадинол, муорол, фітол.

Вміст основних компонентів ірисової олії різниться: так, в листях півників частка α -ірону складає від 0,15 до 1,65 % (найбільше в *I. hybrida* 'Galleon Gold'), β -іонон-5,6-епоксиду від 0,11 до 2,29 % (*I. hybrida* 'Galleon Gold'), β -іонону 0,04-1,28 % (*I. hybrida* 'Galleon Gold'), транс-2,6- γ -ірону від 0,06 до 3,16 % (*I. hybrida* 'Galleon Gold').

У кореневищі півників вміст α -ірону 0,25-1,29 % (*I. hybrida* 'Little Dream'), β -іонон-5,6-епоксиду 0,04-0,64 % (*I. hybrida* 'Galleon Gold'), β -іонону 0,19-0,52 % (*I. hybrida* 'Little Dream'), транс-2,6- γ -ірону 0,29-4,22 % (*I. hybrida* 'Galleon Gold'), псевдоіонон, ідентифікований лише у трьох сортах, міститься у кількості 0,37-1,77 % (*I. hybrida* 'Little Dream').

Ефірна олія з листя півників угорських у порівнянні з сортовими півниками містить у досить невеликій кількості вуглеводень тритерпенового ряду сквален (1,62 %), алкани (докозан, трикозан, пентакозан, гептакозан, нанакозан – 5,62 %), вміст кетонів складає всього 1,71 %. Олія з кореневищ півників угорських має менший вміст сквалену – всього 0,37 %, алкани містяться у кількості 4,24 %. Карбонові кислоти складають 93,74 % від загального вмісту летких сполук. Домінуючими є міристинова кислота (40,71 %), лінолева кислота (12,04 %).

Листя сортових півників містять сквален у кількості 5,44-18,87 % (*I. hybrida* 'Little Dream'), геранілацетон 0,46-4,10 % (*I. hybrida* 'Galleon Gold'). Домінуючими серед карбонових кислот є пальмітинова (11,44-21,70%), пальмітоолеїнова (4,01-8,45 %), міристинова (3,56-6,98 %). Найбільший вміст кетонів (21,93 %) та альдегідів (5,52 %) ідентифіковано у листі *I. hybrida* 'Galleon Gold', ароматичних сполук (5,08 %) – у листі *Iris hybrida* 'Indian Pow

Wow', максимальний вміст алканів (15,75 %) має сорт *I. hybrida* 'Little Dream'. Вміст карбонових кислот складає від 42,72 до 55,78 % (*I. hybrida* 'Bright White'). Терпени містяться у кількості від 19,5 до 30,22 % (*I. hybrida* 'Indian Pow Wow').

Кореневище сортових півників накопичує сквален: від 1,24 до 10,83 % (*I. hybrida* 'Little Dream'), геранілацетон – від 0,32 до 0,7 % (*I. hybrida* 'Little Dream'). Вміст альдегідів складає 0,2-2,32 % (*I. hybrida* 'Indian Pow Wow'), кетонів – 2,79-7,02 % (*I. hybrida* 'Little Dream'). Алкани містяться у кількості від 3,97 до 7,0 % (*I. hybrida* 'Indian Pow Wow'), терпени – 0,37-16,7 % (*I. hybrida* 'Little Dream'), ароматичні сполуки – 0,14-3,14 % (*I. hybrida* 'Little Dream'). Вміст карбонових кислот у кореневищі вищий: 66,66-88,84 % (*I. hybrida* 'Bright White').

Півники угорські по своєму хімічному складу летких сполук значно відрізняються від сортових півників. Так, вміст основних компонентів ірисової олії знаходиться у нижчих або середніх значеннях, однак карбонові кислоти мають більшу числову кількість та частку (майже 90 % у листі та 93,7 % – у кореневищі). Серед сортових півників листя *I. hybrida* 'Galleon Gold' накопичує максимальну кількість кетонів, також має високий вміст ароматичних сполук і терпенів. Кореневища *I. hybrida* 'Little Dream' та *I. hybrida* 'Mini Dynamo' мають найбільший вміст кетонів.

Немає залежності вмісту альдегідів і кетонів у листі та кореневищах. Однак відмічено, що у листі сортових півників вміст терпенів і алканів значно більший, ніж у кореневищах. Кореневища накопичують у більшій кількості карбонові кислоти – *Iris hungarica* (93,74 %), *I. hybrida* 'Bright White' (88,88 %), *I. hybrida* 'Galleon Gold' (83,39 %) [136].

Висновок: наявність у ірисовій олії таких компонентів як ірон та його похідних, а також різноманітний вміст БАР ефірної олії створюють передумови для подальшого вивчення півників угорських та сортових півників як перспективне джерело одержання цінної ефірної олії.

Таблиця 2.13

Загальний вміст основних компонентних груп ефірної олії півників

Досліджуваний зразок	сировина	Компоненти ефірної олії, %					
		терпени	альдегіди	кетони	алкани	ароматичні сполуки	карбонові кислоти
<i>Iris hungarica</i>	листя	1,72	0,48	1,71	5,62	0,71	89,76
	кореневище	0,37	0,01	1,46	4,24	0,14	93,74
<i>Iris hybrida</i> 'Little Dream'	листя	24,52	1,35	4,74	15,75	0,10	53,54
	кореневище	16,70	2,32	7,02	23,19	3,14	66,66
<i>Iris hybrida</i> 'Bright White'	листя	23,71	2,30	8,73	8,65	0,83	55,78
	кореневище	2,73	0,20	2,79	5,09	0,35	88,84
<i>Iris hybrida</i> 'Mini Dynamo'	листя	27,38	2,90	7,04	8,37	0,94	53,37
	кореневище	7,15	2,32	6,81	6,49	0,42	76,81
<i>Iris hybrida</i> 'Galleon Gold'	листя	19,50	5,52	21,93	4,91	4,75	43,39
	кореневище	4,57	1,01	6,50	3,97	0,56	83,39
<i>Iris hybrida</i> 'Indian Pow Wow'	листя	30,22	0,83	5,68	15,47	5,08	42,72
	кореневище	9,10	0,73	5,78	7,00	0,39	77,01

2.3.11 Ідентифікація жирнокислотного складу листя та кореневищ півників угорських

Жири належать до життєво необхідних компонентів харчового раціону і відіграють важливу роль у життєдіяльності організму. Виконують енергетичну, пластичну, транспортну, харчову, регуляторну, термоізоляційну, амортизаційну функції [137]. Органічні кислоти за кількістю атомів карбону бувають вищі (жирні) та нижчі (з кількістю атомів карбону до 12).

Аналіз метилових ефірів жирних кислот у листі та кореневищі півників угорських проводили методом хромато-мас-спектрометрії, результати аналізу наведено у таблиці 2.14 і 2.15.

Таблиця 2.14

Жирні кислоти кореневищ *Iris hungarica*, n=3, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

RT, хв	IUPAC формула	Назва жирної кислоти	Вміст у фракції, мг/кг	Вміст від суми ЖК, %
18.48	C12:0	лаурінова	530	9,86 ± 0,20
22.7	C14:0	міристинова	2200	41,01 ± 0,18
23.29	C14:1 ω 4	11 – тетрадеценова	100	1,93 ± 0,11
24.52	C15:0	пентадецилова	17	0,31 ± 0,10
26.47	C16:0	пальмітинова	620	11,61 ± 0,13
26.85	C16:1 ω 7	пальмітолеїнова	26	0,48 ± 0,09
28.2	C17:0	маргарінова	33	0,61 ± 0,16
29.98	C18:0	стеаринова	100	1,95 ± 0,20
30.3	C18:1 ω 9	олеїнова	250	4,70 ± 0,14
30.4	C18:1 ω 7	<i>цис</i> – вакценова	52	0,96 ± 0,21
31.12	C18:2 ω 6	лінолева	650	12,07 ± 0,18
32.13	C18:3 ω 3	<i>а</i> – ліноленова	120	2,31 ± 0,09
33.27	C20:0	арахінова	200	3,69 ± 0,13
36.34	C22:0	бегенова	180	3,27 ± 0,10
36.9	C16: 2 ω 6	гексадекадієноваї	60	1,11 ± 0,16
37.77	C23:0	трикоцилова	20	0,38 ± 0,18
39.22	C24:0	лігноцеринова	100	1,90 ± 0,11
39.86	C18:2 ω 6	октадекадієнова	50	0,94 ± 0,08
42.16	C26:0	церотинова	50	0,93 ± 0,12

Таблиця 2.15

Жирні кислоти листя *Iris hungarica*, n=3, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

RT, хв	IUPAC формула	Назва жирної кислоти	Вміст у фракції, мг/кг	Вміст від суми ЖК, %
18.48	C12:0	лаурінова	834,9	17,06 $\pm$ 0,11
22.45	C14:0	міристинова	375,3	7,67 $\pm$ 0,09
24.49	C15:0	пентадеканова	28,0	0,57 $\pm$ 0,08
26.45	C16:0	пальмітинова	1122,3	22,93 $\pm$ 0,15
27.06	C16:1 ω 7	пальмітолеїнова	30,3	0,62 $\pm$ 0,02
28.18	C17:0	гептадеканова	49,1	1,0 $\pm$ 0,10
29.95	C18:0	стеаринова	137,4	2,8 $\pm$ 0,13
30.27	C18:1 ω 9	олеїнова	300,4	6,13 $\pm$ 0,09
30.38	C18:2 ω 6	10 – октадеценова	74,0	1,51 $\pm$ 0,07
31.11	C18:2 ω 6	лінолева	1150,7	23,51 $\pm$ 0,14
32.12	C18:3 ω 3	ліноленова	251,7	5,14 $\pm$ 0,15
33.23	C20:0	арахінова	228,2	4,66 $\pm$ 0,20
36.29	C22:0	бегенова	174,2	3,56 $\pm$ 0,14
37.74	C23:0	трикозанова	25,7	0,52 $\pm$ 0,09
39.16	C24:0	тетракозанова	111,0	2,26 $\pm$ 0,02

Органічні кислоти за кількістю атомів карбону бувають вищі (жирні) та нижчі (з кількістю атомів карбону до 12).

Біологічна активність та структурне різноманіття ліпідів обґрунтовано наявністю у їх складі жирних кислот різної будови. Жирнокислотний склад загальних ліпідів кореневищ представлений 19 кислотами, їх загальний вміст – 0,5 %. Довжина вуглецевих ланцюгів складає від 12 до 26 атомів. Насичених жирних кислот міститься 75,5 %, що перевищує вміст ненасичених.

Серед насичених кислот домінує міристинова (41 %); в меншій кількості виявлені лауринова (до 10 %) та пальмітинова (до 12 %) кислоти. Стеаринова і лігноцеринова кислоти містяться у кількості до 2 %. Значно більша кількість у кореневищі арахінової та бегенової кислот – до 4 %. У

дуже малих кількостях виявлені маргарінова, пентадеканова та трикоцилова кислоти – до 1 %.

У листі півників міститься 15 жирних кислот, довжина ланцюгів вуглецю – від 12 до 24 атомів. Насичені жирні кислоти містяться у кількості 63,03 %, ненасичені – 36,97 %. Серед насичених найбільшу кількість складає пальмітинова (22,93 %), лаурінова (17,06 %) та міристинова (7,67 %) кислоти. У значній кількості містяться лінолева (23,51 %), олеїнова (6,13 %) та ліноленова (5,14 %) кислоти. Такі кислоти як пентадеканова, пальмітолеїнова, трикозанова займають частку до 1 %.

Висновок: результати вивчення вмісту жирних кислот у листі та кореневищі півників угорських показали, що більшу частину складають насичені жирні кислоти. Дані результати можуть бути використані для подальшого контролю якості сировини під час зберігання як показники якості.

2.3.12 Встановлення компонентного складу нижчих карбонових кислот у листі та кореневищі півників угорських

Ідентифікацію, а також компонентний вміст карбонових кислот у сировині півників угорських проводили методом хромато-мас-спектрометрії (табл. 2.16).

Таблиця 2.16

Карбонові кислоти листя та кореневищ півників угорських

№	Rt, хв	назва кислоти	вміст, мг/кг	
			листя	кореневища
1	2	3	4	5
1	5,18	капронова кислота	16,5	14,0
2	9,35	каприлова кислота	132,8	131,5
3	10,01	щавелева кислота	3435,2	1651,9
4	12,18	малонова кислота	39,5	29,3
5	12,92	фумарова кислота	19,6	12,6
6	13,99	капринова кислота	247,9	-

Продовж. табл. 2.16

1	2	3	4	5
7	14,03	бурштинова кислота	37,1	265,5
8	17,64	метоксибурштинова кислота	329,7	154,8
9	20,93	3-окси-2-метилглутарова кислота	95,3	55,9
10	22,57	яблунева кислота	4558,0	290,9
11	22,97	суберова кислота	26,6	35,0
12	24,92	азелаїнова кислота	109,2	100,7
13	29,8	лимонна кислота	1337,5	552,7
14	32,83	ванілінова кислота	90,2	61,5
15	38	4-оксибензойна кислота	54,1	38,2
16	38,22	бузкова кислота	16,3	-
17	40,69	ферулова кислота	638,5	300,7

Також встановлений компонентний вміст карбонових кислот: ідентифіковано 17 кислот у листі, 15 – у кореневищах півників угорських. Листя півників угорських містять 25,42 % насичених двоосновних кислот, 36,66 % - гідроксикислот, 4,96 % - фенолокислот. Кореневища містять: двоосновні насичені кислоти (25,35 %), фенолокислоти (4,4 %), гідроксикислоти (9,28 %). Серед аліфатичних карбонових кислот в листях та кореневищах півників угорських в найбільшій кількості містяться щавелева, яблунева і лимонна кислоти. Також встановлено вміст метоксибурштинової і суберинової кислот, характерних для даного виду.

2.3.13 Встановлення компонентного складу мінерального комплексу сировини півників угорських та сортових півників

Для встановлення мінерального складу досліджуваних об'єктів використовували метод атомно-емісійної спектроскопії з дуговим збудженням [138].

Попередньо оброблену сульфатною кислотою подрібнену сировину досліджуваних об'єктів (3-4 мм) озолювали у фарфорових тиглях при температурі 500 °C протягом 1 години у муфельній печі. Збудження спектрів

типу IBS-28 відбувалось у розряді електричної дуги при силі струму 16 А та часу експозиції 60 секунд. Для одержання та фіксуванні спектрів проб використовувався спектрограф ДФС-8 з дифракційною решіткою 600 штр/мм та трьохлінзовою системою освітлення щілини. Вимірювання інтенсивності емісійних ліній відбувалось за допомогою мікрофотометра МФ-4. Довжина хвилі становила від 240 нм до 347 нм. Дані проб порівнювали зі стандартними зразками елементів. Результати отримані усередненням 4-5 паралельних випробувань та оброблені методом математичної статистики.

Поглинання та транспорт мінеральних речовин відображає генотипічні особливості (здатність до біоаккумуляції хімічних елементів) та умови зростання рослин (склад ґрунту, режим водного живлення, кліматичні умови) [139]. В результаті проведеного аналізу встановили, що зольність досліджуваних об'єктів складає від 7 до 17 %. Вміст золи у кореневищах менший (7,32 %-9,6 %), ніж у листі (від 9,6 3 до 17,2 %).

У сировині півників було ідентифіковано 19 елементів, серед яких 5 – макроелементи (K, Ca, Mg, Na, P), 10 – мікроелементи (Fe, Si, Al, Mn, Pl, Ni, Mo, Cu, Zn, Sr), 4 – ультрамікроелементи (Co, Cd, As, Hg), встановлений кількісний вміст (Додаток Б-3). У значній кількості містяться калій (430-4300 мг/100 г), кальцій (685-1900 мг/100 г) та магній (140-715 мг/100 г), що є важливими елементами для регуляції осмотичного потенціалу, забезпечення конформації білків ензимів (формування коензимів), контролю проникності мембран рослинних клітин. У меншій кількості накопичуються такі макроелементи як фосфор (80-205 мг/100 г) та натрій (23-69 мг/100 г). Відомо, що натрій також приймає участь у підтримці осмотичного тиску та перенесенні потенціалів у рослинній клітині, фосфор – сприяє утворенню ефірних зв'язків між природніми спиртовими групами, а також виступає джерелом енергії у вигляді АТФ, НАД, НАДФ [140]. Сировина півників накопичує значну кількість кремнію (вміст у золі 84-815 мг/100 г), алюмінію (вміст у золі 20-265 мг/100 г), заліза (вміст у золі 12,0-87 мг/100 г), стронцію (вміст у золі 4,7-25,8 мг/100 г), цинку (вміст у золі 3,8-24 мг/100 г). Наведені

мікроелементи також є необхідними для функціонування рослини – беруть участь у транспорті речовин, а також у формуванні ензимів. Відмічено, що кореневище півників накопичує більшу кількість нікелю (Ni), молібдену (Mo) та свинцю (Pb), ніж листя. Такі елементи як кобальт (Co), кадмій (Cd), ртуть (Hg), миш'як (As) виявлені в межах можливостей, складають $Co < 0,03$ мг/100г; $Cd, As, Hg < 0,001$ мг/100г. Важкі, токсичні метали знаходяться у допустимих межах для лікарської сировини та харчових продуктів [141].

За кількісним вмістом елементів домінує калій (K), кальцій (Ca) і магній (Mg), більша кількість яких накопичуються у листі півників. Такі елементи як залізо (Fe), алюміній (Al), натрій (Na), стронцій (Sr), цинк (Zn) та кремній (Si) мають більший вміст у кореневищі півників [142].

Вперше ідентифікували та встановили кількісний вміст мінерального комплексу півників угорських та карликових бородатих півників методом атомно-емісійної спектрометрії. Визначили вміст 19 мінералів у листі та кореневищі півників, важкі метали у сировині ідентифіковані у дозволених межах, тому сировина півників є досить безпечною для застосування. Встановлення вмісту макро- та мікромінералів дає змогу прогнозувати можливі реакції утворення солей з деякими БАР.

Висновки до розділу 2

1. За результатами проведеного фітохімічного дослідження у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників встановлена наявність флавоноїдів, сапонінів (тритерпенових – у кореневищах, стероїдних – в листях), кумаринів, танінів, простих фенолів, а також наявність органічних кислот (щавелевої, аскорбінової, лимонної), гідроксикоричних кислот (*p*-кумарової, хлорогенової, неохлорогенової, коричної, гідроксикоричної, ферулової, кавової), агліконів ізофлавоноїдів (геністеїн, даїдзеїн, формонетин, нігрицин, ононін), флавоноїдів (кверцетин, кемпферол, рутин), ксантонів (мангіферин), також у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників ідентифіковані

вільні амінокислоти (треонін, метіонін, триптофан, аргінін, валін, лейцин).

2. За допомогою методу газової хроматографії-мас-спектрометрії встановлений вміст вільних амінокислот у кореневищі півників угорських, що склав 6,25 %: найбільший вміст у кореневищі півників угорських піроглутамової кислоти у перерахунку на глютамову кислоту, що складає більше 50 % від загальної кількості амінокислот у сировині. Аланін міститься у кількості 22,82 % від загального місту амінокислот у сировині. Інші ідентифіковані амінокислоти, у тому числі незамінні – валін, лейцин, ізолейцин, мають менший вміст – від 4,55 до 7,63 % від загального місту амінокислот у сировині півників угорських.
3. Методом спектрофотометрії у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників встановлено вміст основних груп БАР – флавоноїдів, ізофлавоноїдів, гідроксикоричних кислот, ксантонів. Встановлено, що в листях півників у більшій кількості накопичуються гідроксикоричні кислоти (1,14-4,2 %) та ксантони (0,33-2,47 %), вміст флавоноїдів у листі та кореневищі півників знаходиться в середніх значеннях 1,04-3,55 %. Вміст ізофлавоноїдів, в середньому, вищий у кореневищі півників та складає від 1,07 до 3,15 %.
4. Методом ВЕРХ у кореневищі півників угорських ідентифіковано 7 сполук: мангіферин, текторидин, нігріцин-4'-O- β -D-глюкопіранозид, іристекторигенін В, нігріцин, іригенін, 5,6-дигідрокси-7,8,3',5'-тетраметоксиізофлавоон; у листі – 2 сполуки: хлорогенова кислота, мангіферин. Досить у великій кількості у кореневищі півників угорських містяться ізофлавоон іригенін (4,9 мг/г), нігріцин-4'-O- β -D-глюкопіранозид (6,3 мг/г), текторидин (3,9 мг/г), нігріцин (2,3 мг/г), у листі – ксантон мангіферин (6,6 мг/г).
5. Методом ВЕТШХ встановили вміст ксантонового глікозиду мангіферину у листях та кореневищах півників угорських, який склав 4,85 % і 2,47 % відповідно.

6. Методом хромато-мас-спектрометрії встановлений вміст ефірної олії листя та кореневищ півників угорських та сортових півників. В листях півників частка α -ірону складає від 0,15 до 1,65 % (найбільше в *I. hybrida* 'Galleon Gold'), β -іонон-5,6-епоксиду від 0,11 до 2,29 % (*I. hybrida* 'Galleon Gold'), β -іонону 0,04-1,28 % (*I. hybrida* 'Galleon Gold'), транс-2,6- γ -ірону від 0,06 до 3,16 % (*I. hybrida* 'Galleon Gold'). У кореневищі півників вміст α -ірону 0,25-1,29 % (*I. hybrida* 'Little Dream'), β -іонон-5,6-епоксиду 0,04-0,64 % (*I. hybrida* 'Galleon Gold'), β -іонону 0,19-0,52 % (*I. hybrida* 'Little Dream'), транс-2,6- γ -ірону 0,29-4,22 % (*I. hybrida* 'Galleon Gold'), псевдоіонон, ідентифікований лише у трьох сортах, міститься у кількості 0,37-1,77 % (*I. hybrida* 'Little Dream').
7. Методом хромато-мас-спектрометрії вперше проведений аналіз жирнокислотного складу кореневищ півників угорських. У кореневищі ідентифіковано 19 жирних кислот, з них 12 – насичених (75,5 % від суми жирних кислот), 7 – ненасичених (24,5 %); у листі – 15 жирних кислот, з яких 10 – насичених (63,03 %), 5 – ненасичених (36,97 %). Також встановлений компонентний вміст карбонових кислот: ідентифіковано 17 кислот у листі, 15 – у кореневищах півників угорських. Листя півників угорських містять 25,42 % насичених двоосновних кислот, 36,66 % - гідроксикислот, 4,96 % - фенолокислот. Кореневища містять: двоосновні насичені кислоти (25,35 %), фенолокислоти (4,4 %), гідроксикислоти (9,28 %). Серед аліфатичних карбонових кислот в листях та кореневищах півників угорських в найбільшій кількості містяться щавелева, яблунева і лимонна кислоти. Також встановлено вміст метоксибурштинової і суберинової кислот, характерних для даного виду.
8. Методом атомно-емісійної спектроскопії з дуговим збудженням встановлений якісний і кількісний вміст мінерального комплексу у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників. Всього ідентифіковано 19 елементів. За кількісним вмістом домінує калій (K), кальцій (Ca) і магній (Mg), більша кількість яких накопичуються у листі

півників. Такі елементи як залізо (Fe), алюміній (Al), натрій (Na), стронцій (Sr), цинк (Zn) та кремній (Si) мають більший вміст у кореневищі півників. Важкі метали знаходяться у допустимих межах.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Mykhailenko O. O., Kovalyov V. M., Kovalyov S. V., Krechun A. V. Biologically active compounds from the rhizomes of *Iris hungarica*. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2016. Т. 14, № 4 (56). С. 63–66 (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці даних).
2. Kovalyov V. M., Krechun A. V., Mykhailenko O. O., Gryshyna O. V. The study of elemental composition of *Iris hungarica* and irises varieties. *Вісник фармації*. 2018. №. 4 (96). С. 9–15 (Особистий внесок – підготувала досліджувані зразки, брала участь у інтерпретації даних, оформленні статті)
3. Krechun A. V., Kovalev V. N., Mykhailenko O. O. Determination of quantitative composition of xanthones in the underground organs of *Iris sibirica* and *Iris hungarica*. *Topical issues of new drugs development : abstracts of XXII international scientific and practical conference of young scientists and student, , Kh., April 23, 2015. Vol. 1. P. 80–81.*
4. Krechun A. V., Mykhailenko O. A., Kovalev V. N. Research of quantitative value amount of γ – piron of *iris hungarica* and *iris sibirica* leaves. *Topical issues of new drugs development : abstracts of XXIII international scientific and practical conference of young scientists and student, April 21, 2016. Kh., 2016. Vol. 1. P. 84–85.*
5. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В. Фенольні сполуки півників угорських та їх антибактеріальна активність. *Хімія природних сполук : матеріали конф., 21–22 квіт. 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 22–23.*

6. Krechun A. V. Perspectiveness of the use of some representatives of the genus *Iris* L. *Topical issues of new drugs development* : abstracts of XXIV international scientific and practical conference of young scientists and student, April 20, 2017. Kh., 2017. Vol. 1. P. 85–86.
7. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В. Перспективність створення антимікробного засобу на основі півників. *Ліки–людині* : матеріали I Міжнар. наук.–практ. конф., 30–31 берез. 2017 р. Харків, 2017. С. 186.
8. Кречун А. В., Михайленко О. А. Предварительное изучение биологически активных веществ некоторых сортов рода *Iris* L. методом хроматографии. *Актуальные вопросы современной медицины и фармации 2017* : материалы 69–й итоговой науч.–практ. конф. студентов и молодых ученых, г. Витебск, ВГМУ, 19–20 апр. 2017 г. Витебск : ВГМУ, 2017. С. 199–200.
9. Krechun A. V., Mykhailenko O. O. Primary screening of the biologically active compounds of *Iris hungarica* Waldst. Et Kit. *Relevant issues of modern medicine: the experience of Poland and Ukraine* : International research and practice conference. Lublin, 2017. P. 117–120.
10. Krechun A., Kovalyov V., Mykhailenko O. Establishment of elemental composition of the leaves and rhizomes of *Iris hybrida* hort. “Indian Pow Wow” : The International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy practice is organized by the Faculty of Pharmacy of Lithuanian Health Sciences University in collaboration with Lithuanian Pharmaceutical Association and LSMU FF Alumni Association. Kaunas, 2017. P. 73–75.
11. Krechun A. V., Mykhailenko O. O., Kovalyov V. M. Organic and hydrocinnamic acids of *Iris hungarica*. *Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации* : материалы респ. науч.–практ. конф. с междунар. участием. Ташкент, 2016. С. 6–7.
12. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М., Ковальов С. В. Хроматографічний аналіз амінокислот рослин родини Iridaceae.

Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій : тези доп. Всеукр. наук.–практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 80–річчю з дня народж. д–ра фармац. наук, проф. О. М. Гайдукевича, 12–13 квіт. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 271.

13. Krechun A. V., Mykhailenko O. O. The use of thin–layer chromatography in analysis of xanthonenes of plant objects. *Topical issues of new medicines development* : матеріали XXVI Міжнар. наук.–практ. конф. молодих учених та студентів, м. Харків, 10–12 квіт. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. С. 49–50.
14. Кречун А. В., Михайленко О. О. До питання стандартизації сировини півників. *Управління якістю в фармації* : матеріали XII наук.–практ. конф., м. Харків, 18 трав. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 106–107.
15. Кречун А. В., Михайленко О. О. Дослідження вмісту ізофлавоноїдів у сировині сортових півників. *Perspectives of science and education* : Proceedings of the 11th International youth conference. New York, 2019. С. 113–117.
16. Krechun A. V., Mykhailenko O. O., Kovalyov V. M. Determination of the xanthone glycoside mangiferin content in the rhizomes of *iris hungarica* by hplc method. *XIII International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds*. October 16–19. Shanghai, 2019. P. 127.
17. Krechun A., Mykhailenko O., Kovalyov V. Chemical compositions of the essential oil of *Irises* hybrid rhizomes. *Science and Practice 2019* : The 10th International Pharmaceutical Conference, Lithuanian University of Health Sciences, Faculty of Pharmacy. Kaunas, 2019. P. 48.

РОЗДІЛ 3

ВИДІЛЕННЯ ПРИРОДНИХ СПОЛУК З КОРЕНЕВИЩ ПІВНИКІВ УГОРСЬКИХ

3.1 Екстракція природних сполук з кореневищ півників угорських

Для виділення індивідуальних сполук з кореневищ півників угорських сировину (1,0 кг) попередньо висушену та здрібнену до часток 2-3 мм поміщали у перколятор та екстрагували етанолом (70 % об/об) протягом 24 годин. Процес екстракції повторювали двічі. Одержані екстракти об'єднували, фільтрували через воронку Бюхнера та концентрували на роторно-випарювальному апараті до мінімального об'єму. Екстракт залишали на добу у холодильнику, після чого відфільтровували осад. Одержаний розчин послідовно обробляли органічними розчинниками (хлороформ, етилацетат, *n*-бутанол). Одержанні екстракти упарювали до вилучення розчинника.

Хімічний аналіз одержаних екстрактів проводили за допомогою паперової та тонкошарової хроматографії у системах розчинників №1, №3. На хроматограмі етилацетатної та хлороформної фракції було виявлено 11 речовини, які мали переважно жовту, коричневу, блакитну флуоресценцію. В бутанольній фракції виявлено 6 сполук з жовтою та темно-жовтою флуоресценцією.

3.2 Розділення речовин з етилацетат-хлороформної фракції

Вміст хлороформної та етилацетатної фракції за певними компонентами був схожий, тому екстракти об'єднували: вміст фракцій упарювали досуха, змивали мінімальною кількістю етанолу (96 % об/об) та об'єднували. Об'єднану етилацетат-хлороформну фракцію наносили на колонку (4,5×80 см) з сорбентом (сілікагель 75-150). Елюювали

хлороформом, потім – сумішшю хлороформ-етанол (96 % об/об) зі зростаючою концентрацією спирту. Було одержано 120 фракцій (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Хроматографічне розділення еталацетат-хлороформної фракції

Фракції	Елюент	Кількість елюату, мл
1-21	хлороформ	2100
22-27	хлороформ:етанол (95:5)	600
28-47	хлороформ:етанол (90:10)	2000
48-60	хлороформ:етанол (85:15)	1300
61-67	хлороформ:етанол (80:20)	700
68-79	хлороформ:етанол (75:25)	1200
80-85	хлороформ:етанол (70:30)	600
86-109	хлороформ:етанол (65:35)	2400
110-114	хлороформ:етанол (60:40)	500
115-120	хлороформ:етанол (55:45)	600

Фракції збирали по 100 мл, упарювали досуха та змивали мінімальним об'ємом 96 % етанолу. Вміст фракцій контролювали методом паперової хроматографії у системі розчинників № 1 та № 3. Розподіл зон на колонці контролювали в УФ-світлі. Фракції з однаковим вмістом сполук об'єднували та залишали для кристалізації. Утворення кристалічного осаду спостерігалось у фракціях 3-5, 6-12, 13-24, 31-38, 41-46, смолянистий осад спостерігався у фракціях 53-56, 68-73, 74-78, 81-85, 89-90, 91-98, 101-112. Кристалічний осад відфільтровували за допомогою скляного фільтру, промивали етанолом (96 % об/об) та висушували при температурі 60 °С. Фракції, де утворився смолянистий осад, хроматографували на папері у системі розчинників № 2, після висушування флуорисцюючі зони вирізали,

об'єднували, змивали мінімальною кількістю етанолу (96 % об/об). Через деякий час в елюатах спостерігали утворення кристалів різної форми.

Бутанольний екстракт наносили на колонку (4×60 см) зі сорбентом (силікагель 75-150). Речовини елюювали водою і сумішшю вода-етанол зі зростаючою концентрацією спирту. Було одержано 40 фракцій. Склад фракцій контролювали методом ПХ, східні фракції об'єднували. Кристалічний осад утворився у фракціях 1-9, 21-37. Осад відфільтровували за допомогою скляного фільтру, промивали етанолом (96 % об/об) та висушували при температурі 60 °С. Схема виділення індивідуальних речовин наведена на рис. 3.1.

Таблиця 3.2

Хроматографічне розділення бутанольної фракції

Фракції	Елюент	Кількість елюату, мл
1-7	вода	700
8-15	вода:етанол (90:10)	800
16-33	вода:етанол (85:15)	1800
34-37	вода:етанол (80:20)	400
38-39	вода:етанол (70:30)	200
40	вода:етанол (60:40)	100

3.3 Встановлення структури виділених речовин

Методом колонкової хроматографії на силікагелі, а також методом препаративної хроматографії з етилацетат-хлороформної фракції кореневищ півників угорських було виділено 15 речовин, з бутанольної – 3 речовини. Структуру виділених речовин встановлювали фізико-хімічними та інструментальними методами аналізу [143], а також за даними літератури.

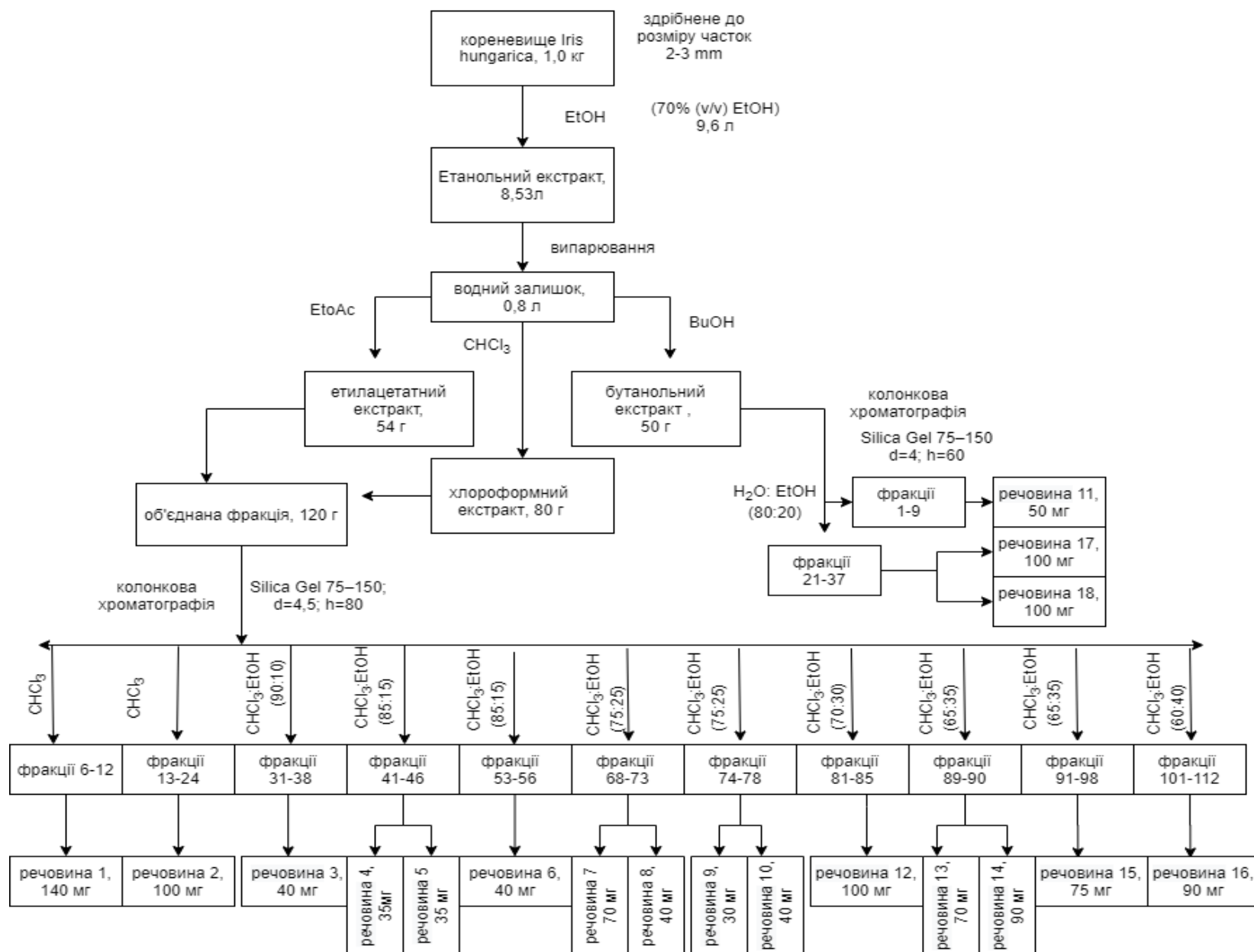


Рис. 3.1 Схема виділення індивідуальних сполук з кореневищ півників угорських.

3.3.1 Флавоноїди

З об'єднаної етилацетат-хлороформної фракції кореневищ півників угорських було виділено три сполуки флавоноїдної природи, з бутанольної – одна. Структуру встановлювали методом паперової хроматографії (значення R_f), за характерними піками УФ- та ІЧ-спектрів. Речовини **7**, **8**, **12**, **13** на хроматограмах мають жовту, темно-жовту флуоресценцію, яка змінюється після обробки розчином алюмінію хлориду на жовто-зелену, тому речовини були віднесені до флавонів та/або їх глікозидів. Сполуки **11** та **12** мали більш темну флуоресценцію і більше значення R_f (ПХ, система розчинників №1), що свідчило про глікозидну природу, тому був проведений гідроліз [144]. Гідролізат хроматографували, значення R_f та характер флуоресценції був аналогічний стандартним зразкам кверцетину та апігеніну.

Речовина **7**. УФ-спектр речовини **7** в розчині етанолу (96 % об/об) мав максимуми поглинання при 202, 259 та 373 нм. При додаванні розчину алюмінію хлориду спостерігали батохромний зсув (410 нм). При додаванні розчину натрію ацетату виявлявся зсув першої полоси на 15 нм, на 91 нм при додаванні цирконілу нітрату и наступне зменшення оптичної щільності до 59 нм з додаванням лимонної кислоти, що свідчить про вільні гідроксильні групи у 3, 5 і 7 положенні. З калію гідроксидом УФ-спектр речовини **7** мав гіпсохромний зсув на 50 нм, що характерно для вільної гідроксигрупи у С-4' водночас з наявною у молекулі гідроксигрупою у С-3. В ІЧ-спектрі виявлено смуги поглинання, характерні для ароматичної структури флавоноїдів: 1628-1495 cm^{-1} (скелетні коливання зв'язку $\text{C}=\text{C}$), 1560-1518 cm^{-1} (коливання ароматичних кілець А і Б), 3385-3300 cm^{-1} (фенольні гідроксили), 1685-1615 cm^{-1} (зв'язок $\text{C}=\text{O}$ γ -пірону). На підставі одержаних даних хроматографічного аналізу зі стандартним зразком, УФ- та ІЧ-спектрів речовину **8** ідентифіковано як 3,5,7,3',4'-пентагідроксифлавіон або кверцетин.

Речовина **8**. УФ-спектр речовини мав піки при 267 і 340 нм, при додаванні розчину алюмінію хлориду спостерігався зсув піків – 280 і 385

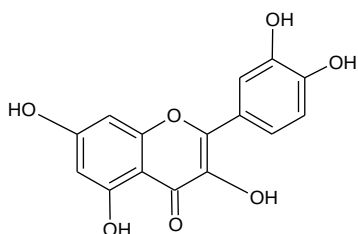
нм. ІЧ-спектр у калію броміді мав зони поглинання при 3297-3095 (замісники OH), 2925-2617 (зв'язок C-H), 1801 (структура лактона), 1655 (зв'язок C=O), 1608-1520 (ароматичні кільця), що характерно для флавону. У системі розчинників №1 Rf співпав зі стандартним зразком апігеніну – 0,57. На підставі одержаних даних спектрального та хроматографічного аналізу зі стандартним зразком речовину **8** ідентифіковано як 4',5,7-тригідроксифлавіон або апігенін.

Речовина **11**. Речовина була ідентифікована у бутанольній об'єднаній фракції 1-9. Хроматографування речовини **11** методом паперової хроматографії (система розчинників № 1) підтвердило глікозидну структуру речовини, так як мало пляму темно-коричневого кольору (Rf=0,68). Речовину **11** гідролізували (2 години, 3 % H₂SO₄), повноту гідролізу визначали за допомогою хроматографії на папері. УФ-спектр гідролізату мав піки при 273 та 330 нм. Речовина у ІЧ-спектрі мала зони поглинання при 3414 см⁻¹ (ОН-групи), 1704 см⁻¹ (зв'язок C-H), 1654 см⁻¹ (валентні коливання C=O), 1606 см⁻¹ (ароматична структура), 832 см⁻¹ (цукровий залишок). Речовина **11** у системі розчинників № 4 мала Rf, що співпадало зі стандартним зразком ембініну (0,53). На підставі одержаних даних УФ- та ІЧ-спектрів, результату хроматографічного аналізу зі стандартним зразком речовину **12** ідентифіковано як 5-гідрокси-7,4'-диметоксифлавіон-6-С-[О-(α -L-рамнопіранозил)-1 $\rightarrow$ 2- β -D-глюкопіранозид або ембінін.

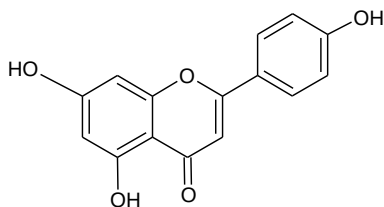
Речовина **12** на хроматограмі (система розчинників №1) мала 1 пляму коричневого кольору (Rf=0,4). Після гідролізу (2 години, 3 % H₂SO₄) розчин на хроматограмі мав 2 плями (Rf=0,43; Rf=0,74), що свідчить про утворення аглікона флавоноїду та монозидів. У гідролізаті виявлена D-галактоза та аглікон, що виявився ідентичним за фізико-хімічними властивостями речовині **8** (кверцетину). Місце приєднання вуглеводного залишку встановлювали порівнянням УФ-спектру речовини та аглікону. В УФ-спектрі речовини **8** не відбувався зсув першої полоси при додаванні цирконілу

нітрату та лимонної кислоти, що підтверджує місце приєднання D-галактози через гідроксигрупу у С-3.

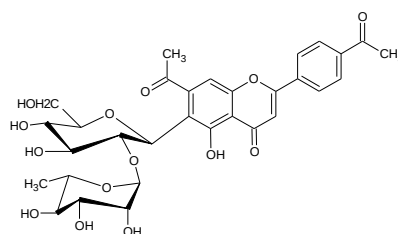
УФ-спектр речовини **12** мав характерні піки при 204, 255, 356 нм. ІЧ-спектр речовини мав полоси валентних коливань при 3300-2900 см^{-1} (групи OH), 1660-1620 см^{-1} (зв'язок C=O), 1910-1800 см^{-1} (зв'язок C=C). Валентні коливання в області 1086 см^{-1} , 1065 см^{-1} , 101 см^{-1} свідчать про наявність цукрового залишку в піранозній формі. На підставі одержаних даних хроматографічного аналізу зі стандартним зразком, УФ- та ІЧ-спектрів речовину **12** ідентифіковано як кверцетин-3-O- β -D-галактопіранозид або гіперозид.



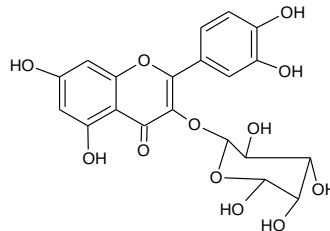
Речовина **7** (кверцетин)



Речовина **8** (апігенін)



Речовина **11** (ембінін)



Речовина **12** (гіперозид)

Рис. 3.2 Структурні формули флавоноїдів, що були виділені з кореневищ півників угорських

3.3.2 Ізофлавоноїди

З об'єднаної етилацетат-хлороформної фракції кореневищ півників угорських виділено 9 сполук, які були віднесені до групи ізофлавоноїдів. Структуру встановлювали вищезазначеними методами. При попередньому хроматографічному аналізі у системі розчинників № 1 речовини **1-3, 6, 13-16** мали блакитну, зелено-блакитну та коричневу флуоресценцію, тому були

віднесені до ізофлафлавононів та/або їх глікозидів. Сполука 13 мала темно – коричневу флуоресценцію і більше значення R_f , що свідчило про глікозидну природу, тому їх піддавали гідролізу. Гідролізат хроматографували зі стандартними зразками ізофлавоноїдів. Ізофлавонони, на відміну від флавоноїдів, мають характерний максимум поглинання в області 250-260 нм і «плече» при 300-305 нм (5-дезгідрокси ізофлавонони), при 325 нм (5-гідроксиізофлавонони), що вказує на відсутність сполучення між карбонільною групою і бічним фенільним радикалом. У зв'язку з цим встановлення локалізації гідроксигруп за допомогою УФ-спектрофотометрії у ізофлавононів ускладнено. Для визначення положення замісника-гідроксигрупи використовували УФ-спектроскопію з комплексоутворюючими реагентами і враховували зсув двох смуг поглинання, якщо такий був наявний. Характерний батохромний зсув з натрієм етилатом на 37-25 нм вказує на наявність гідроксигруп у С-4' у речовинах. При додаванні до розчину речовин цирконілу нітрату спостерігається батохромний зсув у спектрі на 45 нм, що характеризує наявність гідроксигрупи у п'ятому положенні. З додаванням натрію ацетату спостерігається батохромний зсув на 8-10 нм, що свідчить про локалізацію гідроксигрупи у сьомому положенні. Будова речовин підтверджена даними ПМР-спектрів. Так, в ПМР-спектрах цих речовин виявляються сигнали протонів: Н-2 (δ 8,15-8,36 м.ч.), Н-2', Н-6' (д. δ 7,43-7,55 м.ч. J 8,5-9,0 Гц), - Н-3', Н-5' (д. δ 6,94-7,03 м.ч. J 8,5-9,0 Гц), Н-8 (д. δ 6,44-7,23 м.ч. J 2,0 Гц), Н-6 (д. δ 6,32-6,96 м.ч. J_1 2,0-2,5 Гц, J_2 8,0 Гц).

Речовина 1. Осад, що випав у фракції 6-12, відфільтровували, промивали етанолом (96 % об/об), збирали у контейнер. Температура плавлення речовини 170-172 °С. УФ-спектр мав пік при 269 нм, з 10 % розчином NaOH мав зсув – 275 нм з плечом при 340 нм. Спектр при додаванні натрію ацетату і борної кислоти мав зсув – 272 нм і плече при 330 нм, що свідчить про відсутність замісника у гідроксильній групі в 7 положенні. ІЧ-спектр речовини 1 мав характерні для ізофлавононів смуги поглинання різної інтенсивності при см^{-1} : 3380 (групи OH), 2975, 2945, 2834

(OCH₃), 1667 (C=O), 1622, 1585, 1507, 1572 (валентні коливання C=C), 1372, 1061, 1008 (зв'язок C-O). Смути поглинання при 1586 і 1392 см⁻¹ вказують на присутність ароматичної частини молекули.

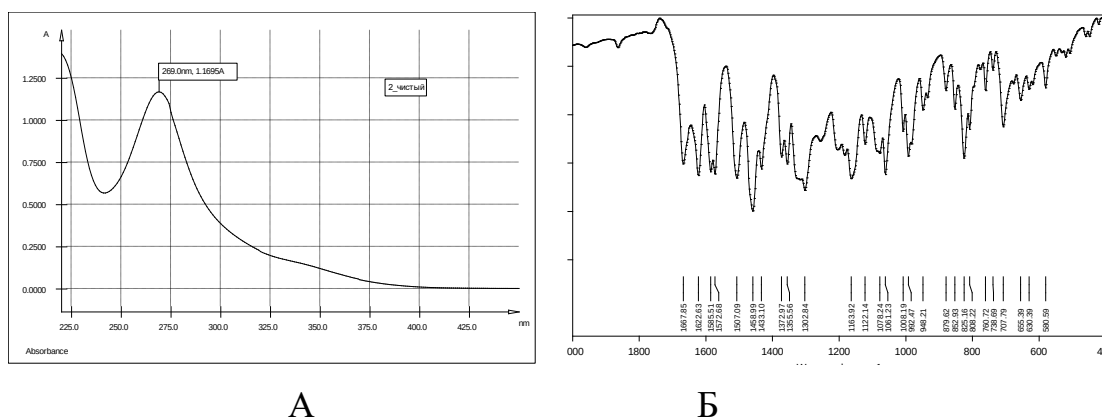


Рис. 3.3 УФ- (А) та ІЧ (Б)- спектр речовини **1**

¹H ЯМР-спектр речовини **1** мав сигнал при δ 8.35 м.ч. (1H, с) при C-2 скелета, що свідчить про ізофлавонову будову. Також виявлені три синглетні сигнали гідроксильних груп при δ 13.0 м.ч. (1H, с, 5-OH), 10.75 м.ч. (1H, с, 7-OH), 9.21 м.ч. (1H, с, 3'-OH), та трьох метоксильних груп при δ 3.3 м.ч. (3H, с, 4'-OCH₃), 3.55 м.ч. (3H, с, 5'-OCH₃), 3.8 м.ч. (3H, с, 6-OCH₃). Спектр також має пару дуплетів ароматичних протонів δ 6.65 м.ч. і 6.62 м.ч. в *p*-заміщеному бензольному кільці при C-2', C-6' (кожне по 2H, д, J = 1,8 Гц). Сигнал при δ 6.42 м.д. (1H, с, 8-H) вказує на наявність лише одного протону в «А» кільці ізофлавону.

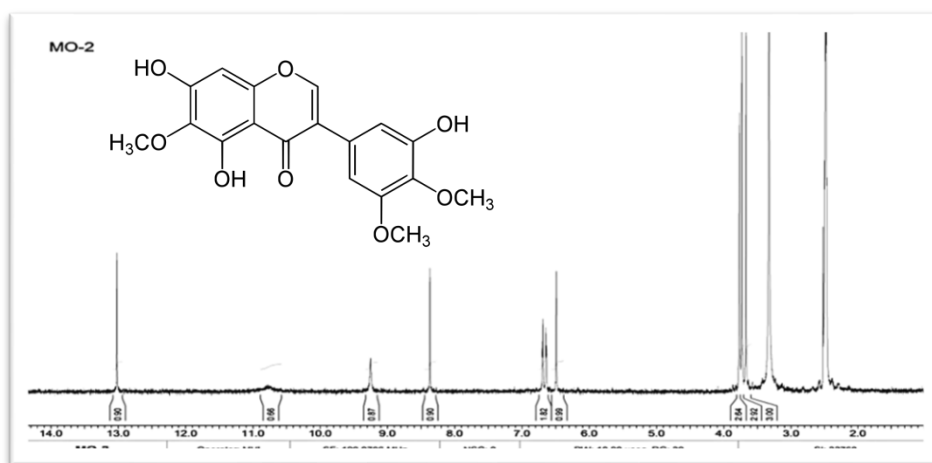


Рис. 3.4 ПМР – спектр речовини **1**

Речовина **2** мала вигляд білих кристалів, температура плавлення яких склала 215-216 °С. УФ-спектр речовини **2** у метанолі мав максимуми поглинання при 250 нм з плечем при 295 нм. ІЧ-спектр речовини **2** характеризується смугами поглинання при 3450-3000 cm^{-1} (спиртові гідроксильні групи, 2950 і 2850 cm^{-1} (-OCH₃), 1654 cm^{-1} (C=O, γ -пірону), 1625, 1512, 1450 cm^{-1} (ароматичний зв'язок C=C), 1100-1000 cm^{-1} (піранозна форма глюкози), 890 cm^{-1} (β -глюкозидний зв'язок). ПМР-спектр речовини **2** мав протонні сигнали при δ 8.00 м.ч. (H-5, дублет), 7.50 м.ч. (H-2, ізофлавіон), 7.0 м.ч. (H-2', H-6', дуплет), 5.5 м.ч. (H-6, H-8), 5.0 м.ч. (H-3', H-5'), що свідчить про наявність замісників при 7 та 4' атому карбону. Сигнал метоксильної групи при δ 3.5 м.ч. свідчить про положення при C-4'. Сигнали в області δ 3.5-4.0 м.ч. підтверджують наявність 6 протонів, тобто монозидну природу досліджуваної речовини – глікозиду. Сигнал аномерного протону D-глюкози δ 4.5 м.ч. ідентифікований у вигляді дублету, що характерно для β -глюкози, сполученої з 7 атомом карбону аглікону (рис.3.5).

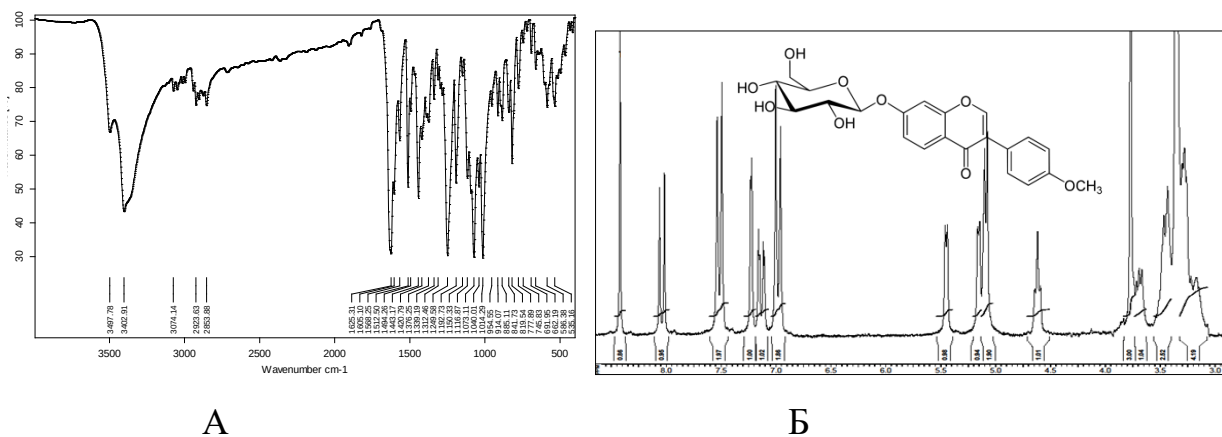


Рис. 3.5 ІЧ-спектр речовини **2** (А), ПМР-спектр речовини **2** (Б)

Речовина **2** охарактеризована як 7-гідрокси-4'-метоксиізофлавіон-7-О- β -D-глюкозид або ононін.

Речовина **3**. Осад, що зібрали з відповідної фракції, мав світло-жовтий колір. Попередній аналіз показав наявність на хроматограмі у системі розчинників № 3 чотирьох плям (R_f =0,1; 0,52; 0,68; 0,84) з коричневою і фіолетовою флуоресценцією, що свідчило про вміст декількох речовин.

Плями елюювали з хроматограми, змивали етанолом (96 % об/об) та залишали для кристалізації. У двох елюатах спостерігалось випадіння осаду у вигляді світло-жовтих кристалів.

УФ-спектр розчину речовини **3** у метанолі мав характерні піки при 263 та 323 нм. ІЧ-спектр речовини **3** характеризувався смугами поглинання при см^{-1} : 3420 (замісник OH), 3060 (ароматична C-H), 1680, 1625, 1615 (зв'язок C=O), 1590 (C-O). Смуги поглинання при 1555-1270 см^{-1} свідчать на наявність ароматичної частини молекули. ^1H -ЯМР-спектр речовини **3** мав 12 вільних протонів у молекулі (рис. 4.6). Ароматичні протони при δ 6.95 та δ 8.2 (1H) відповідають положенням при C-8 та C-2 ізофлавонового скелету. Сигнал при δ 9.53 відповідає синглету гідроксильної групи при C-4'. Два сигнали при δ 7.32 (2H, д, $J=8.5$ Гц) та 6.75 (2H, д, $J=8.5$ Гц) підтвердили наявність чотирьох ароматичних протонів при C-2', C-6', C-3', C-5' відповідно. Синглет при δ 3.85 м.ч. відповідає метоксильній групі при п'ятому атомі карбону.

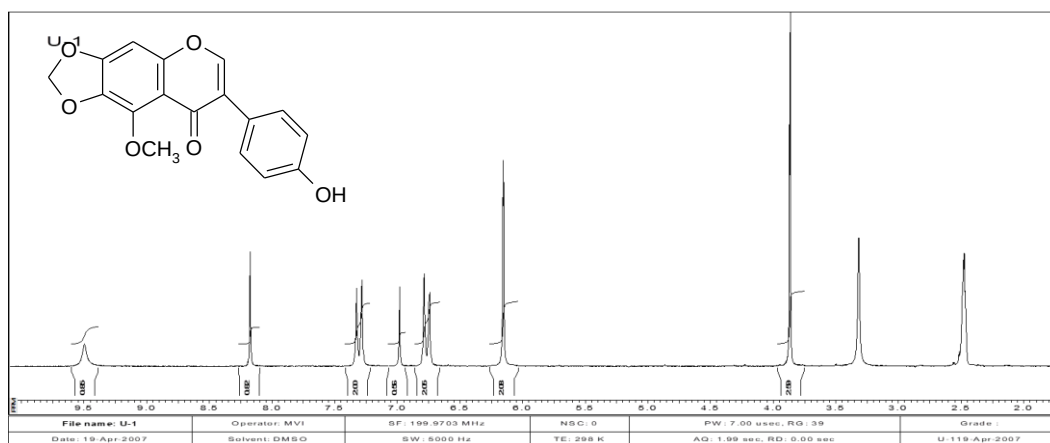


Рис. 3.6 ^1H -ЯМР-спектр речовини **3**

При хроматографічному аналізі методом ТШХ у системі розчинників № 7 речовина **3** мала блакитну флуоресценцію та R_f , що співпадало зі стандартним зразком нігріцину. Таким чином, за даними спектрального та хроматографічного аналізу речовину **3** охарактеризовано як 5-гідрокси-4'-метокси-6,7-метилендіоксиізофлавіон або нігріцин.

Речовина **6** мала вигляд білого аморфного порошку, температура плавлення якого становила 290-292 °С. УФ-спектр розчину речовини **6** у етанолі (96 % об/об) мав характерний пік при 260 нм з плечем при 325 нм. ІЧ-спектр речовини мав смуги поглинання при 3726 cm^{-1} , 3410 cm^{-1} , 3104 cm^{-1} (групи OH), 1651 (зв'язок C=O), 1615, 1569, 1424, 1503 (валентні коливання C=C), 885 cm^{-1} (замісник у кільці «В»). Хроматографічний аналіз у системі розчинників № 7 підтвердив природу речовини **6**, флуоресценція та значення R_f співпало зі стандартним зразком геністеїну. За результатами спектрального та хроматографічного аналізу речовина **6** була охарактеризована як 4',5,7-тригідроксиізофлавіон або геністеїн (рис. 3.7).

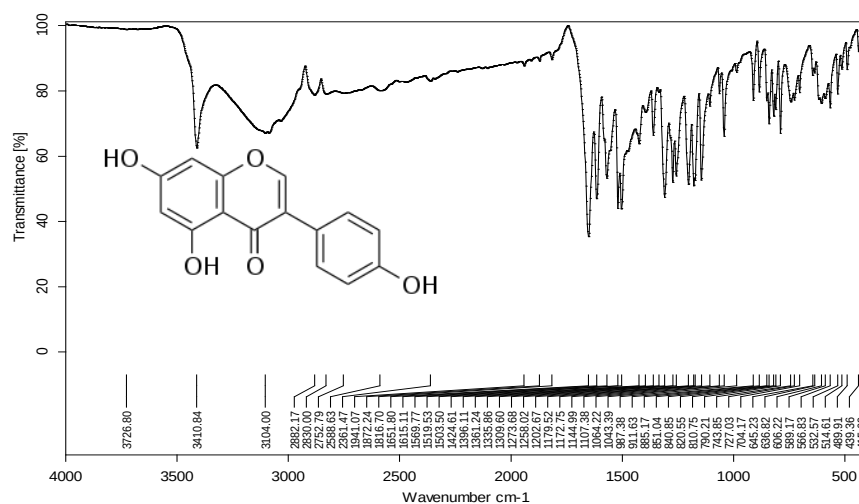


Рис. 3.7 ІЧ-спектр речовини **6**

Речовина **13**. Осад, що утворився у відповідній фракції, мав вигляд смолянистої речовини. Попередній хроматографічний аналіз у системі розчинників № 3 показав наявність трьох плям ($R_f=0,26$; 0,45; 0,63) з коричневою і блакитною флуоресценцією, що свідчило про вміст декількох речовин. Плями елюювали з хроматограми, змивали етанолом (96% об/об) та залишали для кристалізації. У двох елюатах спостерігалось випадіння осаду у вигляді світло-жовтих кристалів. Речовина **13** мала вигляд аморфного порошку, температура плавлення склала 320-322 °С. УФ-спектр розчину речовини **13** у етанолі (96 % об/об) мав піки при 250 нм, плече 260 нм та 300 нм. ІЧ-спектр речовини мав характерні смуги поглинання cm^{-1} : 3666, 3171

($R_f=0,67$), на хроматографічному папері у системі розчинників № 3 – блакитну ($R_f=0,88$) та співпадала зі стандартним зразком даїдзеїну.

За хроматографічною поведінкою і спектральними даними речовину **13** охарактеризували як 4',7-дигідроксиізофлавіон або даїдзеїн.

Речовина **14** мала вигляд дрібних світло-жовтих кристалів, температура плавлення якоїх 260-261 °С. УФ-спектр розчину речовини **14** у етанолі (96 % об/об) мала характерний пік при 250 нм з плечем 300 нм. ІЧ-спектр характеризувався смугами поглинання при см^{-1} : 3200-3100 (фенольні ОН), 2923 (група OCH_3), 1596 (валентні коливання $\text{C}=\text{O}$), 1458, 1373 (зв'язок $\text{C}=\text{C}$), 840 (замісник у кільці «В»). Наявність в ІЧ-спектрі речовини смуг поглинання, відповідні метоксильній групі та заміщенню у бічному фенольному кільці дозволяють припустити, що вона розташована при С-4'.

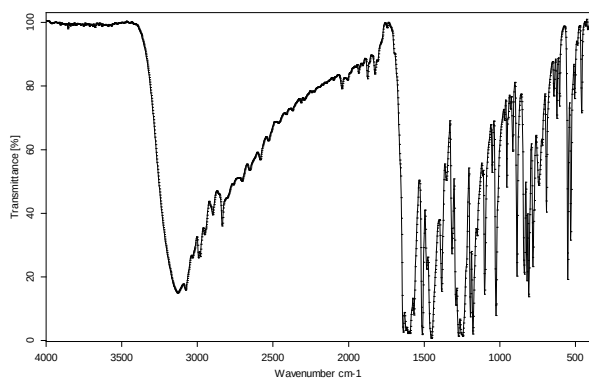


Рис. 3.10 ІЧ-спектр речовини **14**

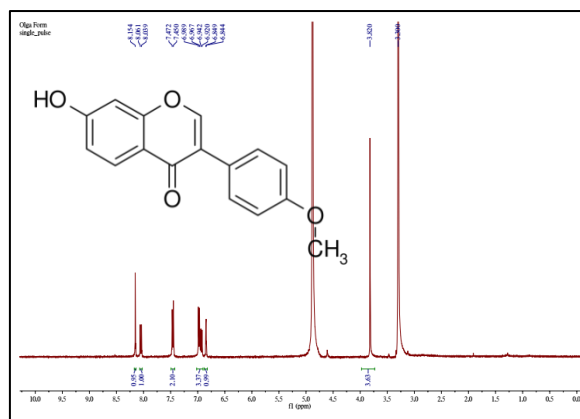


Рис. 3.11 ^1H -ЯМР-спектр речовини **14**

Будова речовини **14** підтверджена даними ^1H -ЯМР-спектру (рис. 3.3.2.6): були виявлені сигнали протонів Н-3 (δ 8,15-8,36 м.ч.), Н-2', Н-6' (д. δ 7,43-7,55 м.ч. J 8,5-9,0 Гц), - Н-3', Н-5' (д. δ 6,94-7,03 м.ч. J 8,5-9,0 Гц), Н-8 (д. δ 6,44-7,23 м.ч. J 2,0 Гц), Н-6 (д. δ 6,32-6,96 м.ч. J_1 2,0-2,5 Гц, J_2 8,0 Гц). Також речовина **14** має синглет метоксильної групи при δ 3,8 м.ч.

На хроматограмі речовина **14** у системі розчинників №5 мала блакитну флуоресценцію та співпадала зі стандартним зразком формонетину. За результатами хроматографічного і спектрального аналізу речовину **15** охарактеризовано як 7-гідрокси-4'-метоксиізофлавіон або формонетин.

Речовини **15**. Речовина **15** – порошок жовтого кольору, розчинний у метанолі, етанолі, хлороформі, $t_{пл} = 273-274$ °С. Мас-спектр речовини **16** характеризується наявністю інтенсивного піку молекулярного іона, m/z : 300 ($C_6H_{11}O_5$) (M^+) та відповідає молекулярній формулі $C_{22}H_{22}O_{11}$ (рис. 3.12).

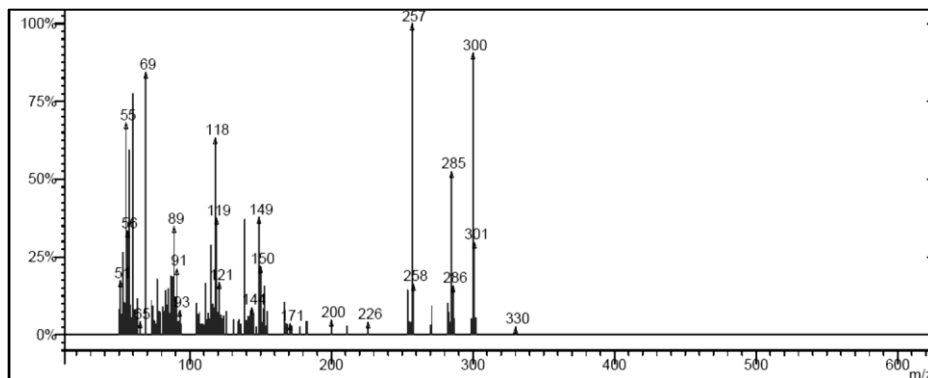


Рис. 3.12 МС- спектр речовини **15**.

Речовина **15** при хроматографічному аналізі у системі № 1 мала темну флуоресценцію (R_f 0,97).

Ізофлавоноїдна природа речовини **15** підтверджена УФ-спектром, де спостерігаються максимуми поглинання при 267 та 332 нм. В ІЧ-спектрі (рис. 3.3.2.11) спостерігаються смуги поглинання при 3473 cm^{-1} (-ОН), 1658 cm^{-1} ($C=O$, γ -пірону), 1612 , 1518 cm^{-1} ($C=C$, ароматичного кільця), 1089 cm^{-1} (-OCH₃) та 812 cm^{-1} (β -глікозидний зв'язок). Порівняння молекулярних обертів речовини **15** з феніл- β -D-глюкопіранозидом, також вказує, що у даній речовині глюкоза відповідає β -D-глюкопіранозі.

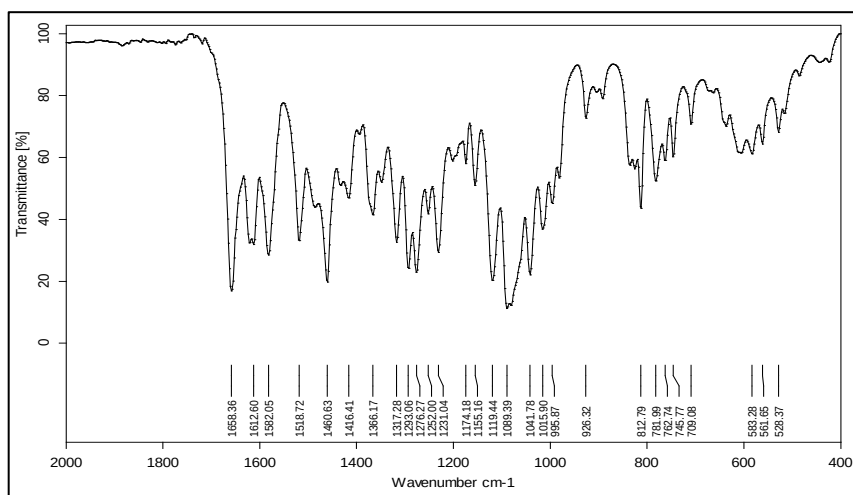


Рис. 3.13 ІЧ-спектр речовини **15**

При проведенні кислотного гідролізу (2 години, 3 % H_2SO_4) речовина **15** розщеплюється на текторигенін і *D*-глюкозу (ПХ, система розчинників № 1). ^1H -ЯМР-спектроскопією встановлена наявність сигналу протону при δ 8,45 м.д. при С-3 ізофлавонового скелета; двох сигналів ароматичних протонів у *p*-заміщеному бензольному кільці при δ 7.38 м.д. (2H, д, $J = 10$ Гц, H-2', 6') і 6,79 м.д. (2H, д, $J = 10$ Гц, H-3', 5'); синглетний сигнал протона при С-8 у кільці «А» при 6.86 м.д. Сигнал при 3.75 м.д. (с, 3H) характеризує наявність однієї метоксильної групи при С-6, а група синглетних сигналів протонів при δ 12.91 м.д. та 9.59 м.д. відповідають двум гідроксильним групам у С-5 та С-4' положеннях. У ^1H -ЯМР-спектрі, на відміну від спектрів аглікона текторигеніна, додатково відмічено наявність групи сигналів, які відповідають наявності 6 протонів, що підтверджує монозидную природу даного глікозиду. Сигнал аномерного протона *D*-глюкози проявляється при 5,41 м.д. у вигляді дуплет з КССВ 7,2 Гц, що характеризує β -глікозидний зв'язок і піранозний окисний цикл вуглецевого скелету (рис. 3.14).

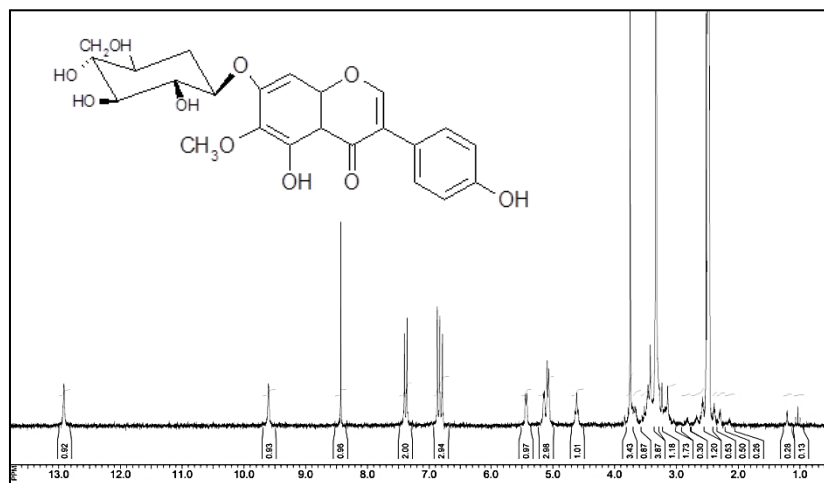


Рис. 3.14 ^1H -ЯМР – спектр речовини **15**

За результатами спектрального та хроматографічного аналізу речовину **15** було охарактеризовано як текторигенін-7-О- β -*D*-глюкопіранозид або текторідин.

Речовина **16** являє собою порошок жовтого кольору, розчинний у метанолі, етанолі, хлороформі, температура плавлення становить 230-231 °С. Молекулярна формула $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$ відповідає мас-спектру, m/z : 300 (M^+) (рис.

3.15). При хроматографічному аналізі ТШХ в системі № 1 (R_f 0,90) речовина **16** проявляється у вигляді плями з темною флуоресценцією, яка посилюється при обробці парами амоніаку.

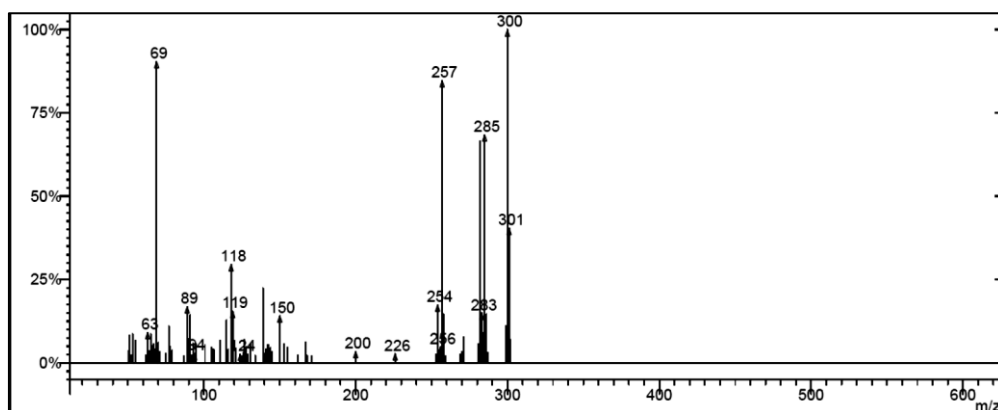
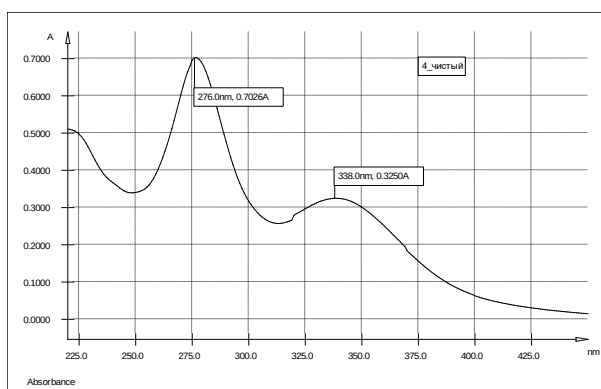
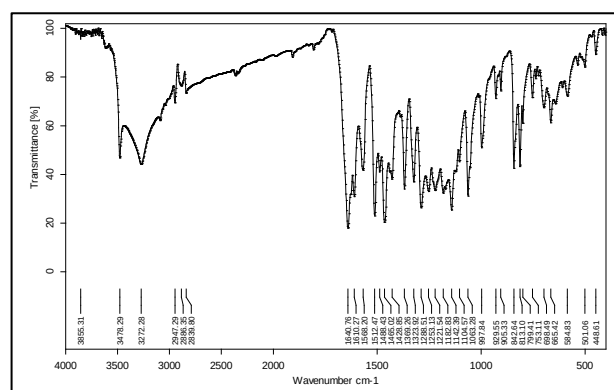


Рис. 3.15 Мас-спектр речовини **16**

В УФ-спектрі речовини **16** відмічено максимуми поглинання при 270 та 335 нм, що характерно для ізофлавоноїдів (рис. 3.16, А). Природа циклу також підтверджена ^1H -ЯМР-спектром, де є сигнал протону при δ 8,25 м.д. при С-2 ізофлавонового скелета. В ІЧ-спектрі відзначено смуги поглинання при 3478 cm^{-1} (замісники-ОН), 1640 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$), 1610 , 1512 cm^{-1} ($\text{C}=\text{C}$), 1063 cm^{-1} ($-\text{OCH}_3$) (рис. 3.16, Б).



А



Б

Рис. 3.16 УФ- (А) та ІЧ- (Б) спектри речовини **16**

В ^1H -ЯМР-спектрі (200 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) речовини **16** відзначаються синглетні сигнали протонів при δ 13,05 м.д., δ 10,75 м.д. і 9,55 м.д., які відповідають трьом гідроксильним групам при С-5, С-7 і С-4', відповідно.

Сигнали ароматичних протонів зареєстровані при δ 7,35 (2H, д, $J=8$ Гц, H-2', 6') і 6,82 (2H, д, $J=7,5$ Гц, H-3', 5'). Сигнал протона C-8 проявляється у вигляді синглету при 6,45 м.д. Сигнал при 3,75 м.д. (с, 3H) характеризує наявність метоксильної групи при C-6 ізофлавонового скелета. ЯМР спектр не суперечить наведеній структурі речовини **16** (рис. 3.17).

На підставі спектрального аналізу, а також даних літератури, будова речовини **16** охарактеризована як 5,7,4'-тригідрокси-6-метоксиізофлавлон або текторигенін.

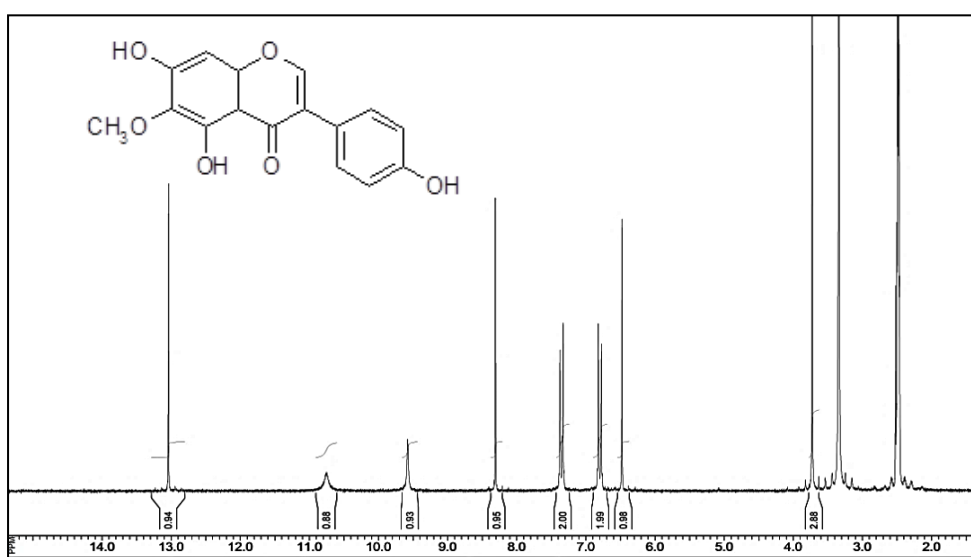


Рис. 3.17 ^1H -ЯМР-спектр текторигеніну **16**

3.3.3 Ксантони

Осад, що випав у бутанольній фракції, відфільтровували, промивали етанолом (96 % об/об), сушили, збирали у контейнер. Попередній хроматографічний аналіз у системі розчинників №1 та №8 показав наявність зон з жовтою флуоресценцією, яка переходила у помаранчеву після обробки парами аміаку. Структуру речовин встановлювали вищезазначеними методами.

Речовина **17**. Осад, що утворився у бутанольній фракції, мав вигляд світло-жовтого дрібнокристалічного порошку, розчинного у метанолі, спирті,

лугах і нерозчинного у воді, етері, хлороформі. Температура плавлення речовини **17** склала 267-269 °С. При хроматографуванні на папері (система розчинників № 1) в УФ-світлі речовина має темно-жовте забарвлення (R_f 0,55), яке при обробці парами амоніаку переходить у помаранчеве, що характерно для дибензо- γ -піронів; після обробки 2 % розчином алюмінію хлориду зона набуває зеленого забарвлення, що підтверджує ксантонову природу речовини.

УФ-спектр речовини **17** (369, 318, 259 та 241 нм) (рис. 3.18, А) є типовим для похідних ксантонів. Батохромні зсуви в УФ-області в присутності натрію ацетату вказують на вільну гідроксильну групу при С-3; під дією натрію ацетату та розчину 3 % борної кислоти відбувається батохромія, яка характерна для ортодіоксигрупи у кільці «В».

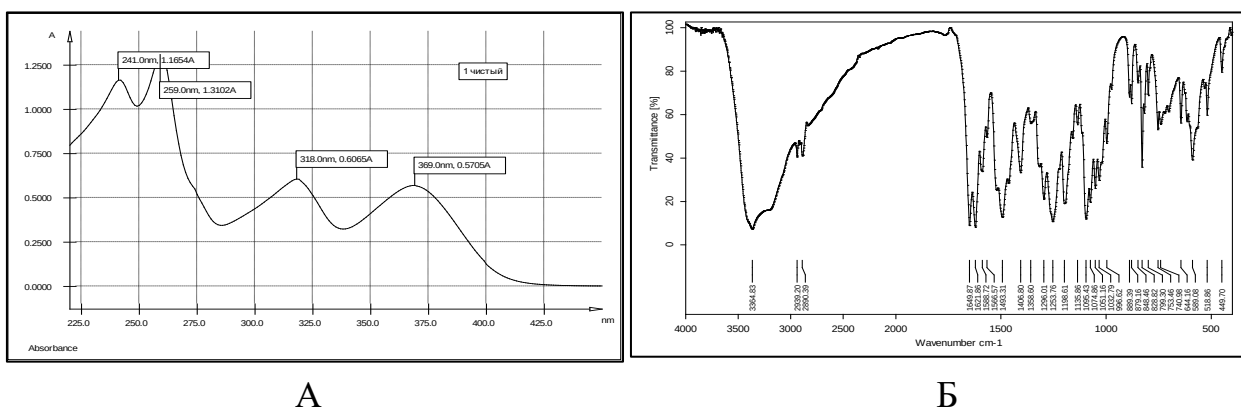


Рис. 3.18 УФ- (А) та ІЧ- (Б) спектри речовини **17**

У ІЧ-спектрі сполуки є смуга поглинання в області 1650 см^{-1} , характерна для карбонільної групи (рис. 3.18, Б). Смути поглинання у $3100\text{--}3700\text{ см}^{-1}$, характерні для гідроксигруп ароматичного кільця, смуги 1591 , 1565 , 1494 см^{-1} ($\text{C}=\text{C}$ ароматичного зв'язку).

Величина КССВ сигналу аномерного протону ($J=9,5\text{ Гц}$) та стійкість речовини до кислотного гідролізу свідчать про те, що речовина **17** є ксантон-С-глікозидом. Аналіз ^1H -ЯМР-спектру речовини **17** показав, що D-глюкоза приєднана до ксантону по другому положенню: синглети при δ , 6,83 м.ч. (с, 1H) і 7,38 м.ч. (с, 1H) зумовлені протонами при п'ятому і восьмому

вуглецевих атомах ксантонового ядра. Синглет у 6,35 м.д. (с, 1H) зумовлений протоном при С-4. Також визначено чотири протони гідроксильних груп (δ 13,77; 10,65; 9,85 м.ч.) (рис. 3.19).

На основі проведених даних, а також у порівнянні з літературними даними, структуру речовини **17** ідентифіковано, як 2-(С- β -D-глюкопіранозил)-1,3,6,7-тетрагідроксиксантон, або мангіферин.

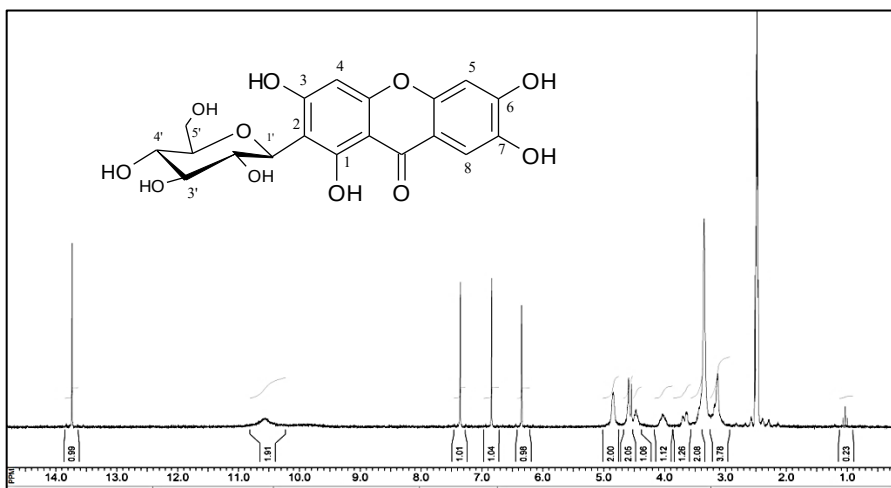


Рис. 3.19 ^1H -ЯМР-спектр речовини **17**

Речовина **18** мала вигляд світло-жовтого порошку. Дані УФ- та ІЧ-спектроскопії були ідентичні речовині **17**. При хроматографічному аналізі (ПХ, система розчинників № 1) речовина мала інше значення R_f (0,46), що співпадало зі стандартним зразком ізомангіферину. За результатами проведеного аналізу речовину **18** охарактеризували як 4-(С- β -D-глюкопіранозил)-1,3,6,7-тетрагідроксиксантон або ізомангіферин.

3.3.4 Гідроксикоричні кислоти

Смолянистий осад, що утворився у відповідних об'єднаних фракціях, хроматографували. Зони на хроматограмі у системі розчинників БУВ мали різну флуоресценцію: жовту, блакитну, фіолетову, блакитно-зелену. Попередньо сполуки були віднесені до похідних гідроксикоричних кислот. Зони вирізали з хроматограм, елюювали етанолом (96 % об/об), залишали для

кристалізації. Осад у вигляді кристалів випав у чотирьох елюатах. Структуру речовин встановлювали спектральним та хроматографічним методами.

Речовина **4** мала вигляд дрібних жовтих кристалів з температурою плавлення 194–195 °С. УФ-спектр розчину речовини **4** у етанолі (96 % об/об) характеризувався максимумами поглинання при 203 та 325 нм. ІЧ-спектр мав характерні смуги поглинання при см^{-1} : 3400, 3235, 2975 (замісники -ОН), 1647, 1630 (група C=O), 1607, 1540 (ароматична будова), 880, 860 (замісник у бензольному кільці). У системі розчинників № 2 речовина **6** мала характерну флуоресценцію та R_f (0.32), що співпадало зі стандартним зразком кавової кислоти. Речовина **4** була охарактеризована як 3,4-діоксикорична або кавова кислота.

Речовина **5** мала вигляд майже білих кристалів, температура плавлення яких склала 168-170 °С. УФ-спектр речовини **5** мав пік при 320 нм. ІЧ-спектр характеризувався смугами поглинання при см^{-1} : 3450 (карбоксильна група), 1690 (зв'язок C=O), 1275, 1510 (зв'язок CO) 1605 (зв'язок C=C у ароматичному компоненті). У системі розчинників 2 % оцтова кислота речовина **5** мала характерну фіолетову флуоресценцію та R_f (0,43), що співпадало зі стандартним зразком ферулової кислоти. Речовина **5** була охарактеризована як 3-метокси-4-гідроксикорична або ферулова кислота.

Речовина **9**. Речовина **9** являє собою майже безбарвні кристали з температурою плавлення 203-205 °С. УФ-спектр розчину речовини **9** у етанолі (96 % об/об) мав максимуми поглинання при 325 нм. ІЧ-спектр мав характерні області поглинання при см^{-1} : 2970, 2900, 2780 (ОН-замісники), 1740–1710 (естерний зв'язок), 1660, 1625 (C=O), 1605–1550 (ароматична структура), 840 (заміщення у бензольному кільці). На хроматограмі після проходження у системі розчинників № 2 речовина **9** мала характерну зелено-блакитну флуоресценцію та R_f (0,66), що співпадало зі стандартним зразком хлорогенової кислоти. Речовина **9** була охарактеризована як 5-кофеїлхінна або хлорогенова кислота.

Речовина **10** мала схожі значення спектрального аналізу, що і речовина **9**, хроматографічна поведінка мала відмінності – у системі розчинників № 2 речовина мала R_f 0,70 і була ідентична стандартному зразку неохлорогенової кислоти. Речовину **10** охарактеризовано як 3-кофеїлхіну або неохлорогенову кислоту. Структурні формули наведені на рисунку 3.20.

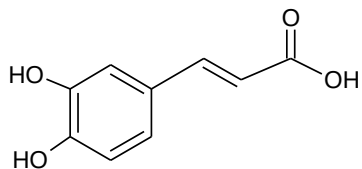
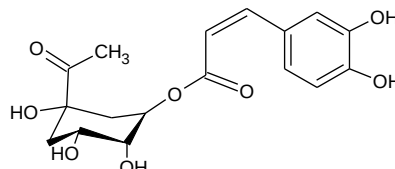
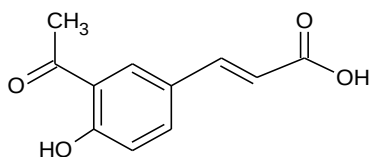
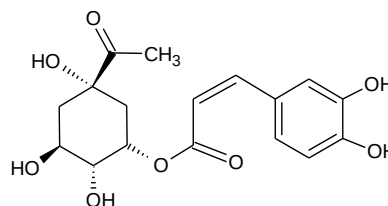
Речовина **4** (кавова кислота)Речовина **9** (хлорогенова кислота)Речовина **5** (ферулова кислота)Речовина **10** (неохлорогенова кислота)

Рис. 3.20 Структурні формули похідних гідроксикоричної кислоти, виділених з кореневищ півників угорських

Таким чином, вперше з кореневищ півників угорських виділено індивідуальні речовини та встановлена їх структура.

3.4 Розробка способу виділення мангіферину з листя півників угорських

Було розроблено новий спосіб виділення ксантонового глікозиду мангіферину з листя півників угорських, що ґрунтується на поетапному очищенні рослинної сировини, а саме екстракції з використанням хлороформу, води з додаванням оцтової кислоти (рН 5,0-5,5), етанолу (70 % об/об), сірчаної кислоти, бутанолу. Вибір екстрагентів на певних етапах виділення мангіферину було здійснено експериментальним шляхом, враховуючи властивості сполуки, його розчинність, вихід цільового

продукту, а також вартість та безпечність екстрагентів. У способі використовуються спирт етиловий, вода, хлороформ, бутанол, етилацетат.

На першому етапі сировину (листя півників угорських) піддавали екстракції методом мацерації хлороформом для вилучення ліпофільних речовин. Після чого сировину висушували на повітрі до повного видалення розчинника. На другому етапі екстракцію проводили тим самим методом з використанням води очищеної з додаванням оцтової кислоти до рН 5,0-5,5. Таким чином, солі, утворені мангіферином і лужними металами, а також амінокислотами, руйнувались, тим самим забезпечуючи локалізацію мангіферину у сировині. Третій етап включав екстракцію етанолом (70 % об/об) у співвідношенні 1:5. Загальний час екстракції становив 2 години, що є достатнім для максимального вилучення біологічно активних речовин ксантонової природи.

Одержаний екстракт фільтрували через воронку Бюхнера та упарювали на роторному випарювачі до мінімальної кількості. З метою видалення з екстракту сполук з О-глікозидним зв'язком, проводили гідроліз 5% сірчаною кислотою впродовж 5 годин. Гідролізат відділяли етилацетатом за допомогою ділильної лійки. Таким чином, водний залишок є ретельно очищеним і містить максимальну кількість мангіферину. У ділильній лійці проводили рідинно-рідинну екстракцію бутанолом для вилучення мангіферину, водний залишок відкидали. Бутанольну фракцію упарювали під вакуумом до повного вилучення розчинника, розчиняли у мінімальній кількості етанолу (96 % об/об) і переносили у колбу. Через 48-72 години на стінках з'являлися голчасті кристали мангіферину світло-жовтого кольору. Вміст колби фільтрували крізь скляний фільтр, промивали етиловим спиртом (96 % об/об), збирали у контейнер. Вихід цільового продукту склав 1,05 % (схема 3.1).

Температура плавлення виділеної речовини становила 271 °С, добре розчина у ДМСО, воді та метанолі. Крім того, дало позитивну реакцію на фенольні гідроксильні групи зеленуватого кольору до 3 % FeCl_3 . Масовий

спектр отриманої речовини показав псевдомолекулярний пік при m/z 423 (M^+), що відповідає молекулярній формулі $C_{19}H_{18}O_{11}$ та втрату 120 атомних масових одиниць у випадку MS^2 , поведінку фрагментації, характерну для С-глікозидів. Були виявлені інші пікові піки при m/z 405, 369, 357, 327, 303 та 273. Константа спин-спінової взаємодії аномерного протона (J 9,5 Гц) (ПМР спектр отриманої речовини співпав зі спектром речовини 18, рис. 3.18, виділеної колонковою хроматографією з кореневищ півників угорських) та стійкість речовини до кислотного гідролізу вказують на те, що це похідні ксантони 3-С-глікозиди. Дані хімічного аналізу підтвердили, що отримана речовина – це 1,3,6,7-тетрагідроксиксантону С-2- β -D-глюкозид або мангіферин [144].

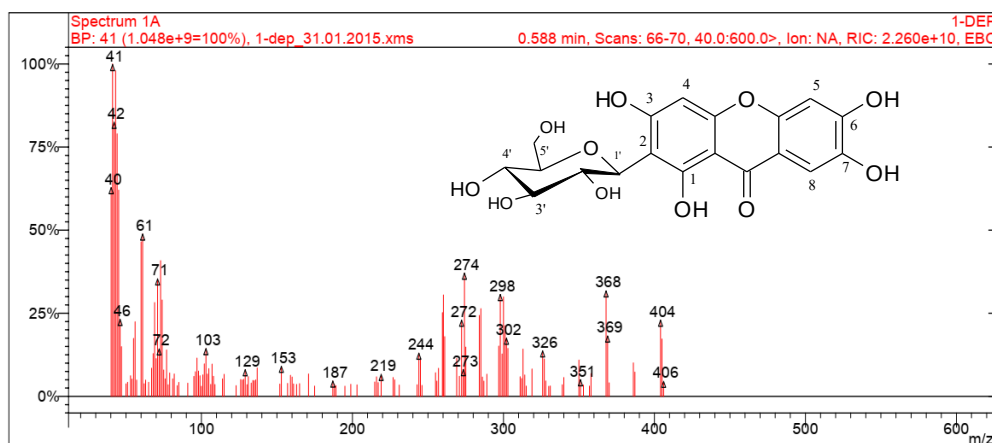


Рис. 3.21 Мас-спектр мангіферину

Фізико-хімічні характеристики: мангіферин – світло-жовтий дрібнокристалічний порошок, розчинний в метанолі, етанолі, лугах і нерозчинний у воді, ефірі, хлороформі. Хімічна будова – $C_{19}H_{18}O_{11}$, m/z : 423 (M^+); $t_{пл}$. 267-269 °C, УФ λ_{max} (C_2H_5OH) нм: 364, 315, 257, 240; ІЧ (KBr) cm^{-1} : 1650 (C=O), 3100-37000 (OH), 1591, 1565, 1494 (C=C); ЯМР 1H (200 МГц, $DMCO-D_6$) δ : 6.35 (1H, H-4), 6.83 (1H, s, H-5), 7.38 (1H, c, H-8) 13.77, 10.65, 9.85 (1H, c, OH).

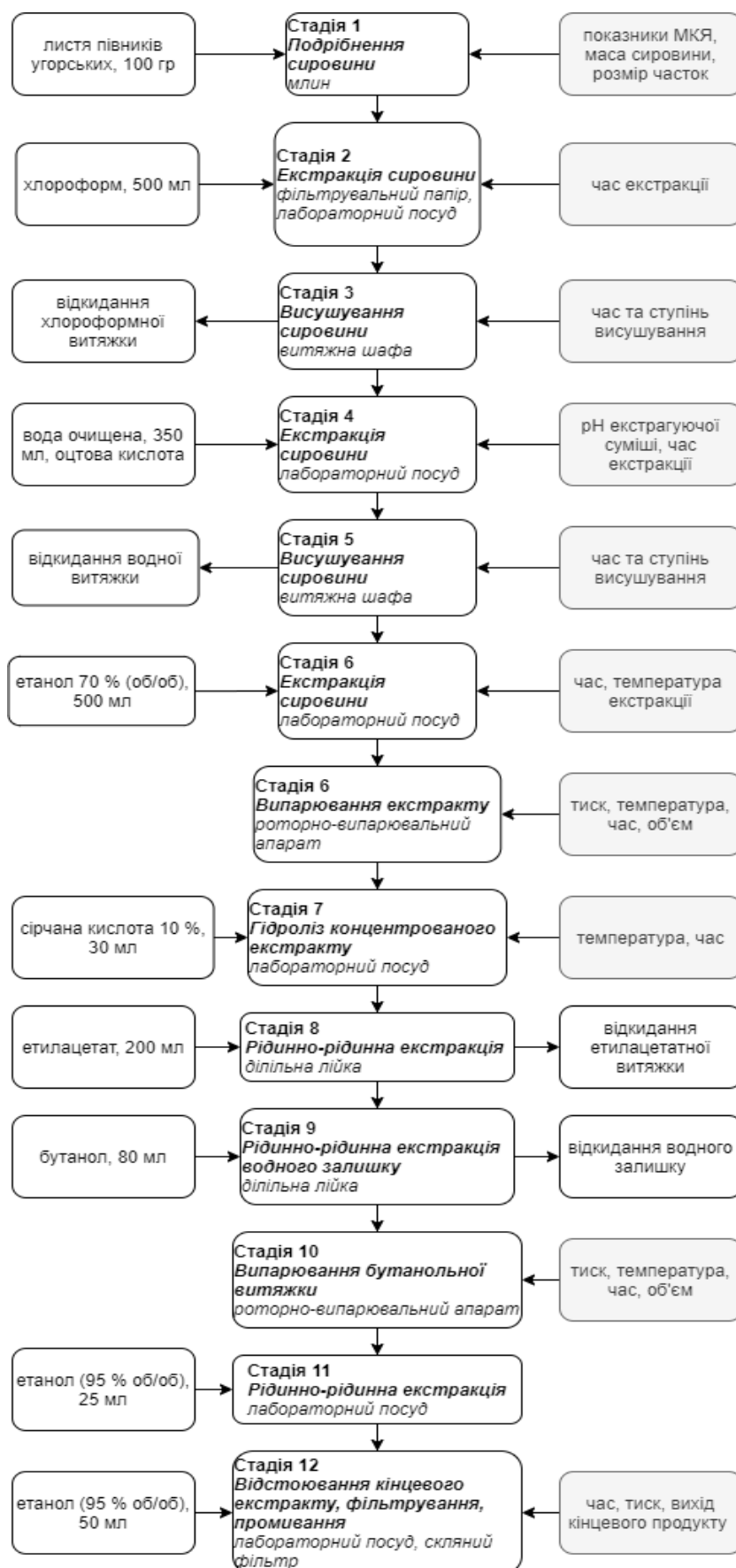


Схема 3.2 Виділення мангіферину з листя півників угорських

Висновки до розділу 3

1. Вперше з кореневищ півників угорських методом колонкової хроматографії було виділено 18 речовин. Серед виділених речовин флавоноїди (кверцетин, апігенін, ембінін, гіперозид), ізофлавоноїди (геністеїн, даїдзеїн, формононетин, текторидін, текторигенін, іригенін, ононін, нігрицин), ксантони (мангіферин, ізомангіферин), оксикоричні кислоти (хлорогенова, неохлорогенова, кавова, ферулова). Структуру речовин встановлювали фізико-хімічними методами аналізу.
2. Розроблений новий спосіб одержання мангіферину з листя півників угорських, який включає в себе поетапне очищення сировини різними розчинниками та виділення ксантонового глікозиду екстракцією *n*-бутанолом. Вихід цільового продукту склав 1,05 %.
3. На спосіб одержання мангіферину з листя півників угорських подані заявки на винахід а 2019 10508 та корисну модель у 2019 10516.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Mykhailenko O., Kovalyov V., Kovalyov S., Krechun A. Isoflavonoids from the rhizomes of *Iris hungarica* and antibacterial activity of the dry rhizomes extract. *Ars Pharmaceutica*. 2017. Vol. 58. № 1. P. 39–45 (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці даних).
2. Mykhailenko O. O., Kovalyov V. M., Kovalyov S. V., Krechun A. V. Biologically active compounds from the rhizomes of *Iris hungarica*. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2016. Т. 14, № 4 (56). С. 63–66 (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці даних).

РОЗДІЛ 4

РОЗРОБКА МКЯ, ТЕХНОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ОДЕРЖАННЯ СУБСТАНЦІЙ ТА ВСТАНОВЛЕННЯ ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ

4.1 Розробка методик контролю якості сировини півників угорських

З метою забезпечення якості готової продукції необхідно використовувати якісну рослинну сировину, яка відповідає певним показникам. Організація контролю якості включає процес одержання інформації щодо об'єкту дослідження – лікарської рослинної сировини, щоб визначити параметри, які мають знаходитися у заданих межах. Визначення показників якості проводиться на підставі попередніх досліджень якісного та кількісного вмісту БАР, технологічних параметрів, тощо [145, 146].

На підставі фітохімічного дослідження листя та кореневищ півників угорських були розроблені методи контролю якості сировини. Для стандартизації сировини півників угорських запропоновані такі розділи, як «Ідентифікація» (макро- та мікроскопічний аналіз, ТШХ), «Випробування» (втрата в масі при висушуванні, загальна зола), та «Кількісне визначення». Для сухих екстрактів з листя та кореневищ півників угорських – розділ «Ідентифікація» (ТШХ), «Випробування» (втрата в масі при висушуванні, загальна зола), «Кількісне визначення». Для розділу «Ідентифікація» використовували метод тонкошарової хроматографії, для якого попередньо адаптовували умови хроматографування. Підбір системи розчинників проводили, зважаючи на результати попереднього фітохімічного дослідження з використанням відповідних екстрактів. Найбільш ефективними виявились рухомі фази з системою розчинників толуол-етилацетат-циклогексан-мурашина кислота (24:6:3:0,9), толуол-етилацетат - мурашина кислота (16:6:3), етилацетат-метанол-мурашина кислота-вода (50:2:6:3), оцтова кислота – мурашина кислота безводна – вода – етилацетат

(11:11:27:100), бутанол-оцтова кислота (95:5), які використовували для розробки методик контролю якості сировини і сухих екстрактів півників угорських.

4.1.1 Встановлення морфолого-анатомічних ознак листя та кореневищ півників угорських

Для лікарської рослинної сировини, на яку розробляють методики контролю якості, необхідно встановити діагностичні ознаки – провести макро- та мікроскопічний аналіз з метою забезпечення чистоти сировини та відсутності сторонніх домішок.

4.1.1.1 Макроскопічні ознаки

Для визначення макроскопічних ознак листя та кореневища півників угорських використовували суху сировину, досліджували її зовнішній вигляд, встановлювали розмір частин, проводили органолептичний аналіз. Фрагментоване листя півників угорських має розмір 4-5 см завдовжки, 3-4 см завширшки. Поверхня листка гладка, плоска, з видимим паралельним жилкуванням. На зламі видні жилки світло – зеленого кольору, запах ароматний. Фрагменти кореневища мають вигляд шматочків 2-5 см завдовжки та 2-4 см в діаметрі. На поверхні наявні рубці від стебел та корінці. Поверхня темно-коричнева, на зламі – світло-жовта, коричнево-жовта. Текстура тверда, злам щільний.

4.1.1.2 Мікроскопічні ознаки

Мікроскопічні ознаки листя та кореневищ півників угорських встановлювали у консервованій сировині (суміш етанол-гліцерин-вода дистильована 1:1:1). Зрізи досліджуваних об'єктів переглядали під мікроскопом, фіксуючи основні морфологічні ознаки [147].

Листя півників угорських. Листова пластинка ізолатеральної будови. Епідерма однорядна, вкрита кутикулою, з рівномірно потовщеними оболонками клітин, на яких зустрічаються сосочкоподібні вирости. Клітини верхньої та нижньої поверхні прозенхімні, прямокутні, орієнтовані уздовж вісі листка. Мезофіл гомогенний, листок має добре розвинену систему судинно-волокнистих пучків. Крупні пучки мають добре розвинену склеренхіму, що розташовується над флоемою у вигляді дуги. Продиховий апарат тетрацитного типу. Провідні пучки колатеральні закриті. Під епідермою краю листової пластинки розташована 4-5 шарова кутова коленхіма. Центральна частина листової пластинки має добре розвинену аеренхіму з дрібними тонкостінними клітинами та великими повітряними порожнинами.

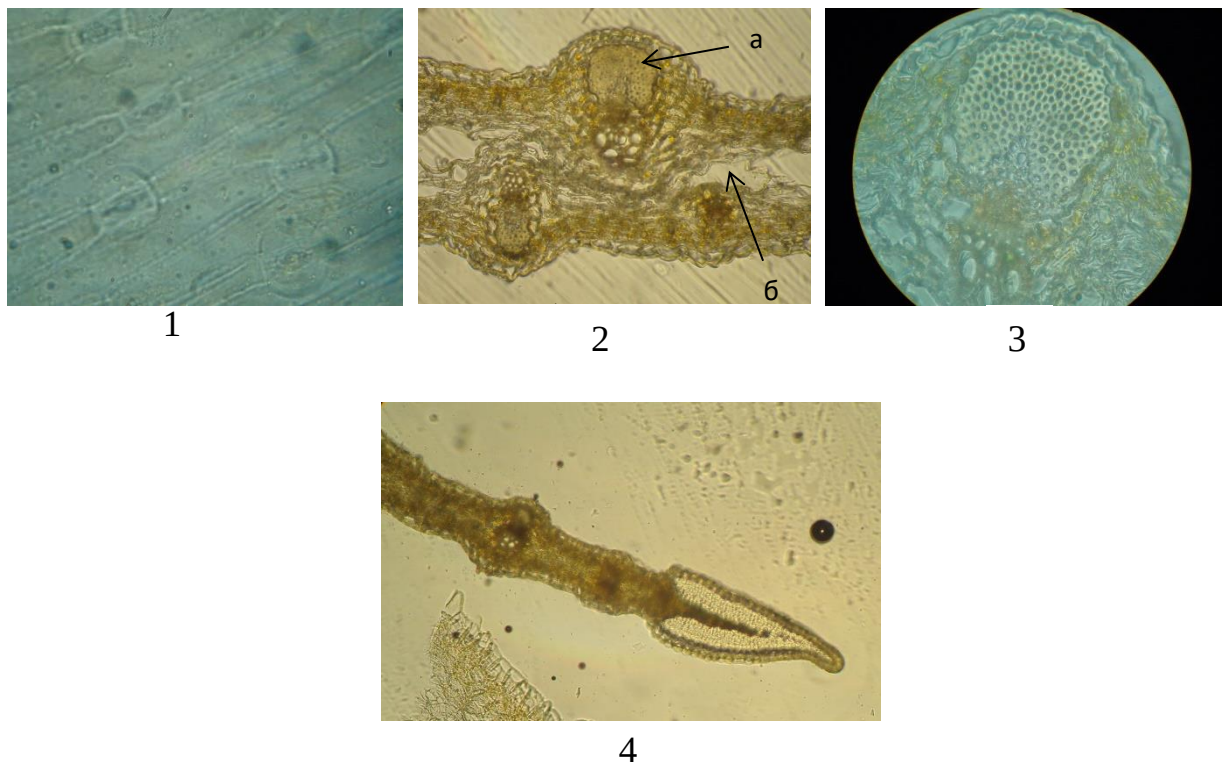


Рис. 4.1 Мікроскопічні ознаки листя півників угорських: 1 – тетрацитний продиховий апарат; 2 – поперечний зріз листової пластинки (а – провідний пучок, б – аеренхіма); 3 – колатеральний провідний пучок; 4 – сосочковидний виріст.

Кореневище півників угорських. Кореневище вкрито одношаровою епідермою, верхні шари первинної кори опробковілі. По мірі старіння кореневища опробковілий шар товстішає. Клітини таблитчасті, прямокутні, розташовані рядами. Клітини корової паренхіми і центрального циліндру заповнені крохмалем. Зустрічаються стилоїди і призматичні кристали. Кореневище має пучкову будову. Центрофлоемні судинно-волокнисті пучки розташовані хаотично. Центральний циліндр складається з паренхімної запасуючої тканини. На межі між первинною корою та центральним циліндром – ряд судинно-волокнистих пучків.

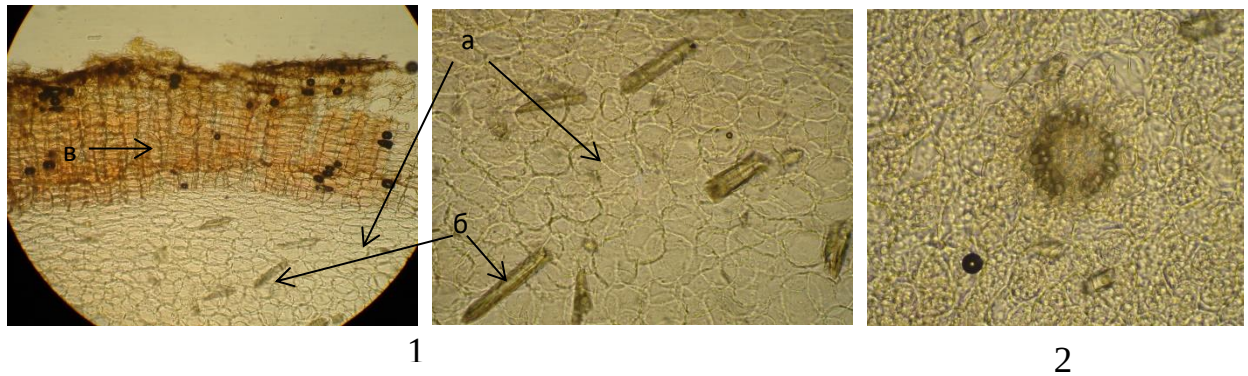


Рис. 4.2 Мікроскопічні ознаки кореневищ півників угорських: 1 – поперечний зріз кореневища (а – запасуюча паренхіма, б – стилоїди, в – первинна кора); 2 – центрофлоемний провідний пучок

Корінь кореневища півників угорських. Корінь вкритий епіблемою, має добре виражену первинну кору та центральний циліндр. Екзодерма має 4 ряди багатокутних клітин зі слабкотовщеними оболонками. Мезодерма первинної кори має клітини округлої форми з міжклітинниками. Ендодерма складається з ряду клітин з U-подібними потовщеннями, також присутні пропускні клітини без потовщень. Під ендодермою наявний періцикл. Провідні пучки – радіальні поліархні. В центрі добре виражені судини ксилеми, флоема розвинена слабо. Судини оточені склеренхімою, стінки клітин слабкотовщені.

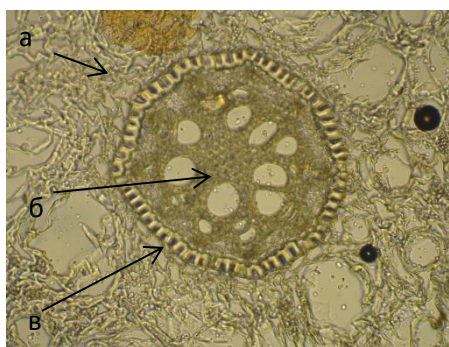


Рис. 4.3 Мікроскопічні ознаки кореня півників угорських: фрагмент поперечного зрізу кореня (а – мезодерма; б – радіальний поліархний провідний пучок; в – U-подібні потовщення клітин ендодерми)

4.2 Методики контролю якості листя та кореневища півників угорських

4.2.1 Півників угорських листя

Folia Iris hungarica

Onuc. Ціле або фрагментоване листя півників угорських (*Iris hungarica* Waldst et Kit.), зібране навесні до початку цвітіння.

Вміст: не менше 1,0 % мангіферину ($C_{19}H_{18}O_{11}$, М.м. 422,33) у перерахунку на суху речовину.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Листя лінійно – мечеподібне, близько 45 см завдовжки, 3-4 см завширшки, на кінцях звужене в гострокінцеве. Листя тонке, гладке, світло-зелене, сизе, з добре вираженими паралельним жилкуванням.

В. Мікроскопічне дослідження. Порошок світло-зеленого кольору переглядають під мікроскопом, використовуючи розчин хлоральгідрату Р. У порошку виявляють такі діагностичні структури: листова пластинка ізолатеральної будови. Епідерма однорядна, вкрита кутикулою, з рівномірно потовщеними оболонками клітин, на яких зустрічаються сосочковидні вирости. Продиховий апарат тетрацитного типу. Під епідермою краю листової пластинки розташована 4-5 шарова кутикова колонхима. Центральна

частина листової пластинки має добре розвинуту аеренхіму з дрібними тонкостінними клітинами.

С. Переглядають хроматограми

Послідовність зон на хроматограмі випробуваного розчину і розчину порівняння мають відповідати зонам, наведеним нижче.

Верхня частина пластинки	
мангіферин: флуоресціююча зона	блакитна блакитна флуоресціююча зона (мангіферин) жовтувато-коричнева флуоресціююча зона блакитна флуоресціююча зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

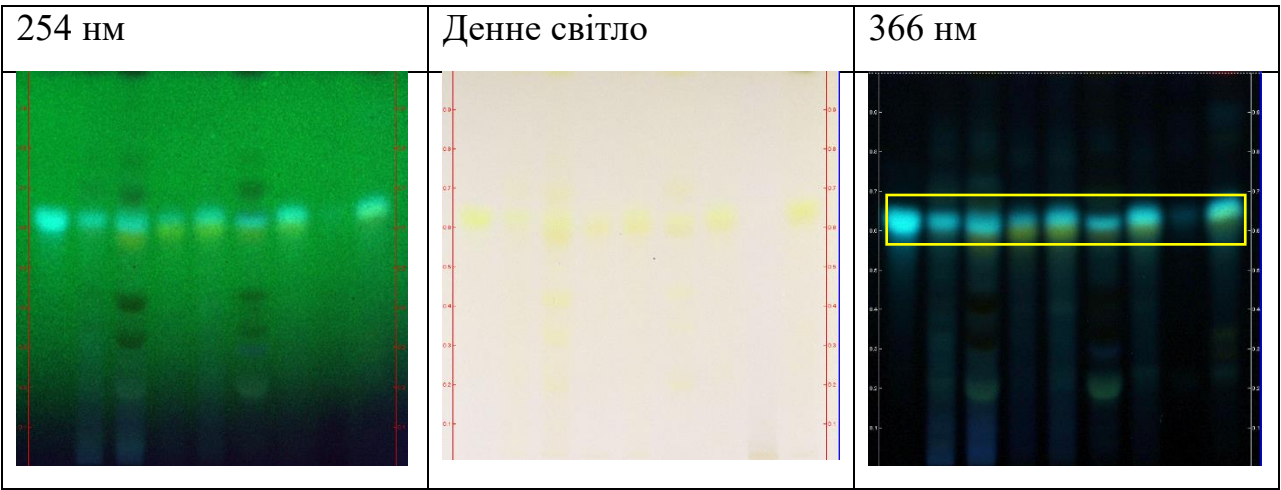


Рис. 4.4 Тонкошарова хроматограма метанольних екстрактів листя півників угорських

ВИПРОБУВАННЯ

2,0 г здрібноної на порошок сировини півників екстрагують 10 мл метанолу *P* на УЗ-бані протягом 30 хвилин.

Розчин порівняння: 10 мг мангіферину 10 мл метанолу *P*.

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

Пластика: ТШХ – пластика із шаром силікагелю F_{254} *P* розміром 10×10 см

Нанесення: 4 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння, смугами по 6 мм.

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

Висушування: на повітрі.

Виявлення: обприскують розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру *P* у метанолі *P*, потім обприскують розчином 50 г/л макроголу 400 *P* у метанолі *P*, висушують на повітрі протягом 30 хв. Переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати. на хроматограмі випробованого розчину можуть проявлятися світло – коричнева та блакитна флуоресціюючі зони нижче зони, відповідно мангіферину на хроматограмі розчину порівняння.

Втрата в масі при висушуванні. Не більше 12 %. 1,0000 г здрібноної на порошок сировини сушать при температурі 105 °С впродовж 2 годин.

Загальна зола. Не більше 10 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Вихідний розчин. 2,5 г подрібноної на порошок сировини поміщають у колбу місткістю 250 мл, додають 25 мл етанолу (80 % об/об), нагрівають на водяній бані впродовж 2 годин. Після екстракції колбу з вмістом охолоджують, зважують, компенсують втрату розчинника. Розчин фільтрують крізь паперовий складчастий фільтр. Фільтрат переносять у ділільну воронку та обробляють хлороформом тричі по 10 мл. Розчин

переносять у мірну колбу місткістю 50 мл та доводять до мітки етанолом (80 % об/об).

Випробуваний розчин. 1 мл вихідного розчину переносять у колбу місткістю 25 мл, доводять об'єм розчину до мітки етанолом (80 % об/об). Оптичну густину вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 369 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Компенсаційний розчин – етанол (80 % об/об). Розрахунок суми ксантонів у перерахунку на мангіферин проводять за формулою:

$$X = \frac{A \times 50 \times 25 \times 100}{E_{1\text{cm}}^{1\%} \times m \times 1 \times (100 - W)}$$

де:

A – оптична густина випробуваного розчину;

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ – питомий показник поглинання мангіферину (295);

l – об'єм піпетки (мл);

m – маса наважки;

W – вологість сировини.

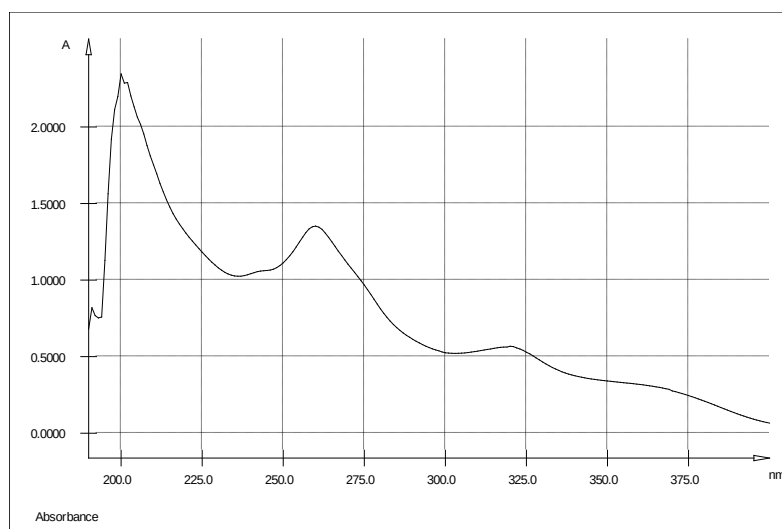


Рис. 4.5 УФ-спектр випробуваного розчину листя півників угорських

4.2.2 Півників угорських кореневища

Rhizomata Iris hungarica

Ціле або фрагментоване кореневище півників угорських (*Iris hungarica* Waldst et Kit.), зібране навесні до початку цвітіння або восени після відмирання надземної частини.

Вміст: не менше 1,0 % ононіну ($C_{22}H_{22}O_9$, М.м. 430,4) у перерахунку на суху речовину.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Ціле кореневище гладке, вузлувате, округле, 4-10 см завдовжки та 2-4 см в діаметрі, розгалужене. На поверхні наявні залишки листя, знизу кореневище має відростки чисельних тонких корінців 1-3 мм в діаметрі. Фрагменти кореневища мають вигляд шматочків 2-5 см завдовжки та 2-4 см в діаметрі. На поверхні наявні рубці від стебел та корінців. Поверхня темно-коричнева, на зламі – світло-жовта, коричнево-жовта. Текстура тверда, лам щільний.

В. Мікроскопічне дослідження. Порошок темно-коричневого кольору переглядають під мікроскопом, використовуючи *розчин хлоральгідрату Р*. У порошку виявляються такі діагностичні структури: верхні шари первинної кори опробковілі, клітини корової паренхіми і центрального циліндру заповнені крохмалюм. Зустрічаються стилоїди і призматичні кристали.

С. Переглядають хроматограми

Послідовність зон на хроматограмі випробуваного розчину і розчину порівняння мають відповідати зонам, наведеним нижче.

А.

Верхня частина пластинки			
ононін: темно-коричнева флуоресціююча зона		темно-коричнева зона	флуоресціююча зона
		темно-коричнева зона (ононін)	флуоресціююча зона

Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

В.

Верхня частина пластинки	
нігрицин: флуоресціююча зона	темно-коричнева флуоресціююча зона блакитна флуоресціююча зона (нігрицин)
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

ВИПРОБУВАННЯ

2,0 г здрібненої на порошок сировини ірису екстрагують 20 мл *етанолу Р* (70 % об/об) на водяній бані протягом 1 години. Після охолодження екстракт фільтрують.

А. Розчин порівняння: 10 мг ононіну у 10 мл *етанолу Р*.

Рухома фаза: : оцтова кислота льодяна *Р* – бутанол *Р* (5:95).

Пластинка: ТШХ – пластинка із шаром силікагелю F_{254} P розміром 5×10 см

Нанесення: 4 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння, смугами по 6 мм

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

Висушування: на повітрі.

Виявлення: переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм.

Б. Розчин порівняння: 10 мг нігрицину у 10 мл етанолу P .

Рухома фаза: толуол P – етилацетат P – мурашина кислота P – (5:4:1).

Пластинка: ТШХ – пластинка із шаром силікагелю F_{254} P розміром 5×10 см

Нанесення: 4 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння, смугами по 6 мм

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

Висушування: на повітрі.

Виявлення: переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм.

Результати

А. на хроматограмі випробованого розчину можуть проявлятися одна темно – коричнева флуоресціююча зона вище зони, відповідно ононіну на хроматограмі розчину порівняння.

В. на хроматограмі випробованого розчину можуть проявлятися одна темно – коричнева флуоресціююча зона вище зони, відповідно нігрицину на хроматограмі розчину порівняння.

Втрата в масі при висушуванні. Не більше 12 %. 1,0000 г здрібненої на порошок сировини сушать при температурі 105 °С впродовж 2 годин.

Загальна зола. Не більше 10 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

А. Спектрофотометрія.

Вихідний розчин. 2,0 г подрібненої на порошок сировини поміщають у колбу місткістю 100 мл, додають 40 мл етилового спирту (70 % об/об), нагрівають на водяній бані впродовж 1 години. Після екстракції колбу з вмістом охолоджують, зважують, компенсують втрату розчинника. Розчин фільтрують крізь паперовий складчастий фільтр.

Випробуваний розчин. 0,5 мл вихідного розчину переносять у мірну колбу місткістю 50 мл, об'єм розчину доводять до мітки етанолом (70% об/об). Компенсаційний розчин – етанол (70 % об/об). Оптичну густину вимірюють при довжині хвилі 260 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Кількісний вміст суми ізофлавоноїдів у перерахунку на ононін розраховують за формулою:

$$X = \frac{A \times 50 \times 100}{E_{1cm}^{1\%} \times m \times 0,5 \times (100 - W)}$$

де:

A – оптична густина випробуваного розчину;

$E_{1cm}^{1\%}$ – питомий показник поглинання ононіну (715);

0,5 – об'єм піпетки (мл);

m – маса наважки;

W – вологість сировини.

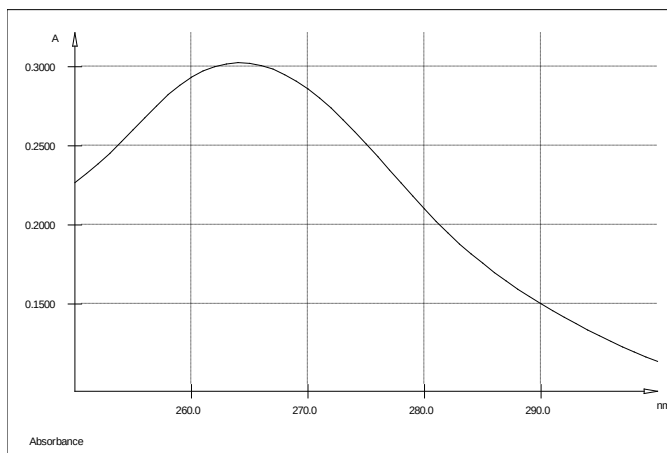


Рис. 4.6 УФ-спектр розчину кореневищ півників угоських (70 % об/об)

В. Рідинна хроматографія

Випробуваний розчин. 0,100 г здрібненої на порошок сировини диспергують у 25 мл метанолу Р (50 % об/об), зважують. Обробляють ультразвуком протягом 30 хв, відстоюють до охолодження і знову зважують. Компенсують втрату розчинника розчином метанолу Р (50 % об/об), перемішують і фільтрують крізь мембранний фільтр (номінальний розмір пор – 0,45 мкм).

Розчин порівняння. 5,0 мг СЗ мангіферину розчиняють у розчині метанолу Р (50 % об/об) і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл.

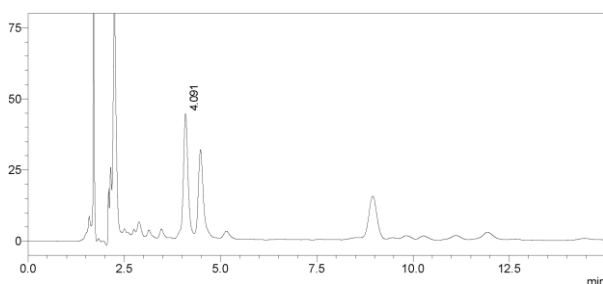


Рис. 4.7 Хроматограма ВЕРХ розчину кореневищ півників угорських у метанолі (50 % об/об)

4.3 Підбір оптимального екстрагента

Перед одержанням сухого екстракту проводили підбір екстрагенту за методикою: близько 1 г сировини (точна наважка) поміщали у конічну колбу, додавали 50 мл розчинника (використовували воду, 30 %, 50 %, 70 %, 96 % етиловий спирт) і зважували. Колбу нагрівали впродовж 2 годин, з'єднавши зі зворотним холодильником. Після охолодження колбу зважували і втрату в масі компенсували відповідним розчинником. Після чого, витяг фільтрували через паперовий фільтр у суху колбу. 25 мл фільтрату переносили у попередньо висушені при температурі 100-105 °С і доведені до постійної маси порцелянові чашки і випарювали досуха на водяній бані. Чашку з залишком сушили до постійної маси при температурі 100-105 °С, охолоджували в ексікаторі та зважували. За результатами визначено, що оптимальним екстрагентом є етанол (70 % об/об) і вода очищена (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

**Дослідження екстрактивних речовин сировини півників угорських, $n=3$,
($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)**

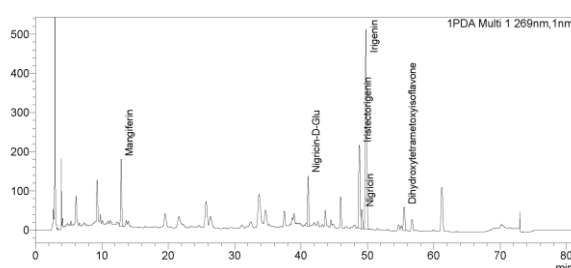
Розчинник	Сухий залишок, %	
	Кореневище <i>Iris hungarica</i>	Листя <i>Iris hungarica</i>
Вода очищена	10,31 $\pm$ 0,13 %	7,46 $\pm$ 0,07 %
Етанол (30 % об/об)	7,46 $\pm$ 0,10 %	6,39 $\pm$ 0,19 %
Етанол (50 % об/об)	8,02 $\pm$ 0,16 %	7,43 $\pm$ 0,12 %
Етанол (70 % об/об)	10,34 $\pm$ 0,09 %	8,21 $\pm$ 0,15 %
Етанол (96 %)	3,03 $\pm$ 0,11 %	5,58 $\pm$ 0,08 %

Для розробки умов одержання субстанції (екстракту півників угорських) з певною фармакологічною дією попередньо проводили дослідження вмісту екстрактів з листя та кореневищ півників угорських, одержаних методом екстрагування різними розчинниками. У даному випадку, для екстрагування листя та кореневищ півників угорських використовували воду очищену та спирт етиловий (70 % об/об). Було одержано чотири екстракти: ЕКВ – екстракт кореневищ півників угорських, одержаний екстракцією водою очищеною; ЕКС – екстракт кореневищ півників угорських, одержаний екстракцією етанолом (70 % об/об); ЕЛВ – екстракт листя півників угорських, одержаний екстракцією водою очищеною; ЕЛС – екстракт листя півників угорських, одержаний екстракцією етанолом (70 % об/об). Вміст одержаних екстрактів досліджували методом ВЕРХ з використанням стандартних зразків ксантону мангіферину, ізофлавоноїдів – текторидіну, нігріцину, нігріцин-4'-O- β -D-глюкопіранозиду, іристекторигеніну, іригеніну, 5,6-дигідрокси-7,8,3',5'-тетраметоксиізофлавону.

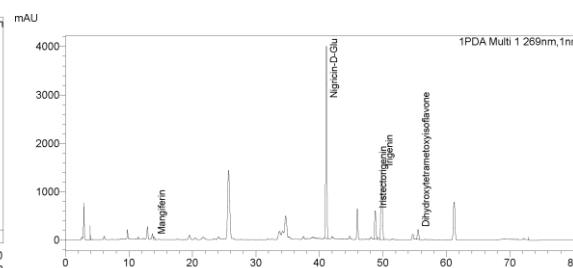
Таблиця 4.4

**Ксантони та ізофлавоноїди з екстрактів листя та кореневищ півників
угорських, мг/г, $n=3$, $(\bar{x} \pm S_{\bar{x}})$ методом ВЕРХ**

№	Назва сполуки	RT, хв	ЕКВ 1	ЕКС 2	ЕЛВ 3	ЕЛС 4
1	мангіферин	12,92	6,26 ± 0,09	2,22 ± 0,12	0,71 ± 0,11	1,68 ± 0,09
2	нігріцин-4'-О-β-D- глюкопіранозид	41,09	2,23 ± 0,11	90,70 ± 0,09	—	—
3	Іристекторигенін В	48,82	2,81 ± 0,10	7,23 ± 0,13	—	—
4	Нігріцин	49,15	0,64 ± 0,08	—	0,45 ± 0,11	0,18 ± 0,12
5	Іригенін	49,79	9,71 ± 0,07	29,47 ± 0,12	—	2,03 ± 0,13
6	5,6-дигідрокси-7,8,3',5'- тетраметоксиізофлавоон	55,54	1,04 ± 0,09	3,66 ± 0,10	—	—

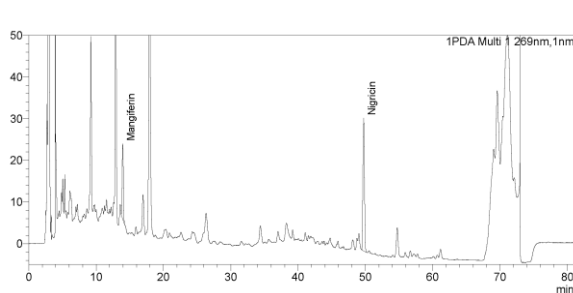


1

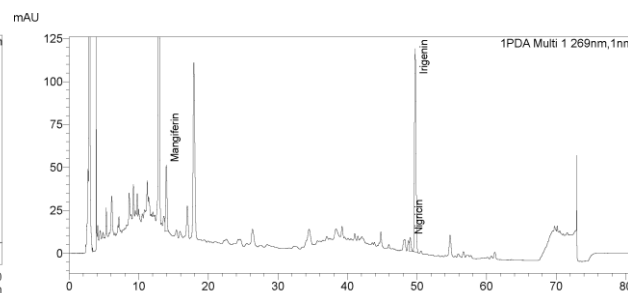


2

Рис. 4.8 Хроматограма сухого екстракту кореневищ півників угорських, одержаного екстракцією водою очищеною (1), та етанолом (70 % об/об) (2), при довжині хвилі 269 нм



3



4

Рис. 4.9 Хроматограма сухого екстракту листя півників угорських, одержаного екстракцією водою очищеною (3), та етанолом (70 % об/об) (4) при довжині хвилі 269 нм

У сухому екстракті кореневищ півників угорських, одержаному етанолом, вміст сполук ізофлавоноїдної та флавоноїдної природи значно більший, ніж у екстракті, одержаному водою очищеною. Однак, сухий екстракт з кореневищ півників угорських, одержаний водою, містить мангіферин майже у три рази більше. Тому доцільним буде проведення випробування сухого екстракту кореневищ, одержаних етанолом, на наявність анаболізуючої та протизапальної активності; сухий екстракт кореневищ півників угорських, одержаний водою, через високій вміст ксантону мангіферину – противірусної активності.

4.4 Технологічний процес одержання сухих екстрактів

Визначені основні технологічні параметри, які впливають на екстрагування БАР, використанні при розробці сухих екстрактів з листя та кореневищ півників угорських. Технологічний процес одержання сухих екстрактів складається з таких стадій (схема 4.1, 4.2) [148]:

1. Підготовка виробничого приміщення
2. Подрібнення сировини
3. Підготовка екстрагенту
4. Екстракція
5. Фільтрація
6. Випарювання
7. Одержання сухого екстракту
8. Фасовка екстракту в контейнери
9. Маркування та пакування.

Опис стадій технологічного процесу:

1. Процес одержання субстанцій повинен відбуватися з дотриманням гігієнічних та санітарних норм, які направлені на попередження мікробної контамінації [148, 149].
2. Сировину подрібнювали у млині з пиловловлюючою вентиляцією з наступним просіюванням крізь сито з розміром отворів 2,5 мм.
3. Воду очищену одержували методом дистиляції. Етанол (70 % об/об) одержували шляхом розведення етанолу (96 % об/об).
4. 500,0 г повітряно-сухої сировини півників угорських, подрібненої до розміру часток не більше 2,5 мм, завантажували у екстрактор, додавали екстрагент у 10-кратному об'ємі, враховуючи коефіцієнт поглинання. Екстракцію проводили вичерпно, зливаючі кожного разу одержаний екстракт та заливаючи нову порцію екстрагенту.
5. Одержані екстракти об'єднували, фільтрували за допомогою воронки Бюхнера та колби Бунзена з використанням вакууму.
6. Концентрували та упарювали на роторно-випарювальному апараті.
7. Одержаний сухий екстракт вилучали з ємності, підсушували у сушильній шафі.
8. Готові субстанції «Півників угорських листя екстракт сухий», «Півників угорських кореневища екстракт сухий», «Півників угорських листя екстракт водний сухий», фасували по 20,0 г у контейнери (банки оранжевого скла за ОСТ 64-2-87-81). Горловини банок з кришкою обгортали пергаментом (ГОСТ 17308-71), кінці якого склеювали етикеткою.
9. Банки вміщували у вторинну тару (коробку з картону ГОСТ 7983-8). Коробки пакували по 5 штук, на груповій тарі наклеювали етикетку. Маркування проводили за ГОСТ 64-2-87-81, транспортне маркування – за ГОСТ 14192-77. Умови зберігання готової продукції: у сухому, захищеному від світла місці при температурі 15-25 °С.

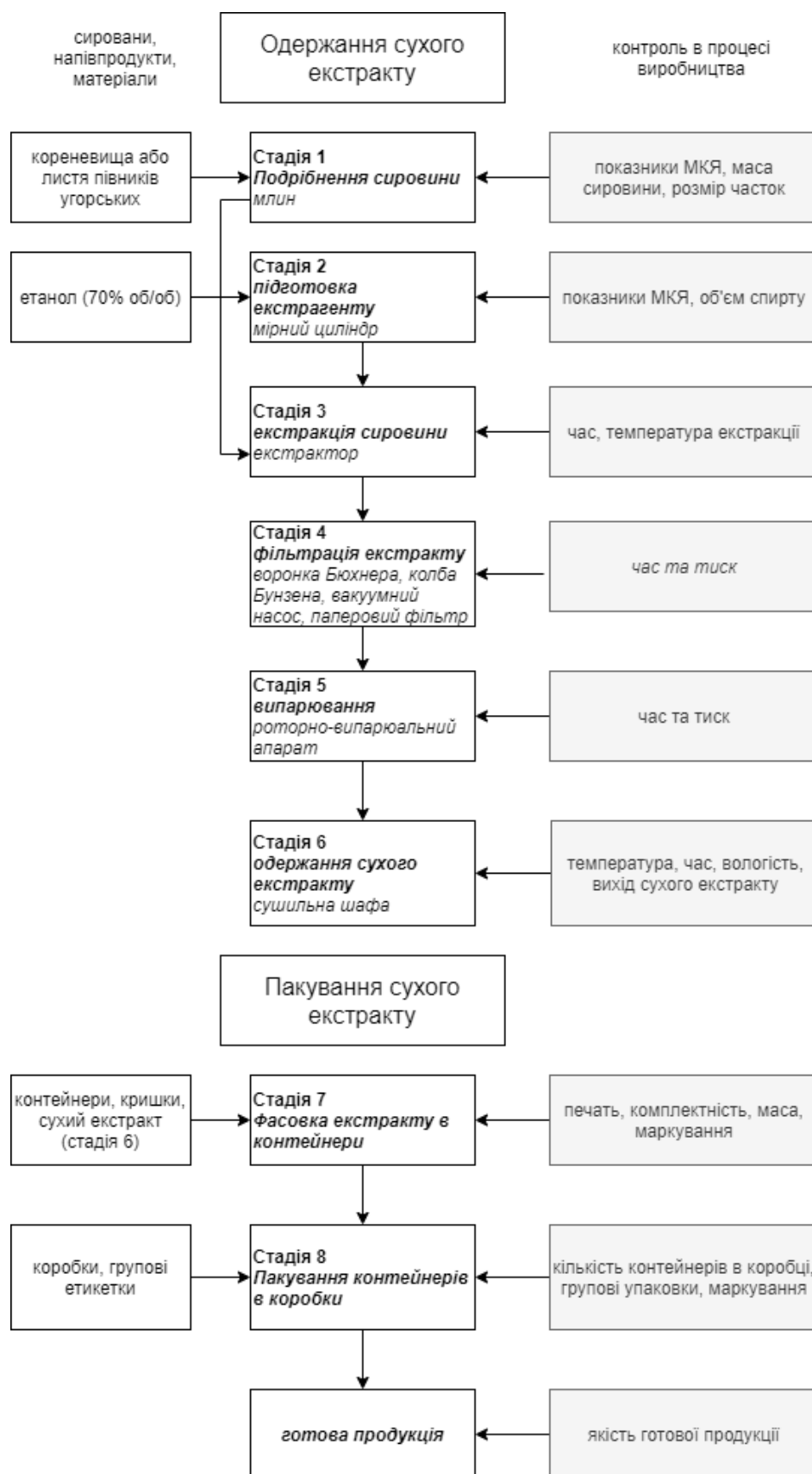


Схема 4.1 Процес одержання екстракту сухого з сировини півників угорських (ЕКС, ЕЛС)

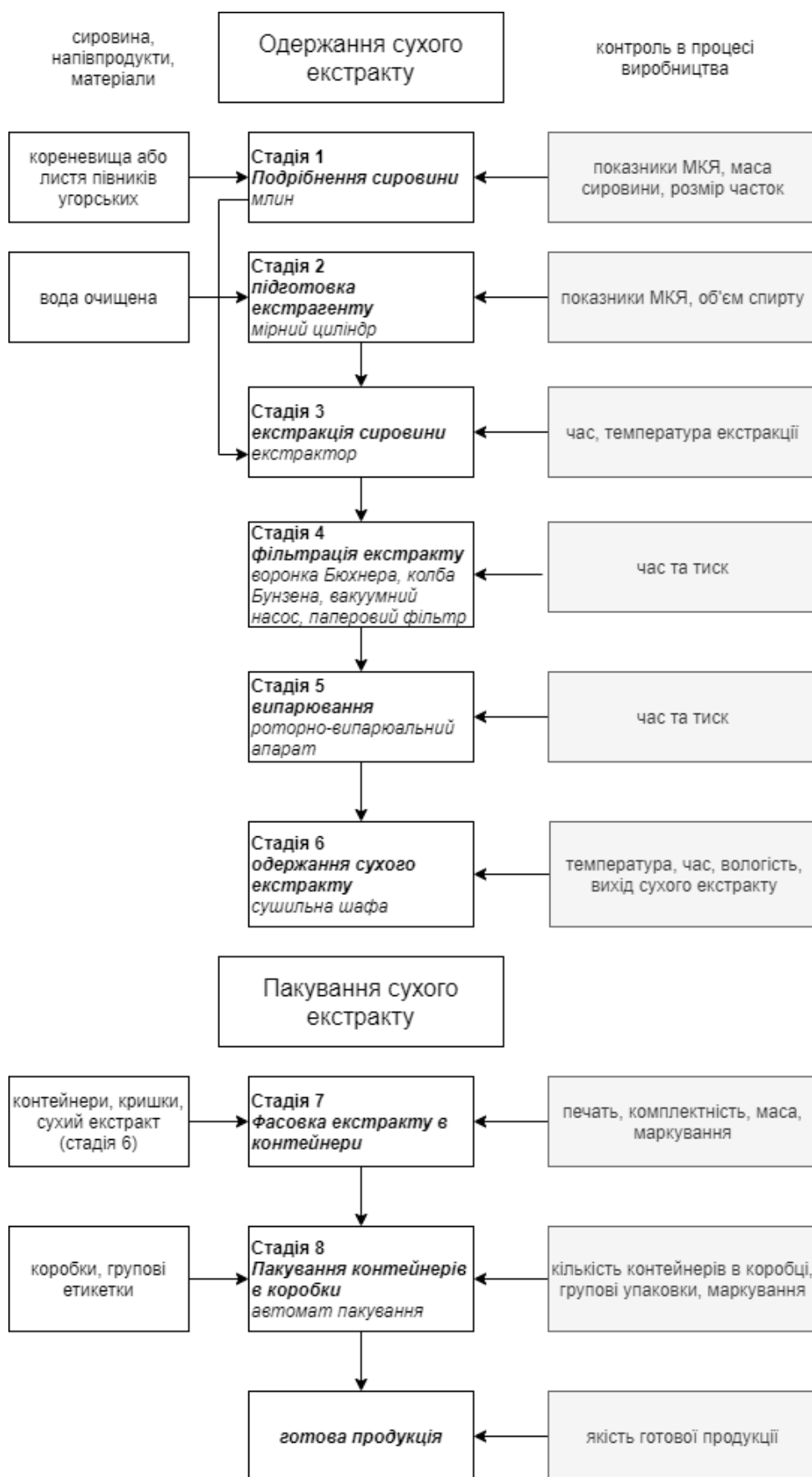


Схема 4.2 Процес одержання екстракту водного сухого з листя півників угорських (ЕКВ, ЕЛВ)

Сухий екстракт листя – це порошок темно-коричневого кольору, має характерний запах та гіркий смак. Основними речовинами, що зумовлюють фармакологічний ефект, є флавоноїди, ізофлавоноїди, ксантони, гідроксикоричні кислоти, полісахариди.

Сухий екстракт кореневища – це порошок коричневого або темно-жовтого кольору з приємним ароматом та гіркуватим смаком. Основними діючими речовинами є ізофлавоноїди, флавоноїди, таніни, ксантони.

Доброякісність сухих екстрактів та сировини півників угорських регламентується в розробленому проекті МКЯ на субстанції «Півників угорських листя екстракт сухий», «Півників угорських кореневища екстракт сухий», «Півників угорських листя екстракт водний сухий».

4.5 Дослідження фармакологічної активності екстрактів півників угорських

Використання півників в офіційній та народній медицині (розділ 1), літературні дані та результати фітохімічних досліджень сировини півників угорських дозволили визначити основні напрямки фармакологічних досліджень.

Вивчення фармакологічної активності проводилося на базі Центральної науково-дослідної лабораторії Національного фармацевтичного університету під керівництвом доктора біологічних наук, доцента кафедри патологічної фізіології Рибак Вікторії Анатоліївни. Експериментальні дослідження проводились згідно вимог комісії з біоетики та «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», що узгоджується з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» [150, 151, 152].

4.5.1 Дослідження гострої токсичності сухих екстрактів з листя та кореневищ півників угорських

Для встановлення гострої токсичності досліджуваних екстрактів з листя та кореневищ півників угорських використовували методику доклінічного вивчення нешкідливості лікарських засобів [153]. Дослідження рослинних екстрактів проведено на білих нелінійних статевозрілих мишах – самцях з масою тіла 18-22 г, вирощених у віварію, що знаходились на стандартному раціоні згідно з вимогами санітарно-гігієнічних норм. Тварини були розділені на 6 груп по 4 у кожній. Вибір доз проводили згідно з Методичними рекомендаціями при внутрішньошлунковому введенні у діапазонах 500-2500 мг/кг. Експеримент тривав 14 днів. Критеріями оцінки гострої токсичності були явища інтоксикації і летальності тварин. Контролем були тварини, яким перорально вводили фізіологічний розчин в еквівалентному обсязі. Клас токсичності визначали за загальноприйнятою класифікацією. Результати експерименту наведені у таблиці 4.5.

Таблиця 4.5

Дослідження гострої токсичності сухих екстрактів листя та кореневищ півників угорських

Сухий екстракт листя півників угорських		Сухий екстракт кореневищ півників угорських	
Доза, мг/кг	Смертність тварин/кількість тварин	Доза, мг/кг	Смертність тварин/кількість тварин
500	0/4	500	0/4
1000	0/4	1000	0/4
1500	0/4	1500	0/4
2000	0/4	2000	0/4
2500	0/4	2500	0/4

За результатами дослідження жодна з вводимих доз не викликала загибелі тварин впродовж всього експерименту, життєві функції тварин не були порушені. Дані свідчать про відсутність токсичного впливу досліджуваних зразків на стан тварин. За класифікацією К.К. Сидорова [154]

досліджувані зразки були віднесені до класу практично нетоксичних речовин.

4.5.2. Дослідження протизапальної активності сухих екстрактів листя та кореневищ півників угорських

На сьогоднішній день недостатньо широко застосовуються в медичній практиці фітопрепарати з протизапальними властивостями. На відміну від синтетичних лікарських засобів, вони мають менш виражений ефект, але краще переносяться, менш токсичні та можуть застосовуватися протягом довгого періоду, так як вони за хімічним походженням близькі до організму людини і легко включаються в біохімічні процеси [155,156].

Вивчення антиексудативної активності досліджуваних екстрактів проводили на моделі карагенінового набряку у щурів: тваринам субплантарно вводили у праву задню лапу 0,1 мл 1 % розчину карагеніну [157]. Даний набряк є найбільш інформативним, оскільки в його розвитку беруть участь різні флогогенні агенти: кінінова система, біогенні аміни та простагландини.

Антиексудативну активність визначали за показниками набряку кінцівок через 3 години після введення флогогену (на висоті розвитку набряку) та виражали у відсотках за ступенем зменшення набряку у тварин, які отримували препарати по відношенню до тварин групи контрольної патології. Об'єм набряку визначали за допомогою плетизмометра і виражали в умовних одиницях.

Для розрахунку антиексудативної активності застосовували формулу [158]:

$$A = 100\% - \frac{Pd \times 100\%}{P_k}, \quad (4.3)$$

де:

A – антиексудативна активність, %;

P_0 – приріст об'єму кінцівки в дослідній групі;

P_k – приріст об'єму кінцівки в контрольній групі.

Експериментальні дослідження були проведені на 30 білих щурах обох статей масою 160-180 г. Усі тварини були розподілені на 5 груп по 6 у кожній. Перша група тварин – контрольна патологія (без лікування), друга – тварини, які отримували диклофенак натрію у дозі 8 мг/кг, третя – альтан у дозі 5 мг/кг, четверта – сухий екстракт листя ірису угорського (ЕЛС) у дозі 150 мг/кг та п'ята – сухий екстракт кореневищ ірису угорського (ЕКС) в дозі 150 мг/кг. Доза екстрактів визначена емпірично з урахуванням їх хімічного складу та за даними літератури.

Як препарати порівняння було обрано диклофенак натрію з високою протизапальною ефективністю, в тому числі впливом на ексудативну фазу запалення, а також рослинний препарат альтан з доведеними протизапальними властивостями [159].

Сухий екстракт листя і кореневищ півників та препарати порівняння – диклофенак натрію та альтан – вводили одноразово внутрішньошлунково за 1 годину до ін'єкції флоготропного агенту. Тварини групи контрольної патології одержували еквівалентну їх масі кількість питної води.

Експериментальні дослідження проводились згідно вимог комісії з біоетики та «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах» (Київ, 2001), що узгоджується з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» [160,161].

Тварини утримувались у віварії Центральної науково-дослідної лабораторії Національного фармацевтичного університету, яка сертифікована ДП «ДЕЦ МОЗ України» як база для досліджень з експериментальної фармакології згідно зі стандартами санітарних норм та на необхідному харчовому раціоні.

Через 3 години після ін'єкції флогогену у тварин групи контрольної патології відбулося збільшення об'єму стопи в 1,4 рази у порівнянні з

вихідним значенням ($2,34 \pm 0,008$ проти $3,23 \pm 0,028$), що відповідало приросту об'єму стопи – $0,89 \pm 0,021$ умов. од. (табл. 4.6) та свідчило про розвиток ексудативної фази запалення – формування набряку.

Таблиця 4.6

**Антиексудативна активність сухих екстрактів листя та кореневищ
півників угорських (*Iris hungarica*) на моделі карагенінового набряку
у щурів, $n=6$, ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)**

№ з/п	Умови дослідку	Субстанція, мг/кг	Приріст об'єму стопи, умов. од	Протизапальна активність, %
1.	Контрольна патологія (без лікування)	—	$0,89 \pm 0,021$	—
2.	Диклофенак натрію	8	$0,46 \pm 0,056^*$	48,3
3.	Альтан	5	$0,54 \pm 0,044^*$	39,3
4.	Сухий екстракт листя півників угорських	150	$0,60 \pm 0,042^*$	32,6
5.	Сухий екстракт кореневищ півників угорських	150	$0,52 \pm 0,046$	41,6

Примітка. * – $p_1 < 0,05$ по відношенню до контролю.

Препарат порівняння диклофенак натрію в дозі 8 мг/кг виявив виразну антиексудативну активність – 48,4 % на моделі гострого запального набряку у щурів.

Застосування у лікуванні тварин сухих екстрактів листя та кореневищ півників угорських в дозі 150 мг/кг вірогідно знижувало об'єм набряку стопи в 1,5 та в 1,7 рази ($p < 0,05$) щодо показників контрольної патології. Сухий екстракт кореневищ півників угорських виявив більш виразну антиексудативну активність на 9,0 %, ніж сухий екстракт листя півників

угорських та незначно перевищив (на 2,3 %) препарат порівняння альтан в дозі 5 мг/кг, антиексудативна активність якого склала 39,3 % [162].

Ефективність досліджуваних екстрактів мала гальмівний вплив на розвиток набряку в порівнянні з контрольною патологією, а саме, антиексудативна активність склала 32,6 % і 41,6 %, що є достатньо виразною, так як на етапі скринінгових досліджень з фармакологічного вивчення протизапальних засобів значимим є рівень фармакологічної активності не менше 20 %.

4.5.3. Дослідження анаболічної активності сухих екстрактів листя та кореневищ півників угорських

Тестові та референтні анаболічні засоби вводили внутрішньошлунково один раз на день протягом 4 тижнів натщесерце.

Експеримент проводили на 25 білих аутбредних щурах самцях поділених на 5 дослідних груп за наступним дизайном:

- I група – негативний контроль – тварини, що не отримували анаболічних засобів протягом експерименту (плацебо – вода очищена)
- II група – тварини, які протягом експерименту отримували сухий екстракт кореневищ півників угорських в дозі 150 мг/кг.
- III група – тварини, які протягом експерименту отримували сухий екстракт листя півників угорських в дозі 150 мг/кг.
- IV – тварини, які протягом експерименту отримували таблетки калію оротату в дозі 100 мг/кг.
- V – тварини, які протягом експерименту отримували екстракт кореневищ левзеї в дозі 150 мг/кг.

Для визначення анаболічного ефекту досліджуваних екстрактів впродовж експерименту визначали динаміку маси тіла тварин. Тварин зважували натще. Після евтаназії тварин в CO₂-боксі відбирали сироватку та вилучали внутрішні органи, чутливі до анаболічних засобів (серце, литковий

м'яз, сім'яники), які зважували, після чого з них отримували гомогенат для подальших біохімічних досліджень [163].

Кількісний вміст білку в сироватці крові визначали біуретовим методом за допомогою стандартного набору реактивів згідно з інструкцією виробника. Кількісний вміст білку в гомогенаті тканин визначали за методом Лоурі в модифікації Хартрі. Концентрацію визначали фотометрично проти бланку при 650 нм на фотоелектроколориметрі [164].

Дослідження показали, що в умовах фізіологічного стану курсове введення екстрактів не спричиняло значних змін в динаміці зростання ваги тіла щурів, що не відрізнялося від негативного контролю ($p>0,05$). Разом з цим, відсутність впливу на середню вагу тіла проявляли також обидва референтні зразки: калію оротат та екстракт кореневищ левзеї (табл. 4.7).

Отримані результати піддавали статистичному аналізу з використанням критерію Ньюмена-Кейлса за допомогою Excel 2010 р [165].

Таблиця 4.7

Вплив екстрактів півників угорських на динаміку маси тіла тварин з нормальним гомеостазом (n=5)

Групи тварин	Термін спостереження				
	Вихідні дані	1 тиждень	2 тиждень	3 тиждень	4 тиждень
I	240,0 ± 7,1	233,1 ± 10,1	249,8 ± 10	261,3 ± 10,2	288,1 ± 10,8
II	242,0 ± 15,9	250,5 ± 19,9	265,1 ± 12,6	270,2 ± 11,6	279,7 ± 12,3
III	220,0 ± 11,5	247,7 ± 16	249,0 ± 15,2	258,0 ± 12,4	266,8 ± 15,0
IV	241,0 ± 16,5	247,6 ± 15,6	255,6 ± 14,2	256,8 ± 12,2	277,5 ± 13,4
V	233,3 ± 8,8	256,50 ± 7,3	262,7 ± 9,4	260,5 ± 8,7	275,1 ± 7,8

Примітка. n – кількість тварин у кожній групі.

Також досліджувані тестові та референтні зразки не впливали на показники масових коефіцієнтів м'язових органів та гонад ($p>0,05$ проти негативного контролю, табл. 4.8).

Таблиця 4.8

Вплив екстрактів півників угорських на відносну масу внутрішніх органів щурів з нормальним гомеостазом (n=5)

Групи тварин	Відносна маса органів, %		
	серця	литкового м'яза	сім'яників
I	0,30 ± 0,02	0,50 ± 0,01	1,1 ± 0,08
II	0,31 ± 0,02	0,56 ± 0,03	1,2 ± 0,05
III	0,31 ± 0,01	0,54 ± 0,02	0,16 ± 0,05
IV	0,30 ± 0,01	0,52 ± 0,02	1,27 ± 0,04
V	0,30 ± 0,003	0,46 ± 0,15	1,16 ± 0,05

Примітка. n – кількість тварин у кожній групі

Однак, при біохімічному дослідженні вмісту загального білку в вилучених м'язових органах та сироватці екстракт з кореневищ півників угорських в дозі 150 мг/кг був здатний статистично збільшувати вміст загально білку в литковому м'язі щурів практично на 15 % у порівнянні з негативним контролем ($p \leq 0,05$).

Крім того, та на тлі застосування екстракт з кореневища півників угорських сироватковий вміст білку був вищий, ніж в обох референтних групах ($p \leq 0,05$) (табл. 4.9).

Таблиця 4.9

Вплив екстрактів півників угорських на обмін білка у щурів з нормальним гомеостазом, (n=5)

Групи тварин	Загальний білок, мг/г		
	у сироватці	у литковому м'язі	у серцевому м'язі
I	55,55 ± 0,55	123,11 ± 2,34	119,08 ± 4,28
II	60,99 ± 0,19 ^{a#}	141,4 ± 7,36*	116,12 ± 2,60

Продовж. табл. 4.9

III	58,21 ± 1,81	125,53 ± 3,20 ^{ЕКС}	111,95 ± 2,56
IV	52,78 ± 2,61	134,00 ± 2,63	115,31 ± 6,75
V	53,20 ± 1,73	147,8 ± 1,25*	116,39 ± 5,08

Примітки:

* – відмінності статистично значущі щодо групи тварин негативного контролю, $p < 0,05$;

ЕКС – відмінності статистично значущі щодо групи тварин, яким вводили екстракт кореневищ півників угорських, $p < 0,05$;

α# – відмінності статистично значущі щодо групи тварин, яким вводили референтні засоби таблетки калію оротату ^(α) або екстракт кореневищ левзеї ^(#), $p < 0,05$;

n – кількість тварин у кожній групі.

В даному експерименті було виявлено наявність помірного анаболічного ефекту у сухому екстракті з кореневища півників угорських в дозі 150 мг/кг. Слід зазначити, що активність даного тест-зразку була тропною саме до скелетних м'язів, що є вигідною рисою рослинного засобу перед очищеними стероїдними гормонами, які активують анаболічні процеси в різних органах та системах, що не завжди є необхідним у деяких клінічних випадках. Екстракт не викликав надфізіологічного прискорення набору маси тіла та гіпертрофії серцевого м'яза, що також є розповсюдженими супутніми ефектами стероїдних гормонів. Таким чином, через свою м'яку, проте доволі таргетну дію, даний засіб може бути рекомендований до застосування в комбінованій медикаментозній терапії м'язових дистрофій середнього та легкого ступеню тяжкості, а також у якості адаптогену та підтримуючого засобу при латентних або уповільнених дистрофічних станах.

4.5.4. Дослідження антимікробної активності сухих екстрактів листя та кореневищ півників угорських

4.5.4.1. Антимікробна активність

Проведено визначення антимікробної активності отриманих сухих екстрактів у Інституті мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України (м. Харків) під керівництвом к.б.н. Осолодченко Т. П.

У якості досліджуваних зразків використовували сухі екстракти з листя та кореневищ півників угорських, одержані екстракцією водою очищеною. Екстракти готували у концентрації 1 %.

Визначення чутливості штамів мікроорганізмів до досліджуваних зразків сухих екстрактів проводили у відповідності до методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» [166, 167] диско-дифузійним методом на середовищі Мюлера-Хінтона. Чутливість грибів визначали на середовищі Сабуро [168].

Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) встановлювалась за найменшою концентрацією досліджуваної речовини, яка пригнічувала видимий ріст культури. Для визначення мінімальної бактерицидної концентрації (МБ_цК) виконували дозовані висіви на тверде поживне середовище (агар Мюллер-Хінтона) культуральної рідини з усіх пробірок, у яких не спостерігали росту мікроорганізму. За МБ_цК вважали найнижчу концентрацію, яка викликала загибель не менше 99,9 % бактерій. При постановці дослідів додатково проводили контролі росту культури в середовищі без досліджуваних речовин [169,170].

При визначенні антимікробної активності сухий екстракт листя у концентрації 1 % проявляє дію на всі групи мікроорганізмів – діаметр затримки росту від 14,6 до 19,3 мм, найбільш чутливий до *Escherichia coli*. Сухий екстракт кореневищ у концентрації 1 % пригнічує ріст усіх таксономічних груп використаних мікропрепаратів – діаметр зон затримки росту складає 13-16 мм. Препарат має більш виражену антимікробну активність до *Candida albicans* (табл. 4.10).

Таблиця 4.10

**Антимікробна активність сухих екстрактів півників угорських,
n=3, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)**

Штами мікроорганізмів	Діаметри зон затримки росту в мм, кількість дослідів n=3	
	Сухий екстракт листя півників угорських	Сухий екстракт кореневищ півників угорських
<i>Staphylococcus aureus</i>	18,16±0,03	15,6±0,12
<i>Escherichia coli</i>	19,30±0,02	14,60±0,08
<i>Proteus vulgaris</i>	14,60±0,10	13,60±0,10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15,10±0,07	13,1±0,13
<i>Basillus subtilis</i>	19,10±0,06	16,00±0,12
<i>Candida albicans</i>	16,10±0,2	16,30±0,09

Таблиця 4.11

Мінімальна інгібуюча концентрація (мкг/мл), n=3, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Штами мікроорганізмів	МІК, мкг/мл екстрактів	
	Сухий екстракт листя півників угорських	Сухий екстракт кореневища півників угорських
<i>S. aureus</i>	250	250
<i>E. coli</i>	500	500
<i>P. aeruginosa</i>	500	1000
<i>P. vulgaris</i>	500	500
<i>B. subtilis</i>	125	125
<i>C. albicans</i>	500	250

Дані, які наведені в таблиці 4.11 демонструють, що сухі екстракти листя та кореневища півників угорських проявляють бактеріостатичну дію по відношенню до широкого спектру тест-штамів мікроорганізмів, а також

грибів роду *Candida* [170, 171, 172].

4.5.4.2 Дослідження мікробіологічної чистоти сухих екстрактів з листя та кореневищ півників угорських

Мікробіологічна чистота субстанції – це необхідний показник, що регламентує безпечність використання лікарського засобу на всіх етапах його виробництва. Також мікроорганізми можуть певним чином впливати на властивості самої субстанції. Дослідження мікробіологічної чистоти у сухих екстрактах півників угорських проводили згідно вимог ДФУ [173].

Таблиця 4.12

Мікробіологічна чистота сухих екстрактів з листя та кореневищ півників угорських

Зразки	Кількість субстанції в пробірці (мл або г)	Умови культивування		
		Соево-казеїновий бульйон 14 днів при 35 °C	Тіогликолевесередовище 14 днів при 35 °C	Рідке середовище Сабура 14 днів при 25 °C
Сухий екстракт листя півників угорських	1,0	Ріст мікроорганізмів відсутній	Ріст мікроорганізмів в відсутній	Ріст грибів відсутній
	0,1	Ріст мікроорганізмів	Ріст мікроорганізмів	Ріст грибів відсутній
	0,01	Ріст мікроорганізмів	Ріст мікроорганізмів	Ріст грибів відсутній
Сухий екстракт кореневищ півників угорських	1,0	Ріст мікроорганізмів відсутній	Ріст мікроорганізмів в відсутній	Ріст грибів відсутній
	0,1	Ріст мікроорганізмів	Ріст мікроорганізмів	Ріст грибів відсутній
	0,01	Ріст мікроорганізмів	Ріст мікроорганізмів	Ріст грибів відсутній

Як показують дані таблиці 4.12, після 14 днів інкубації при культивуванні на середовищі Сабура ріст грибів був відсутній. На соєво-

казеїновий бульйоні та тіогликолевому середовищі при випробуванні зразків препарату у кількості 1,0 г ріст мікроорганізмів був відсутній; при випробуванні зразків препарату у кількості 0,1 г та 0,01 г реєструвався ріст мікроорганізмів у зразках сухих екстрактів листя та кореневищ півників угорських.

Дані, які надані в таблиці 4.13, показують, що за морфологією колоній, морфологією клітин, за наявним ростом на селективних та диференційних поживних середовищах, за мікроскопією по Граму, за деякими біологічними властивостям виділені мікроорганізми відносяться до роду *Bacillus sp.*, *Staphylococcus saprophyticus*. На диференціальних середовищах (середовище Чистовича та середовище Ендо) по виділенню представників кишкової групи та патогенних стафілококів росту серед інших видів мікроорганізмів не спостерігалось.

Сухі екстракти листя та кореневища півників угорських відповідають вимогам ДФУ за показником «Мікробіологічна чистота» [174].

4.5.5. Антимікробна активність сухих екстрактів з листя та кореневищ сортових півників

Було проведено первинний скринінг антимікробної активності екстрактів з сортів півників. За наведеною вище технологією (схема 4.2) були одержані сухі водні екстракти з листя та кореневищ сортових півників. Вихід сухих екстрактів склав від 12,09 % до 23 %. Антимікробну активність одержаних екстрактів встановлювали за аналогічною методикою, що використовувалась у випробуванні сухих екстрактів півників угорських.

Дані таблиці 4.14 вказують, що всі зразки володіють бактеріостатичною дією по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* та слабкою дією по відношенню до *Proteus vulgaris* та *Pseudomonas aeruginosa*.

Таблиця 4.13

Ідентифікація мікроорганізмів, які вирости на соєво-казеїновому бульйоні та тіогліколевому середовищі

Зразки	Кількість зразку,г	Ріст мікроорганізмів на поживних середовищах				
		Чистовича	Ендо	Кровя'ний агар	Сабуро	Поживний агар
Сухий екстракт листя півників угорських	0,1	х	х	Сухі сірі колонії, з нерівними краями шерохваті, не блискучі, слабкий гемоліз	х	Сухі сірі колонії, з нерівними краями шерохваті, не блискучі
	0,01	х	х	Сухі сірі колонії, з нерівними краями шерохваті, не блискучі, слабкий гемоліз	х	Сухі сірі колонії, з нерівними краями шерохваті, не блискучі
Сухий екстракт кореневищ півників угорських	0,1	х	х	Блискучі білі колонії, з рівними краями слизкі, гемоліз відсутній	х	Блискучі білі колонії, з рівними краями слизкі
	0,01	х	х	Блискучі білі колонії, з рівними краями слизкі, гемоліз відсутній	х	Блискучі білі колонії, з рівними краями слизкі

Таблиця 4.14

Антимікробна активність сухих екстрактів сортових півників, $n=3$, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Сировина	Препарати	Діаметри зон затримки росту в мм, кількість дослідів $n=3$					
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Basillus subtilis</i>	<i>Candida albicans</i>
листя	<i>Iri hybrida hort.</i> 'Galleon Gold'	17,6 $\pm$ 0,10	16,6 $\pm$ 0,15	14,3 $\pm$ 0,11	14,0 $\pm$ 0,13	19,6 $\pm$ 0,10	17,6 $\pm$ 0,14
	<i>Iris hybrida hort.</i> 'Mini Dynamo'	17,6 $\pm$ 0,12	16,3 $\pm$ 0,13	14,3 $\pm$ 0,14	14,6 $\pm$ 0,10	18,3 $\pm$ 0,12	17,3 $\pm$ 0,09
	<i>Iris hybrida hort.</i> 'Little Dream'	17,6 $\pm$ 0,15	16,0 $\pm$ 0,10	14,6 $\pm$ 0,16	14,6 $\pm$ 0,14	18,6 $\pm$ 0,16	17,0 $\pm$ 0,15
	<i>Iris hybrida hort.</i> 'Indian Pow Waw'	18,0 $\pm$ 0,10	16,3 $\pm$ 0,16	14,3 $\pm$ 0,09	14,0 $\pm$ 0,13	18,3 $\pm$ 0,10	16,3 $\pm$ 0,18
	<i>Iris hybrida hort.</i> 'Bright white'	17,3 $\pm$ 0,13	16,6 $\pm$ 0,14	14,3 $\pm$ 0,11	14,0 $\pm$ 0,09	18,6 $\pm$ 0,11	17,3 $\pm$ 0,14
кореневище	<i>Iri hybrida hort.</i> 'Galleon Gold'	17,0 $\pm$ 0,09	15,3 $\pm$ 0,15	13,3 $\pm$ 0,13	13,0 $\pm$ 0,12	17,3 $\pm$ 0,15	17,0 $\pm$ 0,12
	<i>Iris hybrida hort.</i> 'Mini Dynamo'	16,3 $\pm$ 0,12	15,0 $\pm$ 0,10	14,3 $\pm$ 0,14	14,6 $\pm$ 0,15	17,3 $\pm$ 0,11	16,0 $\pm$ 0,09
	<i>Iris hybrida hort.</i> 'Little Dream'	16,6 $\pm$ 0,17	15,3 $\pm$ 0,11	13,3 $\pm$ 0,18	13,0 $\pm$ 0,12	17,0 $\pm$ 0,14	16,0 $\pm$ 0,13
	<i>Iris hybrida hort.</i> 'Indian Pow Waw'	16,3 $\pm$ 0,10	15,3 $\pm$ 0,13	13,0 $\pm$ 0,15	12,6 $\pm$ 0,12	17,3 $\pm$ 0,15	15,3 $\pm$ 0,12
	<i>Iris hybrida hort.</i> 'Bright white'	16,0 $\pm$ 0,12	15,6 $\pm$ 0,11	13,3 $\pm$ 0,10	13,3 $\pm$ 0,10	17,0 $\pm$ 0,11	16,0 $\pm$ 0,15

Таблиця 4.15

Мінімальна інгібуюча концентрація сухих екстрактів сортових півників, $n=3$, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Препарати		Мінімально інгібуюча концентрація МІК мкг/мл					
		Мінімально-бактеріцидна концентрація МБ _ц К мкг/мл					
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Basillus subtilis</i>	<i>Candida albicans</i>
листя <i>I. hybrida</i> 'Galleon Gold'	МІК	62,5	125	250	250	62,5	62,5
	МБ _ц К	125	250	500	500	125	125
кореневище <i>I. hybrida</i> 'Galleon Gold'	МІК	62,5	125	250	250	62,5	62,5
	МБ _ц К	125	250	500	500	125	125
листя <i>I. hybrida</i> 'Mini Dynamo'	МІК	62,5	125	250	250	32,25	62,5
	МБ _ц К	125	250	500	500	62,5	125
кореневище <i>I. hybrida</i> 'Mini Dynamo'	МІК	125	250	250	250	62,5	125
	МБ _ц К	250	500	500	500	125	250
листя <i>I. hybrida</i> 'Little Dream'	МІК	62,5	125	250	250	62,5	62,5
	МБ _ц К	125	250	500	500	125	125
кореневище <i>I. hybrida</i> 'Little Dream'	МІК	62,5	125	250	250	62,5	125
	МБ _ц К	125	250	500	500	125	250
листя <i>I. hybrida</i> 'Indian Pow Waw'	МІК	32,25	62,5	250	250	32,25	62,5
	МБ _ц К	62,5	125	500	500	62,5	125
кореневище <i>I. hybrida</i> 'Indian Pow Waw'	МІК	62,5	125	250	250	62,5	125
	МБ _ц К	125	250	500	500	125	250
листя <i>I. hybrida</i> 'Bright white'	МІК	62,5	125	250	250	62,5	62,5
	МБ _ц К	125	250	500	500	125	125
кореневище <i>I. hybrida</i> 'Bright white'	МІК	125	250	250	250	62,5	125
	МБ _ц К	250	500	500	500	125	250

Дослідження показали, що сухі екстракти листя півників проявляють більшу активність до наведених штамів мікроорганізмів, ніж сухі екстракти кореневища. Сухий екстракт листя та кореневищ *I. hybrida* 'Galleon Gold' має більш виражену дію на мікроорганізми і гриби роду *Candida*.

У порівнянні з сухим екстрактом листя півників угорських, досліджувані зразки сортових півників мали тотожну або більш ефективну антимікробну дію до всіх наведених штамів, окрім *Escherichia coli*. Сухі екстракти кореневищ сортових півників проявляли більшу чутливість до мікроорганізмів, ніж сухий екстракт півників угорських.

У ході скринінгу (табл. 4.15) щодо *S. aureus* встановлено, що інгібуюча дія сухих екстрактів листя та кореневищ *I. hybrida* 'Galleon Gold', листя *I. hybrida* 'Mini Dynamo', листя та кореневищ *I. hybrida* 'Little Dream' , кореневищ *I. hybrida* 'Indian Pow Waw' та листя *I. hybrida* 'Bright white' знаходилась у концентраціях 62,5 мкг/мл, МБ_цК склала 125 мкг/мл. Інгібуюча дія сухих екстрактів кореневищ *I. hybrida* 'Mini Dynamo' і *I. hybrida* 'Bright white' знаходилась у концентраціях 125 мкг/мл, МБ_цК склала 250 мкг/мл, для сухого екстракту листя *I. hybrida* 'Indian Pow Waw' відповідно 32,25 мкг/мл та 62,5 мкг/мл.

Щодо *Escherichia coli* інгібуюча дія сухих екстрактів листя та кореневищ *I. hybrida* 'Galleon Gold', листя *I. hybrida* 'Mini Dynamo', листя та кореневищ *I. hybrida* 'Little Dream' , кореневищ *I. hybrida* 'Indian Pow Waw' та листя *I. hybrida* 'Bright white' знаходилась у концентраціях 125 мкг/мл, МБ_цК склала 250 мкг/мл. Інгібуюча дія сухих екстрактів кореневищ *I. hybrida* 'Mini Dynamo' і *I. hybrida* 'Bright white' знаходилась у концентраціях 250 мкг/мл, МБ_цК склала 500 мкг/мл, для сухого екстракту листя *I. hybrida* 'Indian Pow Waw' відповідно 62,5 мкг/мл та 125 мкг/мл. В результаті експериментів з грамнегативними тест-штамами мікроорганізмів (*P. vulgaris*, *P. aeruginosa*) було встановлено помірну активність (МІК та МБ_цК у межах 250–500 мкг/мл).

Антифунгальна активність щодо тест-штаму *C. albicans* складала 62,5 мкг/мл, МБ_цК склала 125 мкг/мл для сухих екстрактів листя та кореневищ *I. hybrida* 'Galleon Gold', листя *I. hybrida* 'Mini Dynamo', листя та кореневищ *I. hybrida* 'Little Dream', кореневищ *I. hybrida* 'Indian Pow Waw' та листя *I. hybrida* 'Bright white', для сухих екстрактів кореневищ *I. hybrida* 'Mini Dynamo' і *I. hybrida* 'Bright white' знаходилась у концентраціях 125 мкг/мл, МБ_цК склала 250 мкг/мл, для сухого екстракту листя *I. hybrida* 'Indian Pow Waw' відповідно 32,25 мкг/мл та 62,5 мкг/мл.

Висновок: за даними аналізу визначили, що сухі екстракти листя та кореневищ сортових півників у концентрації 1 % проявляють бактеріостатичну активність до наведених штамів мікроорганізмів та грибів. Екстракт листя має більш виражену дію. До препаратів більш чутливі *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Basillus Subtilis*, *Candida albicans*. Сухі екстракти проявляють помірну дію на *Proteus vulgaris* та *Pseudomonas aeruginosa*.

4.5.6. Дослідження антигерпетичної активності сухого екстракту листя півників угорських

Антигерпетичну активність сухого екстракту з листя півників угорських, одержаного екстракцією водою очищеною, вивчали на штамі вірусу простого герпесу на культурі клітин епітеліальної карциноми гортані людини, які використовуються для виділення аденовірусів, а також вірусу простого герпесу. Для дослідження були використані клітинні моношари, з котрих виділявся вірус [175].

Перша стадія дослідження включала в себе встановлення токсичної дії чистого препарату. Для цього готували розчини сухого екстракту листя півників угорських у концентрації 5, 50, 100 мкг/мл. Розчини вносили у пробірки з підготовленим моношаром клітин (кількість дослідів для кожного розведення становило не менше трьох) та залишали в термостаті на 4 доби, спостерігаючи наявність чи відсутність цитопатогенної дії вірусу.

Друга стадія дослідження включала в себе внесення розчинів у наведених концентраціях у культури клітини одразу після інфікування вірусом простого герпесу. Пробірки з досліджуваними зразками залишали в термостаті (37 °C) та впродовж 4 діб регулярно перевіряли наявність або відсутність цитопатогенної дії вірусу. За максимально переносиму концентрацію (МПК) сухого екстракту з листя півників угорських приймали його найбільшу кількість, за якої не відбувалась дегенерація клітин [176]. Антигерпетичну активність встановлювали за кількістю клітин з розчином сухого екстракту з листя півників угорських, що загинули під дією внесеного вірусу.

Таблиця 4.16

Кількість клітин, що загинули під дією вірусу герпесу, %

Концентрація сухого екстракту листя <i>Iris hungarica</i> , (мкг/мл)	Показники цитопатогенної дії, число дослідів n=4			
	1	2	3	4
5	75 %	100 %	100 %	100 %
5	75 %	100 %	100 %	100 %
5	75 %	100 %	100 %	100 %
50	50 %	50 %	75 %	100 %
50	50 %	50 %	75 %	75 %
50	50 %	75 %	100 %	100 %
100	25 %	50 %	100 %	100 %
100	50 %	75 %	75 %	100 %
100	25 %	50 %	100 %	100 %
Контроль к/к	—	—	—	—
Контроль вірусу	75 %	100 %	100 %	100 %

За результатами дослідження, що наведені у таблиці 4.16, сухий екстракт листя півників угорських у концентрації 100 мкг/мл проявляє найбільш

виражену дію по відношенню до вірусу просто герпесу, кількість клітин, що вижило, складає у середньому 27,08 %.

4.6. Методики контролю якості сухих екстрактів півників угорських

На підставі власних досліджень та даних літератури щодо фармакологічної активності розробку проектів методів контролю якості сухих екстрактів проводили на вміст ізофлавоноїдів, флавоноїдів та ксантонів.

4.6.1. Півників угорських листя екстракт сухий

Iridis hungaricae folii extractum siccum

Опис. Крупно – зернистий порошок темно – коричневого кольору, одержаний екстракцією етанолом (70 % об/об) з листя півників угорських (*Iris hungarica* Waldst et Kit.).

Вміст: не менше 9 % мангіферину ($C_{19}H_{18}O_{11}$, М.м. 422,33) у перерахунку на суху речовину.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Переглядають хроматограми. Послідовність зон на хроматограмі випробуваного розчину і розчину порівняння мають відповідати зонам, наведеним нижче.

А.

Верхня частина пластинки	
мангіферин: блакитна флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона (мангіферин) жовтувато-коричнева флуоресціююча зона блакитна флуоресціююча зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

В.

Верхня частина пластинки	
ізокверцетрин: зелено-коричнева зона	зелено-коричнева зона (ізокверцетрин)
кверцетин: жовтувато-зелена зона	жовтувато-зелена зона (кверцетин)
	синя зона (хлорогенова кислота)
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

ВИПРОБУВАННЯ

0,1 г екстракту листя півників екстрагують 1 мл метанолу *P* на УЗ – бані протягом 30 хвилин.

А. Розчин порівняння: 10 мг мангіферину 10 мл метанолу *P*.

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

Пластинка: ТШХ – пластинка із шаром силікагелю F_{254} *P* розміром 5×10 см

Нанесення: 4 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння, смугами по 6 мм

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

Висушування: на повітрі.

Виявлення: обприскують розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру *P* у метанолі *P*, потім обприскують розчином 50 г/л макроголу 400 *P* у метанолі *P*, висушують на повітрі протягом 30 хв. Переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

В. Пластинка: ВЕТШХ пластинку із шаром силікагелю F_{254} *P* розміром 5×10 см.

Розчин порівняння: *кверцетин, ізокверцетин* у метанолі.

Рухома фаза: оцтова кислота R – бутанол R – вода R – етилацетат R (5:10:5:80).

Об'єм проб: 4 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння, смугами по 6 мм.

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

Висушування: на повітрі.

Виявлення: обприскують розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру R у метанолі R, потім обприскують розчином 50 г/л макрогону 400 R у метанолі R, висушують на повітрі протягом 30 хв. Переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати.

А. на хроматограмі випробуваного розчину можуть проявлятися світло – коричнева та блакитна флуоресціюючі зони нижче зони, відповідно мангіферину на хроматограмі розчину порівняння.

В. на хроматограмі випробуваного розчину можуть проявлятися блакитна флуоресціююча зона нижче зони, відповідно ізокверцетину та кверцетину на хроматограмі розчину порівняння.

Втрата в масі при висушуванні. Не більше 8 %. 1,0000 г сухого екстракту сушать при температурі 105 °С впродовж 2 годин.

Загальна зола. Не більше 10 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Випробуваний розчин. 0,1 г сухого екстракту поміщають у колбу місткістю 50 мл, розчиняють та доводять об'єм етиловим спиртом (80 % об/об). За необхідністю фільтрують.

Оптичну густину вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 369 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Компенсаційний розчин – етанол (80 % об/об). Розрахунок суми ксантонів у перерахунку на мангіферин проводять за формулою:

$$X = \frac{A \times 25 \times 25 \times 100}{E_{1\text{cm}}^{1\%} \times m \times (100 - W)}$$

де:

A – оптична густина випробуваного розчину;

$E_{1\text{см}}^{1\%}$ – питомий показник поглинання мангіферину (295);

m – маса наважки;

W – вологість сировини.

4.6.2 Півників угорських кореневища екстракт сухий

Iridis hungaricae rhizomata extractum siccum

Опис. Крупно – зернистий порошок коричневого кольору, одержаний екстракцією спиртом (70 % об/об) з кореневищ півників угорських (*Iris hungarica* Waldst et Kit.).

Вміст: не менше 8 % ононіну ($C_{22}H_{22}O_9$, М.м. 430,4) у перерахунку на суху речовину.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Переглядають хроматограми. Послідовність зон на хроматограмі випробуваного розчину і розчину порівняння мають відповідати зонам, наведеним нижче.

А.

Верхня частина пластинки	
ононін: темно-коричнева флуоресціююча зона	темно-коричнева флуоресціююча зона темно-коричнева флуоресціююча зона (ононін)
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

В.

Верхня частина пластинки	
нігрицин: блакитна флуоресціююча зона	темно-коричнева флуоресціююча зона блакитна флуоресціююча зона (нігрицин)
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

ВИПРОБУВАННЯ

0,1 г екстракту листя півників екстрагують 1 мл метанолу *P* на УЗ – бані протягом 30 хвилин.

А. Розчин порівняння: 10 мг ононіну 10 мл етанолу *P*.

Рухома фаза: : оцтова кислота льодяна *P* – бутанол *P* (5:95).

Пластинка: ТШХ – пластинка із шаром силікагелю F_{254} *P* розміром 5×10 см

Нанесення: 4 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння, смугами по 6 мм

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

Висушування: на повітрі.

Виявлення: переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм.

В. Розчин порівняння: 10 мг нігрицин 10 мл етанолу *P*.

Рухома фаза: толуол *P* – етилацетат *P* – мурашина кислота *P* – (5:4:1).

Пластинка: ТШХ – пластинка із шаром силікагелю F_{254} *P* розміром 5×10 см

Нанесення: 4 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння, смугами по 6 мм

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

Висушування: на повітрі.

Виявлення: переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм.

Результати

A. на хроматограмі випробованого розчину можуть проявлятися одна темно – коричнева флуоресціююча зона вище зони, відповідно ононіну на хроматограмі розчину порівняння.

B. на хроматограмі випробованого розчину можуть проявлятися одна темно – коричнева флуоресціююча зона вище зони, відповідно нігрицину на хроматограмі розчину порівняння.

Втрата в масі при висушуванні. Не більше 10 %. 1,0000 г сухого екстракту сушать при температурі 105 °С впродовж 2 годин.

Загальна зола. Не більше 8 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Випробуваний розчин. 0,1 г сухого екстракту поміщають у колбу місткістю 50 мл, розчиняють та доводять об'єм етанолом (70 % об/об). За необхідністю фільтрують. Компенсаційний розчин – етанол (70 % об/об). Оптичну густину вимірюють при довжині хвилі 260 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Кількісний вміст суми ізофлавоноїдів у перерахунку на ононін розраховують за формулою:

$$X = \frac{A \times 50 \times 50 \times 100}{E_{1cm}^{1\%} \times m \times (100 - W)}$$

де:

A – оптична густина випробованого розчину;

$E_{1cm}^{1\%}$ – питомий показник поглинання ононіну (715);

0,5 – об'єм піпетки (мл);

m – маса наважки;

W – вологість сировини.

4.6.3 Півників угорських листя екстракт водний сухий

Iridis hungaricae folii aqua extractum siccum

Отис. Крупно-зернистий порошок темно-коричневого кольору, одержаний екстракцією водою очищеною з листя півників угорських (*Iris hungarica* Waldst et Kit.).

Вміст: не менше 7 % мангіферину ($C_{19}H_{18}O_{11}$, М.м. 422,33) у перерахунку на суху речовину.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Переглядають хроматограми. Послідовність зон на хроматограмі випробовуваного розчину і розчину порівняння мають відповідати зонам, наведеним нижче.

Верхня частина пластинки	
мангіферин: флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона (мангіферин) жовтувато-коричнева флуоресціююча зона блакитна флуоресціююча зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

ВИПРОБУВАННЯ

0,1 г екстракту листя півників екстрагують 1 мл метанолу *P* на УЗ – бані протягом 30 хвилин.

Розчин порівняння: 10 мг мангіферину 10 мл метанолу *P*.

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

Пластика: ТШХ – пластика із шаром силікагелю F_{254} *P* розміром 5×10 см

Нанесення: 4 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння, смугами по 6 мм

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

Висушування: на повітрі.

Виявлення: обприскують розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру *P* у метанолі *P*, потім обприскують розчином 50 г/л макроголу 400 *P* у метанолі *P*, висушують на повітрі протягом 30 хв. Переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати. на хроматограмі випробовуваного розчину можуть проявлятися світло – коричнева та блакитна флуоресціюючі зони нижче зони, відповідно мангіферину на хроматограмі розчину порівняння.

Втрата в масі при висушуванні. Не більше 8 %. 1,0000 г сухого екстракту сушать при температурі 105 °С впродовж 2 годин.

Загальна зола. Не більше 10 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Випробуваний розчин. 0,1 г сухого екстракту поміщають у колбу місткістю 50 мл, розчиняють та доводять об'єм етанолом (80 % об/об). За необхідністю фільтрують.

Оптичну густину вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 369 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Компенсаційний розчин – етанол (80 % об/об). Розрахунок суми ксантонів у перерахунку на мангіферин проводять за формулою:

$$X = \frac{A \times 25 \times 25 \times 100}{E_{1cm}^{1\%} \times m \times (100 - W)}$$

де:

A – оптична густина випробуваного розчину;

$E_{1cm}^{1\%}$ – питомий показник поглинання мангіферину (295);

m – маса наважки;

W – вологість сировини.

Висновки до розділу 4

1. Розроблено оптимальні технологічні умови одержання сухих екстрактів з листя та кореневищ півників угорських з використанням у якості екстрагентів води очищеної та етанолу (70 % об/об).
2. Встановлено фармакологічну дію одержаних екстрактів: протизапальну, анаболічну (*in vivo*), антимікробну, антигерпетичну, антиоксидантну (*in vitro*).
3. Досліджено гостру токсичність сухих екстрактів – екстракти віднесено до V класу токсичності (практично нетоксичні речовини) за класифікацією К. К. Сидорова.
4. Вперше проведено дослідження антиексудативної активності сухих екстрактів листя і кореневищ півників угорських. На моделі гострого ексудативного набряку у щурів сухі екстракти з листя та кореневищ півників угорських в дозі 150 мг/кг виявили антиексудативну активність – найбільш виражений ефект мав сухий екстракт кореневищ півників угорських (41,6 %).
5. Вперше досліджено анаболічну активність сухих екстрактів листя і кореневищ півників угорських. Екстракти кореневища проявляв помірний анаболічний ефект у дозі 150 мг/кг.
6. Вперше досліджено антимікробну активність листя та кореневищ півників угорських – у концентрації 1 % проявляють антимікробну

активність до наведених штамів мікроорганізмів та грибів. Екстракт листя має більш виражену дію. До препаратів більш чутливі *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Basillus Subtilis*, *Candida albicans*. Сухі екстракти проявляють помірну дію на *Proteus vulgaris* та *Pseudomonas aeruginosa*.

7. Вперше одержані екстракти з листя та кореневищ сортових півників, дослідження їх антимікробна активність – у концентрації 1 % проявляють бактеріостатичну активність до наведених штамів мікроорганізмів та грибів. Екстракт листя має більш виражену дію. До препаратів більш чутливі *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Basillus Subtilis*, *Candida albicans*. Сухі екстракти проявляють помірну дію на *Proteus vulgaris* та *Pseudomonas aeruginosa*
8. Вперше досліджено антигерпетичну активність сухого екстракту листя півників угорських. Найбільшу ефективність мав розчин екстракту у концентрації 100 мкг/мл, при якій кількість клітин, що вижили під дією вірусу, склала 27,08 %.
9. Розроблено проекти МКЯ «Півників угорських листя екстракт сухий», «Півників угорських кореневища екстракт сухий», «Півників угорських листя екстракт водний сухий».

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В., Орлова Т.Г. Скринінг накопичення біологічно активних речовин в ірисі угорському впродовж вегетаційного періоду. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12. № 2 (30). С. 135–140 (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, інтерпретації одержаних даних, оформленні статті).

2. Керімова Г., Кречун А., Рибак В., Михайленко О., Ковальов В. Дослідження антиексудативної активності сухих екстрактів листя та кореневищ *Iris hungarica*. *Ukrainian Biopharmaceutical Journal*. 2019. № 4 (61). Р. 55–58. (Особистий внесок – брала участь у проведенні експерименту, пробопідготовці, оформленні статті).
3. Ковальов В. М., Кречун А. В., Михайленко О. О., Домарьов А. П. Спосіб одержання засобу з антигерпетичною, антиоксидантною та антимікробною активністю з листя півників угорських : пат. на корисну модель 135620 Україна. № u 2019 00863 ; заявл. 28.01.19 ; опубл. 10.07.19. Бюл. № 13. (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, проведення патентного пошуку, інтерпретація даних, оформлення патенту).
4. Kovalev V. M., Mykhailenko O. O., Krechun A. V., Osolodchenko T. P. Antimicrobial activity of extracts of *Iris hungarica* and *Iris sibirica*. *Анали Мечниковського Інституту*. 2017. № 2. С. 57–64 (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, інтерпретації одержаних даних, оформлення статті)
5. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В. Фенольні сполуки півників угорських та їх антибактеріальна активність. *Хімія природних сполук* : матеріали конф., 21–22 квіт. 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 22–23.
6. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В. Перспективність створення антимікробного засобу на основі півників. *Ліки–людині* : матеріали І Міжнар. наук.–практ. конф., 30–31 берез. 2017 р. Харків, 2017. С. 186.
7. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М. Розробка методики одержання сухих екстрактів з листя та кореневищ сортових півників. *Актуальні питання медичної теорії та практики* : зб. матеріалів міжнар. наук.–практ. конф., м. Дніпро, 8–9 груд. 2017 р. Дніпро :

- Організація наукових медичних досліджень «Salutem», 2017. С. 113–114.
8. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М. Встановлення основних технологічних показників сировини півників гібридних сортів «Mini Дунамо» та «Indian Pow Wow. *Медична наука та практика XXI століття* : зб. тез наук. робіт учасників міжнар. наук.–практ. конф., м. Київ, 2–3 лют. 2018 р. Київ : «Київський медичний науковий центр», 2018. С. 104–107.
 9. Кречун А. В., Михайленко О. О. До питання стандартизації сировини півників. *Управління якістю в фармації* : матеріали XII наук.-практ. конф., м. Харків, 18 трав. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 106–107.
 10. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М. Макро– та мікроскопічний аналіз сировини півників угорських. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.–практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 20–й річниці заснування Дня фармац. працівника України, м. Харків, 19–20 верес. 2019 р. : у 2 т. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 224–226.
 11. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В. Оптимальні терміни заготівлі кореневищ іриса угорського (*Iris hungarica* Waldst. et Kit.) : інформ. лист № 374–2018. Вип. 47 з проблеми «Фармація». Київ, 2018. 4 с.
 12. Михайленко О. О., Ковальов В. М., Буйдін Ю. В., Кречун А. В. Оптимальні умови вирощування лікарської та ефіроолійної рослинної сировини кореневищ сортових ірисів (*Iris hybrida*) в Україні : інформ. лист № 375–2018. Вип. 48 з проблеми «Фармація». Київ, 2018. 4 с.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі викладено експериментальне вирішення наукової задачі пошуку нової рослинної сировини протизапальної, анаболічної, антимікробної та антигерпетичної дії. Проведено комплексне фармакогностичне дослідження дикорослої рослини півників угорських та 5 культивованих сортів півників. Розроблено методики стандартизації досліджуваної рослинної сировини та субстанцій на їх основі.

1. За допомогою якісних реакцій та хроматографічних методів аналізу у листі і кореневищах півників угорських та сортових півників виявлено наявність карбонових кислот, зокрема аліфатичних насичених та ненасичених монокарбонових кислот (жирних), аліфатичних ароматичних, амінокислот, ізофлавоноїдів, флавоноїдів, ксантонів, вуглеводнів та терпенів.
2. За допомогою методу газової хроматографії-мас-спектрометрії встановлений вміст вільних амінокислот у кореневищі півників угорських, що склав 6,25 %: найбільший вміст у кореневищі півників угорських піроглутамової кислоти у перерахунку на глутамову кислоту, що складає більше 50 % від загальної кількості амінокислот у сировині. Аланін міститься у кількості 22,82 % від загального місту амінокислот у сировині. Інші ідентифіковані амінокислоти, у тому числі незамінні – валін, лейцин, ізолейцин, мають менший вміст – від 4,55 до 7,63 % від загального місту амінокислот у сировині півників угорських.
3. Методом спектрофотометрії у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників встановлено вміст основних груп БАР – флавоноїдів, ізофлавоноїдів, гідроксикоричних кислот, ксантонів. Встановлено, що в листях півників у більшій кількості накопичуються гідроксикоричні кислоти (1,14-4,2 %) та ксантони (0,33-2,47 %), вміст флавоноїдів у листі та кореневищі півників знаходиться в середніх

значеннях 1,04-3,55 %. Вміст ізофлавоноїдів, в середньому, вищий у кореневищі півників та складає від 1,07 до 3,15 % . Методом ВЕРХ у кореневищі півників угорських ідентифіковано 7 сполук: мангіферин, текторидин, нігріцин-4'-О- β -D-глюкопіранозид, іристекторигенін В, нігріцин, іригенін, 5,6-дигідрокси-7,8,3',5'-тетраметоксиізофлавоон; у листі – 2 сполуки: хлорогенова кислота, мангіферин. Методом ВЕТШХ встановили вміст ксантонового глікозиду мангіферину у листях та кореневищах півників угорських, який склав 4, 85 % і 2,47 % відповідно.

4. Вперше методом хромато-мас-спектрометрії встановлений вміст ефірної олії листя та кореневищ півників угорських та сортових півників. Вміст основних компонентів ірисової олії різниться: в листях півників частка α -ірону складає від 0,15 до 1,65 % (найбільше в *I. hybrida* 'Galleon Gold'), β -іонон-5,6-епоксиду від 0,11 до 2,29 % (*I. hybrida* 'Galleon Gold'), β -іонону 0,04-1,28 % (*I. hybrida* 'Galleon Gold'), транс-2,6- γ -ірону від 0,06 до 3,16 % (*I. hybrida* 'Galleon Gold'). У кореневищі півників вміст α -ірону 0,25-1,29% (*I. hybrida* 'Little Dream'), β -іонон-5,6-епоксиду 0,04-0,64 % (*I. hybrida* 'Galleon Gold'), β -іонону 0,19-0,52 % (*I. hybrida* 'Little Dream'), транс-2,6- γ -ірону 0,29 – 4,22 % (*I. hybrida* 'Galleon Gold'), псевдоіонон, ідентифікований лише у трьох сортах, міститься у кількості 0,37-1,77 % (*I. hybrida* 'Little Dream').
5. Методом хромато-мас-спектрометрії вперше проведений аналіз жирнокислотного складу кореневищ півників угорських. У кореневищі ідентифіковано 19 жирних кислот, з них 12 – насичених (75,5 % від суми жирних кислот), 7 – ненасичених (24,5 %); у листі – 15 жирних кислот, з яких 10 – насичених (63,03 %), 5 – ненасичених (36,97 %). Також встановлений компонентний вміст карбонових кислот: ідентифіковано 17 кислот у листі, 15 – у кореневищах півників угорських. Листя півників угорських містять 25,42 % насичених двоосновних кислот, 36,66 % - гідроксикислот, 4,96 % - фенолокислот.

Кореневища містять: двоосновні насичені кислоти (25,35 %), фенолокислоти (4,4 %), гідроксикислоти (9,28 %). Серед аліфатичних карбонових кислот в листях та кореневищах півників угорських в найбільшій кількості містяться щавелева, яблунева і лимонна кислоти. Також встановлено вміст метоксибурштинової і суберинової кислот, характерних для даного виду.

6. Вперше методом атомно-емісійної спектроскопії з дуговим збудженням встановлений якісний і кількісний вміст мінерального комплексу у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників. Всього ідентифіковано 19 елементів. За кількісним вмістом домінує калій (K), кальцій (Ca) і магній (Mg), більша кількість яких накопичуються у листі півників. Такі елементи як залізо (Fe), алюміній (Al), натрій (Na), стронцій (Sr), цинк (Zn) та кремній (Si) мають більший вміст у кореневищі півників.
7. Вперше з кореневищ півників угорських методом колонкової хроматографії було виділено 18 речовин. Серед виділених речовин флавоноїди (кверцетин, апігенін, ембінін, гіперозид), ізофлавоноїди (геністеїн, даїдзеїн, формононетин, текторидин, текторигенін, іригенін, ононін, нігріцин), ксантони (мангіферин, ізомангіферин), гідроксикоричні кислоти (хлорогенова, неохлорогенова, кавова, ферулова). Структуру речовин встановлювали фізико-хімічними методами аналізу.
8. Розроблений новий спосіб одержання мангіферину з листя півників угорських, який включає в себе поетапне очищення сировини різними розчинниками та виділення ксантонового глікозиду екстракцією бутанолом. Вихід чистого продукту склав 1,05 %.
9. Вперше встановлено макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки сировини півників угорських. Будова листа ізолатеральна, характеризується наявністю аеренхіми та сосочковидних виростів;

провідні пучки тетрацитного апарату – колатеральні відкриті. Основна тканина кореневища – паренхіма з чисельними включеннями у виглядів стилоїдів; дрібні центрофлоемні провідні пучки розташовані хаотично по всьому центральному циліндру. Провідна система коренів представлена провідними пучками радіальної будови. Ендодерма з U-подібними потовщеннями.

10. Розроблено технологію одержання сухих екстрактів з листя та кореневищ півників угорських, проведено їхню стандартизацію. Фармакологічними дослідженнями встановлено для них гостру токсичність (V клас токсичності за класифікацією К.К. Сидорова), антиексудативну, анаболічну, антигерпетичну та антимікробну (для півників угорських та 5 сортових півників) активність.
11. Розроблено проекти МКЯ «Півників угорських листя екстракт сухий», «Півників угорських кореневища екстракт сухий», «Півників угорських листя екстракт водний сухий».

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Фомін О. В., Бордзіловський Є. І. Рід Півники–*Iris* (Tournef.) L. Флора УРСР. Київ. Вид-во Акад. наук Укр. РСР. 1950. С. 283–303.
2. Непоп–Айдачич Л. В. Топоніми, похідні від назв квітів, у польській мовній картині світу. Компаративні дослідження слов'янських мов і літератур. *Пам'яті академіка Леоніда Булаховського*. 2010. № 12. С. 120–125.
3. Вакулик І. І., Шинкарук О. В., Багацька О. М. Семантичне поле термінів ландшафту і назви рослин, які їх супроводжують. *Міжнародний філологічний часопис*. Сер.: Філологічні науки. 2018. № 292. С. 192–202.
4. Родионенко Г. И. Ирисы. М. : «Колос», 1981. С. 16–20.
5. Родионенко Г. И. Новая система рода *Iris* (Iridaceae). *Ботанический журнал*. 2009. Т. 94, № 3. С. 423–435.
6. Mathew B. A. Taxonomic revision of *Iris* subgenus *Hermodactyloides* (Iridaceae). *Plant taxonomy, phytogeography and related subjects*. 1989. P. 81–109.
7. Орлова Л. Д., Власенко Є. М. Напрямки забезпечення індивідуального рівня охорони *iris hungarica waldst. et kit.* на території ботанічної пам'ятки природи «заїчинські схили» (Полтавська область). *Проблеми відтворення та охорони біорізноманіття України* : Всеукр. наук.–практ. конф., 14 квіт. 2016 р. Полтава, 2016. С. 44–47.
8. Мамчур Т., Карпенко В., Поліщук О. Колекція видів і сортів роду *Iris* L. Уманського національного університету садівництва. *Тернопільські біологічні читання* : матеріали всеукр. наук.–практ. конф. з міжнар. участю. Тернопіль, 2017. С. 65–70.
9. Black P. Irises. *The Bulletin of the American Iris Society*. 2011. vol. 93. N 2. Pp. 40–41

- 10.Буйдін Ю., Скрипка Г. Результати первинної сортооцінки ірису гібридного (*iris hybrida hort*) при інтродукції в лісостеп України. *Інтродукція та збереження рослинного різноманіття*. 2009. № 19–21. С. 47–48.
- 11.Warburton B. A., Hamblen M. B. The world of irises. Philadelphia: American Iris Society. 1978. P. 494.
- 12.Bulletin of the American Iris Society/ ed. by R. S. Sturtevant. Philadelphia: American Iris Society. 1971. № 200–207. P. 76-81.
- 13.Михайленко О. О., Ковальов В. М., Буйдін Ю. В., Кречун А. В. Оптимальні умови вирощування лікарської та ефіроолійної рослинної сировини кореневищ сортових ірисів (*Iris hybrida*) в Україні : інформ. лист № 375–2018. Вип. 48 з проблеми «Фармація». Київ, 2018. 4 с.
- 14.Скрипка Г. І. Сезонний ритм росту і розвитку низькорослих сортів *Iris hybrida hort*. в умовах Лісостепу України. *Інтродукція рослин*. 2013. № 4. С. 57–61.
- 15.Taurin. L. (SDB) 'Galleon Gold'. The American Iris society, Iris encyclopedia. 2019 [електронний ресурс] - Спосіб доступу: <http://wiki.irises.org/Sdb/SdbGalleonGold#References> (дата звернення: 14.04.2020)
- 16.Декоративные многолетники: результаты интродукции и перспективы использования в народном хозяйстве. Минск: Беларуская навука, 2008. С. 214.
- 17.Historic Iris Preservation Society [електронний ресурс] - <https://www.historiciris.org/listings/indian-pow-wow/> (дата звернення: 14.04.2020)
- 18.Taurin. L. (SDB) ' Little Dream'. The American Iris society, Iris encyclopedia. 2019 [електронний ресурс] - Спосіб доступу: <http://wiki.irises.org/Sdb/SdbLittleDream#References> (дата звернення: 14.04.2020)

19. Frazer. L. (SDB) 'Mini Dynamo'. The American Iris society, Iris encyclopedia. 2019 [електронний ресурс] - Спосіб доступу: <http://wiki.irises.org/Sdb/SdbMiniDynamo> (дата звернення: 14.04.2020)
20. Physiological mechanisms of adaptation to adverse winter conditions of Iris hybrida hort. in the Ukrainian Forest–Steppe / Skrypka G. I. et al. *Plant Introduction*. 2012. Vol. 55. P. 68–72.
21. Швець Т. А. Колекція трав'янистих рослин Національного дендрологічного парку Софіївка НАН України. *Автохтонні та інтродуковані рослини*. 2014. № 10. С. 175–182.
22. Поліщук О. О., Карпенко В. В., Мамчур Т. В. Рід Iris l. у культурі та в озелененні. Київ, 2018. 156 с.
23. Van Kleunen M., Johnson S. D., Fischer M. Predicting naturalization of southern African Iridaceae in other regions. *Journal of Applied Ecology*. 2007. Т. 44. № 3. С. 594-603.
24. Arnold M. Iris nelsonii (Iridaceae): origin and genetic composition of a homoploid hybrid species. *American Journal of Botany*. 1993. Т. 80. № 5. P. 577-583.
25. Raycheva T., Stoyanov K., Denev I. Genetic diversity and molecular taxonomy study of three genera from Iridaceae family in the Bulgarian flora based on ISSR markers. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2011. Т. 25. № 3. С. 2484-2488.
26. Kovalev V. N., Mikhailenko O. A., Vinogradov B. A. Aromatic compounds and terpenoids of Iris hungarica. *Chemistry of Natural Compounds*. 2014. Vol. 50. № 1. P. 161–162.
27. Исаев Д. И. Ксантоны корневищ Iris imbricata Lindl. и Iris pseudacorus L. *Фармаком*. 2009. № 4. С. 24-28.
28. Wang Hui, Cui Yanmei, Zhao Changqi. Flavonoids of the genus Iris (Iridaceae). *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 2010. Vol. 10. № 7. P. 643–661.

29. A new coumaronochromone and phenolic constituents from the leaves of *Iris bungei* Maxim / Shu P. et al. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2009. Vol. 37. № 1. P. 20–23.
30. Characterisation and quantification of flavonoids in *Iris germanica* L. and *Iris pallida* Lam. resinoids from Morocco / Roger B. et al. *Phytochemical Analysis*. 2012. Vol. 23. № 5. P. 450–455.
31. Phenolic, flavonoid contents, anticholinesterase and antioxidant evaluation of *Iris germanica* var; Florentina / Ullah F. et al. *Natural Product Research*. 2016. Vol. 30. № 12. P. 1440–1444.
32. Determination of the xanthone glycoside mangiferin content in *Iris*, *Gentiana* and *Hedysarum* species / Denisova O. A. et al. *Khimiko–Farmatsevticheskii Zhurnal*. 1980. Vol. 14. № 2. P. 76–77.
33. Major secondary metabolites of *Iris* spp. / Kukula–Koch W. et al. *Phytochemistry Reviews*. 2015. Vol. 14. № 1. P. 51–80.
34. Kaššák P. Screening of the chemical content of several Limniris group Irises. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2014. Vol. 3. № 2. P. 11–14.
35. Kaššák P. Total flavonoids and phenolics content of the chosen genus *Iris* species. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*. 2013. Vol. 60. № 8. P. 119–126.
36. Mykchailenko O. O., Kovalyov M. V. Phenolic compounds of the genus *Iris* plants (Iridaceae). *Česká a slovenská farmacie*. 2016. Vol. 2 (65). P. 70–77.
37. Al-Khateeb Ekbal, Samira Finjan. Isolation and identification of some phytochemical compounds from different parts of *Iris nigricans*. *European Scientific Journal* 2013. Vol. 9. № 6. P. 32–37.
38. C-glycosylflavones from the leaves of *Iris tectorum* Maxim. / Ma Y. et al. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2012. Vol. 2. № 6. P. 598–601.
39. Wang Hui, Yanmei Cui, Changqi Zhao. Flavonoids of the genus *Iris* (Iridaceae). *Mini reviews in medicinal chemistry*. 2010. Vol. 10. № 7. P. 643–661.

40. Kaššák, P. Secondary metabolites of the chosen genus *Iris* species. *Acta Universitatis agriculturae et silviculturae Mendelianae brunensis*. 2013. Vol. 60. № 8. P. 269-280.
41. Kaššák P. Screening of the presence of Iron in the rootstocks of the chosen *Iris* species. *Proceedings in ARSA–Advanced Research in Scientific Areas*. 2012. № 1. P. 1487-1489.
42. Kovalev V. N., Mikhailenko O. A., Vinogradov B. A. Aromatic compounds and terpenoids of *Iris hungarica*. *Chemistry of natural compounds*. 2014. Vol. 50. № 1. P. 161-162.
43. Chemical composition and biological activities of essential oil from the rhizomes of *Iris bulleyana* / Deng G. B. et al. *Agricultural Sciences in China*. 2009. Vol. 8. № 6. P. 691–696.
44. Baker C., Borneman J., Abecassis J., Foxman E. The homeopathic pharmacopoeia of the United States. Southeastern: Homeopathic Pharmacopoeia Convention of the United States, 2002. P. 214.
45. The Pharmacopeia of the United States of America: The United States pharmacopeia. 1851. P. 51
46. British Herbal Pharmacopoeia / British Herbal Medicine Association. London, 1996. P. 41.
47. British Pharmaceutical Codex, [Pharmaceutical Society of Great Britain](#), 1923. P. 578-579.
48. Blumenthal M. The Complete German Commission E Monographs, Special Expert Committee of the German Federal Institute for Drugs and Medical Devices, Austin. 1998. P. 230-237
49. State Pharmacopoeia Commission of the PRC. Pharmacopoeia of the People's Republic of China. Beijing: People's Medical Publishing House, 2005. Vol. 1. P. 123.
50. Monographs for Quality Evaluation of Chinese Crude Drugs. 2015. pp. 394-399.

51. The State Pharmacopoeia Commission of PR China – Pharmacopoeia of the People's Republic of China. Chemical Industry Press, Beijing, 1995. Vol. 1. P. 253.
52. ФС 42-17-72 «Корневища касатика желтого». 1972.
53. Кречун А. В., Михайленко О. О. До питання стандартизації сировини півників. *Управління якістю в фармації* : матеріали XII наук.–практ. конф., м. Харків, 18 трав. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 106–107.
54. Тихомирова Л. И., Базарнова Н. Г., Ильичёва Т. Н. Скрининг химического состава и биологической активности *Iris sibirica* L. сорт Cambridge. *Химия растительного сырья*. 2016. № 3. С. 22–23.
55. Изофлавоноиды корневищ *Iris imbricata* Lindl. и *Iris pseudacorus* L. / Исаев Д. И. и др. *До видання Доповнення 4 до Державної Фармакопеї України*, 2010. С. 38.
56. Бекеев С. Ш. Алданов И. К., Доброхотов Д. А. Изучение возможности использования свежих корневищ и листьев Ириса германского для получения гомеопатических препаратов. *Электронное научное издание Альманах Пространство и Время*. 2018. Т. 16. № 3–4. С. 22–23.
57. Тихомирова Л. И. Фармаколого–биохимическое обоснование практического использования некоторых представителей рода *Iris* L. (обзор). *Химия растительного сырья*. 2015. № 3. С. 22–23.
58. Тихомирова Е. А., Сорокина А. А. Растения рода ирис: современное состояние и перспективы использования в медицине. *Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств* : VII Междунар. науч.–метод. конф. Воронеж, 2018. С. 331–336.
59. Абдулхаков И. У., Кароматов И. Д., Кароматов С. И. Лекарственное растение ирис, касатик. *Биология и интегративная медицина*. 2016. № 3. С. 71–80.

60. Shedding the light on Iridaceae: Ethnobotany, phytochemistry and biological activity / Abdel Nasser B. Singab et al. *Industrial Crops and Products*. 2016. Vol. 92. P. 308–335.
61. Immunomodulatory activity of isoflavones isolated from *Iris germanica* (Iridaceae) on T-lymphocytes and cytokines / N. Nazir et al. *Phytotherapy Research*. 2009. Vol. 23. № 3. P. 428–433.
62. Irisolidone, an isoflavone metabolite, represses JC virus gene expression via inhibition of Sp1 binding in human glial cells / Kim S. Y. et al. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2006. Vol. 344. № 1. P. 3–8.
63. Wang H., Cui Y., Zhao C. Flavonoids of the genus *Iris* (Iridaceae). *Mini reviews in medicinal chemistry*. 2010. Vol. 10. № 7. P. 643–661.
64. Oh K. B., Kang H., Matsuoka H. Detection of antifungal activity in *Belamcanda chinensis* by a single-cell bioassay method and isolation of its active compound, tectorigenin. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2001. Vol. 65. № 4. P. 939–942.
65. Inhibitory effects of Iridogenin from the rhizomes of *Belamcanda chinensis* on nitric oxide and prostaglandin E₂ production in murine macrophage RAW 264.7 cells / Ahn K. S. et al. *Life Sciences*. 2006. Vol. 78. № 20. P. 2336–2342.
66. Anti-inflammatory effects of 6'-O-acetyl mangiferin from *Iris rossii* Baker via NF- κ B signal blocking in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells / J. H. Jang et al. *Chemico-Biological Interactions*. 2016. Vol. 257. P. 54–60.
67. Anti-inflammatory effects of 6'-O-acetyl mangiferin from *Iris rossii* Baker via NF- κ B signal blocking in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells / J. H. Jang et al. *Chemico-Biological Interactions*. 2016. Vol. 257. P. 54–60.
68. Antioxidant flavonoids and isoflavonoids from rhizomes of *Iris pseudopumila* / D. Rigano et al. *Planta Medica*. 2007. Vol. 73. № 01. P. 93–96.

69. Antioxidant activities of isoflavones from the rhizomes of *Belamcanda chinensis* on carbon tetrachloride–induced hepatic injury in rats / Jung S. H. et al. *Archives of Pharmacal Research*. 2004. Vol. 27. № 2. P. 184–188.
70. Орешко Н. А., Бовдей Н. А., Киселев П. А. Получение и характеристика антиоксидантной активности экстрактов *Iris domestica* и их отдельных компонентов. *Естественные и точные науки. Биология*. 2012. Т. 7. Ч. 1–2. С. 228–237.
71. Matkowski A., Kus P., Goralska E., Wozniak D. Mangiferin – a bioactive xanthonoid, not only from mango and not just antioxidant / Matkowski A. et al. *Mini reviews in medicinal chemistry*. 2013. Vol. 13. № 3. P. 439–455.
72. Lee H. U., Bae E. A., Kim D. H. Hepatoprotective effect of tectoridin and tectorigenin on tert–butyl hydroperoxide–induced liver injury. *Journal of Pharmacological Sciences*. 2005. Vol. 97. № 4. P. 541–544.
73. Anti–angiogenic and anti–tumor activities of isoflavonoids from the rhizomes of *Belamcanda chinensis* / Jung S. H. et al. *Planta Medica*. 2003. Vol. 69. № 07. P. 617–622.
74. Mangiferin inhibits tumor necrosis factor– α –induced matrix metalloproteinase–9 expression and cellular invasion by suppressing nuclear factor– κ B activity / Dilshara M. G. et al. *BMB Reports*. 2015. Vol. 48. № 10. P. 559.
75. Anti–hyperglycemic activity of *iris ensata* thunb root extracts in normal, glucose fed and streptozotocin induced diabetic rats / Suresh D. K. et al. *Advances in Pharmacology and Toxicology*. 2010. Vol. 11. № 3. P. 93.
76. Hypoglycemic effect of *Belamcanda chinensis* leaf extract in normal and STZ–induced diabetic rats and its potential active faction / Wu C., et al. *Phytomedicine*. 2011. Т. 18. № 4. P. 292–297.
77. Krechun A. V. Perspectiveness of the use of some representatives of the genus *Iris* L. *Topical issues of new drugs development : abstracts of XXIV international scientific and practical conference of young scientists and student*, April 20, 2017. Kh., 2017. Vol. 1. P. 85–86.

78. Кушнір А. І., Вольська М. С. Декоративні рослини розсадника ПП Лірис та особливості їх використання на експозиційній ділянці // *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України*. Сер.: Лісівництво та декоративне садівництво. 2013. № 187 (3). С. 39–43.
79. Голиков К. Самые популярные ирисы в России и Северной Америке. *Цветоводство*. 2010. № 3. С. 26–29.
80. Вечернина Н. А. Особенности регенерации и размножения растений рода *Iris* (Iridaceae) in vitro. *Растительные ресурсы*. 2004. Т. 40. № 4. С. 56–56.
81. Harborne J. B., Williams C. A. The phytochemical richness of the Iridaceae and its systematic significance. *Annali di botanica*, 2000. Vol. 58. P. 43–50.
82. Миронова Л. Н., Реут А. А. Повышение продуктивности представителей рода *Iris* L. при интродукции в Башкирии. *Актуальность идей ВН Хитрово в исследовании биоразнообразия России*. 2014. С. 226–229.
83. Государственная фармакопея СССР: вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. 11 – е изд., доп. М. : Медицина, 1987. С. 144–147.
84. Государственная фармакопея СССР: вып. 2. Общие методы анализа ЛРС. МЗ СССР. 11 – е изд., доп. М. : Медицина, 1989. С. 201–204.
85. Дослідження фенольних сполук хризантеми садової багаторічної (*Chrysanthemum* × *Hortorum* Bailey) / С. М. Марчишин и др. *Медична та клінічна хімія*. 2016. Т. 18, № 2. С. 48–53.
86. Клепач Г. М., Карп'як І. В. Дослідження способів екстракції біологічно активних речовин із пижми звичайної (*Tanacetum vulgare* L.). *Науковий часопис Національного педагогічного університету імені М.П. Драгоманова*. 2013. Вип. 5. С. 75–80.
87. Шульга Л. І. Якісна ідентифікація біологічно активних речовин настойки «Касдент». *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2014. № 23 (4). С. 413–417.

- 88.Ковалев В. Н., Михайленко О. А., Ковалев С. В. Кумарины ириса болотного (*Iris pseudacorus* L.). *Химия растительного сырья*. 2013. № 3. С. 201–205.
- 89.Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.
- 90.Гарник М. С. Дослідження фенольних сполук розхідника звичайного (*Glechoma hederacea* L.). *Фармацевтичний часопис*. 2015. № 3. С. 14–18.
- 91.Якісний та кількісний склад органічних кислот препарату Біовір / Коцюмбас І. Я. та ін. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина*. 2015. № 7. Р. 163-166.
- 92.Попова Н. В. Гідроксикоричні кислоти сортів м'яти перцевої. *Фітотерапія*. 2013. № 2. С. 60-64.
- 93.Пазюк Д. М., Вельма В. В., Кисличенко В. С. Дослідження гідроксикоричних кислот в коренеплодах моркви посівної. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. ПЛ Шупика*. 2015. № 24 (5). С. 172–176.
94. Naturally occurring xanthenes: chemistry and biology / Negi, J. S. et al. *Journal of Applied Chemistry*, 2013. 1-9
- 95.Krechun A. V., Mykhailenko O. O., Kovalyov V. M. Organic and hydrocinnamic acids of *Iris hungarica*. *Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации* : материалы респ. науч.–практ. конф. с междунар. участием. Ташкент, 2016. С. 6–7.
- 96.Krechun A. V., Mykhailenko O. O. Primary screening of the biologically active substances of *Iris hungarica* Waldst. Et Kit. *Relevant issues of modern medicine: the experience of Poland and Ukraine* : International research and practice conference. Lublin, 2017. P. 117–120.

97. Krechun A. V. The use of thin-layer chromatography in analysis of xanthones of plant objects. *Topical issues of new medicines development : матеріали XXVI Міжнар. наук.–практ. конф. молодих учених та студентів*, м. Харків, 10–12 квіт. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. Р. 49–50.
98. Isolation of isoflavones from *Iris kashmiriana* Baker as potential anti proliferative agents targeting NF-kappaB / Alam A. et al. *Phytochemistry*. 2017. Vol. 136. P. 70-80.
99. Isoflavone composition, total polyphenolic content, and antioxidant activity in soybeans of different origin / Tepavčević V et al. *Journal of medicinal food*. 2010. Vol. 13. № 3. P. 657-664.
100. Пузак О. А., Упир Л. В., Кисличенко В. С. Дослідження вуглеводів листя абрикоса звичайного (*Armeniaca vulgaris* Lam.). *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2009. № 4. С. 30–34.
101. Цуркан О. О., Ковальчу Т. В., Бурмака О. В. Отримання та дослідження настойки та сухого екстракту конюшини лучної. *Фітотерапія*. 2010. № 1. С. 91–95.
102. Кречун А. В., Михайленко О. А. Предварительное изучение биологически активных веществ некоторых сортов рода *Iris* L. методом хроматографии. *Актуальные вопросы современной медицины и фармации 2017 : материалы 69-й итоговой науч.–практ. конф. студентов и молодых ученых*, г. Витебск, ВГМУ, 19–20 апр. 2017 г. Витебск : ВГМУ, 2017. С. 199–200.
103. Flavone deglycosylation increases their anti-inflammatory activity and absorption / Hostetler G. and al. *Molecular nutrition & food research*. 2012. Vol. 56. № 4. P. 558-569.
104. Four new flavones and a new isoflavone from *Iris bungei* / Choudhary, M. I. et al. *Journal of natural products*. 2001. Vol. 64. № 7. P. 857-860.

105. Boltenkov E. V., Rybin V. G., Zarembo E. V. Flavones from callus tissue of *Iris ensata*. *Chemistry of natural compounds*. 2005. Vol. 41. № 5. P. 539-541.
106. Авідзб Ю. Н., Кошовий О. М., Кухтенко О. С. Исследование продуктов комплексной переработки листьев эвкалипта после получения эфирного масла. *Український біофармацевтичний журнал*. 2014. № 2. С. 42–45.
107. Young V. R., Pellett P. L. Plant proteins in relation to human protein and amino acid nutrition. *The American journal of clinical nutrition*. 1994. Vol. 59. № 5. P. 1203-1212.
108. Кошовий О. М., Комісаренко А. М. Амінокислотний та мінеральний склад екстрактів із листя евкаліпту. *Фармаком*. 2004. № 4. С. 57-61.
109. Хроматографічний аналіз амінокислот рослин родини Iridaceae / А. В. Кречун та ін. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези доп. Всеукр. наук.–практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 80–річчю з дня народж. д-ра фармац. наук, проф. О. М. Гайдукевича, 12–13 квіт. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. 271 с.
110. Данилова, О. І., Решта, С. П. Отримання олігомерів із рослинної сировини з антиоксидантними властивостями. *Наукові праці Одеської національної академії харчових технологій*. 2014, № 46 (1). С. 83-88.
111. Державна фармакопея України / ДП “Науково–експертний фармакопейний центр”. 1–е вид., 2 допов. Харків : Держ. п–во «Науковоекспертний фармакопейний центр», 2008. 620 с.
112. Хавинсон В. Х., Тарновская С. И., Линькова Н. С. Роль пептидной связи в реализации биологической активности коротких пептидов. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2014. Т. 46. С. 238–241.

113. Стойко Л. І., Ярошенко Т. Я. Визначення вмісту амінокислот у траві золототисячника звичайного. *Медична та клінічна хімія*. 2014. Vol. 16. № 3. С. 137–137.
114. Койро О. О., Степанова С. І., Штриголь С. Ю. Кількісне визначення суми гідроксикоричних кислот у сировині яглиці звичайної. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2009. Т. 4. № 2. С. 52-55.
115. Зарівна Н. О., Вронська Л. В. До питання стандартизації трави чебрецю повзучого за вмістом флавоноїдів. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2012. № 5. С. 21–26.
116. Государственная фармакопея СССР: вып. 2. Общие методы анализа ЛРС. МЗ СССР. 11 – е изд., доп. М. : Медицина, 1989. С. 370.
117. Кречун А. В., Михайленко О. О. Дослідження вмісту ізофлавоноїдів у сировині сортових півників. *Perspectives of science and education : Proceedings of the 11th International youth conference*. New York, 2019. С. 113–117.
118. Аслануков А. К., Айрапетова А. Ю., Серебряная Ф. К. Идентификация и количественное определение суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в траве копеечника кавказского (*Hedysarum saucasicum* Bieb.). *Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции* : сб. науч. тр. / под ред. М. В. Гаврилина. Пятигорск, 2009. Вып. 64. 854 с.
119. Krechun A. V., Kovalev V. N., Mykhailenko O. O. Determination of quantitative composition of xanthones in the underground organs of *Iris sibirica* and *Iris hungarica*. *Topical issues of new drugs development : abstracts of XXII international scientific and practical conference of young scientists and student*, April 23, 2015. Kh., 2015. Vol. 1. P. 80–81
120. Krechun A. V., Mykhailenko O. A., Kovalev V. N. Research of quantitative value amount of γ – piron of *iris hungarica* and *iris sibirica* leaves. *Topical issues of new drugs development : abstracts of XXIII international*

scientific and practical conference of young scientists and student, April 21, 2016. Kh., 2016. Vol. 1. P. 84–85.

121. Hellström J. K., Mattila P. H. HPLC determination of extractable and unextractable proanthocyanidins in plant materials. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2008. Vol. 56. № 17. P. 7617-7624.

122. Krechun A. V., Mykhailenko O. O., Kovalyov V. M. Determination of the xanthon glycoside mangiferin content in the rhizomes of *Iris hungarica* by HPLC method. *XIII International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds*. October 16–19. Shanghai, 2019. P. 127.

123. Скринінг накопичення біологічно активних речовин в ірисі угорському впродовж вегетаційного періоду / А. В. Кречун та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12. № 2 (30). С. 135–140.

124. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В. Оптимальні терміни заготівлі кореневищ іриса угорського (*Iris hungarica* Waldst. et Kit.) : інформ. лист № 374–2018. Вип. 47 з проблеми «Фармація». Київ, 2018. 4 с.

125. Mykhailenko O. Composition of Volatile Oil of *Iris pallida* Lam. from Ukraine. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2018. Vol. 15. № 1. P. 85-90.

126. Essential oil and aromatic plants as feed additives in non-ruminant nutrition: a review / Zeng Z. et al. *Journal of animal science and biotechnology*. 2015 Vol. 6. № 1. P. 7.

127. Kovalev V. N., Mikhailenko O. A., Vinogradov B. A. Aromatic compounds and terpenoids of *Iris hungarica*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2014. Vol. 50. № 1. P. 161–162.

128. Composition of volatiles from three *Iris* species of Turkey / Başer K. H. et al. *Journal of Essential oil Research*. 2011. Vol. 23. № 4. P. 66–71.

129. Characterisation and quantification of flavonoids in *Iris germanica* L. and *Iris pallida* Lam. resinoids from Morocco / Roger B. et al. *Phytochemical Analysis*. 2012. Vol. 23 № 5. P. 450-455.
130. Al-Jaber H. I. Variation in essential oil composition of *Iris nigricans* Dinsm.(Iridaceae) endemic to Jordan at different flowering stages. *Arabian Journal of Chemistry*. 2016. Vol. 9. P. 1190–1196.
131. Almaarri K., Zedan T. A., Albatal N. Chemical analysis of essential oils of some Syrian wild *Iris* species. *Am J Biochem Mol Biol*. 2013. Vol. 3. № 1. P. 38–49.
132. Synthesis of the natural enantiomers of irones from (+)-citronellal / Miyashita M. et al. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions*. 1982. № 1. P. 1303-1309.
133. Thiboud M. Empirical classification of odours. *Perfumes*. Dordrecht : Springer. 1994. P. 253–286.
134. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Iris pallida* Lam. / Miyashita M. et al. *Chemistry and Industry of Forest Products*. 2008. № 28. P. 7-12.
135. Al-Jaber H. I. Variation in essential oil composition of *Iris nigricans* Dinsm.(Iridaceae) endemic to Jordan at different flowering stages. *Arabian Journal of Chemistry*. 2016. №. 9. P. 1190-1196.
136. Krechun A., Mykhailenko O., Kovalyov V. Chemical compositions of the essential oil of *Irises* hybrid rhizomes. *Science and Practice 2019 : The 10th International Pharmaceutical Conference*, Lithuanian University of Health Sciences, Faculty of Pharmacy. Kaunas, 2019. P. 48.
137. Андріанов К. В., Федченкова Ю. А., Хворост О. П. Дослідження жирних кислот листя поширених сортів м'яти перцевої *Mentha piperita* L. *Фармацевтичний часопис*. 2014. № 2. С. 18–20.
138. Svanberg S. Atomic and molecular spectroscopy: basic aspects and practical applications. Berlin; Heidelberg : Springer Science & Business Media, 2012. 580 p.

139. Macro– and microelements as possible markers of quality and authenticity for fruits and derived products / R. E. Ionete et al. *Progress of Cryogenics & Isotopes Separation*. 2016. Vol. 19. № 1. P. 55–74.
140. Galam S. When humans interact like atoms. *Understanding Group Behavior*. London : Taylor & Francis Group, 2014. Vol. 1. P. 293–312.
141. The study of elemental composition of *Iris hungarica* and *irises* varieties / Kovalyov V. M et al. *Вісник фармації*. 2018. №. 4 (96). С. 9–15
142. Krechun A., Kovalyov V., Mykhailenko O. Establishment of elemental composition of the leaves and rhizomes of *Iris hybrida* hort. “Indian Pow Wow” : The International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy practice is organized by the Faculty of Pharmacy of Lithuanian Health Sciences University in collaboration with Lithuanian Pharmaceutical Association and LSMU FF Alumni Association. Kaunas, 2017. P. 73–75.
143. Державна Фармакопея України : «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 1–е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2008. Т. 2. 102 с.
144. Biologically active compounds from the rhizomes of *Iris hungarica* / Mykhailenko O. O et al. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2016. Т. 14, № 4 (56). С. 63–66.
145. Establishment of the main technological parameters of iris raw material / Kovalyov V. et al. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2019. Vol. 12. № 7. P. 3359–3364
146. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М. Встановлення основних технологічних показників сировини півників гібридних сортів «Mini Dynamo» та «Indian Pow Wow». *Медична наука та практика XXI століття* : зб. тез наук. робіт учасників міжнар. наук.–практ. конф., м. Київ, 2–3 лют. 2018 р. Київ : «Київський медичний науковий центр», 2018. С. 104–107.

147. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М. Макро– та мікроскопічний аналіз сировини півників угорських. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.–практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 20–й річниці заснування Дня фармац. працівника України, м. Харків, 19–20 верес. 2019 р. : у 2 т. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 224–226.
148. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М. Розробка методики одержання сухих екстрактів з листя та кореневищ сортових півників. *Актуальні питання медичної теорії та практики* : зб. матеріалів міжнар. наук.–практ. конф., м. Дніпро, 8–9 груд. 2017 р. Дніпро : Організація наукових медичних досліджень «Salutem», 2017. С. 113–114.
149. Державна Фармакопея України : «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 1–е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2008. Т. 2. 46 с.
150. Загальна гігієна : посіб. для практ. занять / за ред. І. І. Даценко. Львів, 2001. 472 с.
151. Про захист населення від інфекційних хвороб : Закон України № 1645–III від 6 квіт. 2000 року.
152. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. Стефанова О. В. Київ : Авіцена, 2001. С. 528.
153. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Страсбург, 18 березня 1986 року. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137 (дата звернення: 10.11.2019).
154. Guide for the care and use of laboratory animals. Washington : The National Academies Press, 2011. 246 p.
155. Коваленко В. М. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів. *Доклінічні дослідження лікарських засобів*

: метод. рек. / за ред. член–кор. АМН України О. В. Стефанова. Київ : Авіцена, 2001. С. 74–97.

156. Сидоров К. К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. *Токсикология новых промышленных химических веществ*. 1973. Вып. 13. С. 47–51.

157. Черешнев В. А., Гусев Е. Ю. Иммунологические и патофизиологические механизмы системного воспаления. *Медицинская иммунология*. 2012. Т. 14, № 2. С. 233–240.

158. Исследование антиноцицептивной и антиэссудативной активности экстрактов из касатика карталинского и касатика Медведова / Б. А. Самура и др. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2015. Т. 15, Вип. 3 (51). С. 255–259.

159. Усенко В. Ф. Експериментальне дослідження антиексудативних властивостей препарату «Квертин» за умов розвитку запалення, викликаного різними флогогенами. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2011. Т. 25, № 6. С. 66–68.

160. Щокіна К. Г. Експериментальне обґрунтування раціонального вибору сучасних та перспективних препаратів з протизапальною дією : автореф. дис. ... канд. фармац. наук. Харків, 2006. 19 с

161. Добреля Н. В., Бойцова Л. В., Данова І. В. Правова база для проведення етичної експертизи доклінічних досліджень лікарських засобів з використанням лабораторних тварин. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2015. № 2. С. 95–100.

162. Керімова Г., Кречун А., Рибак В., Михайленко О., Ковальов В. Дослідження антиексудативної активності сухих екстрактів листя та кореневищ *Iris hungarica*. *Ukrainian Biopharmaceutical Journal*. 2019. № 4 (61). Р. 55–58.

163. Левченко В. І. Дослідження крові тварин та клінічна інтерпретація отриманих результатів : метод. рек. Біла церква, 2002. С. 34–48.

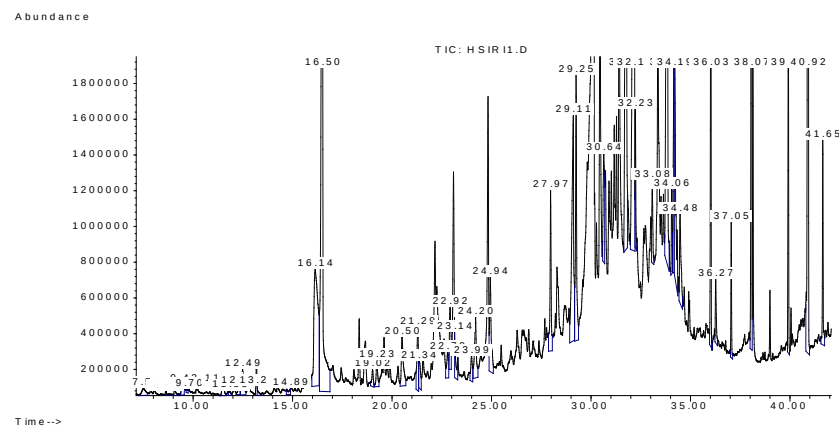
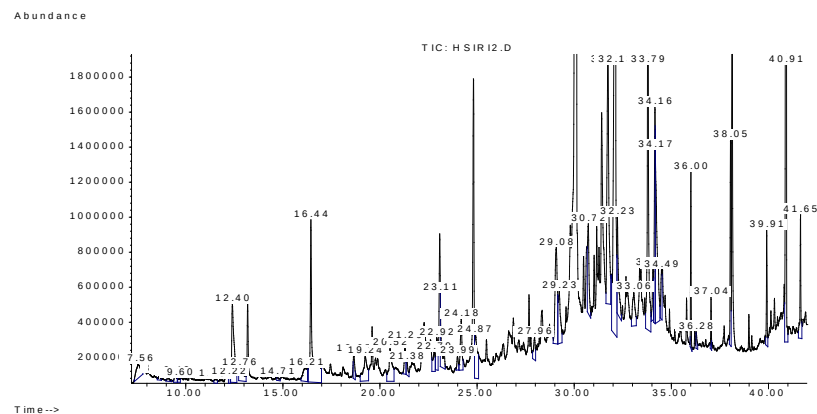
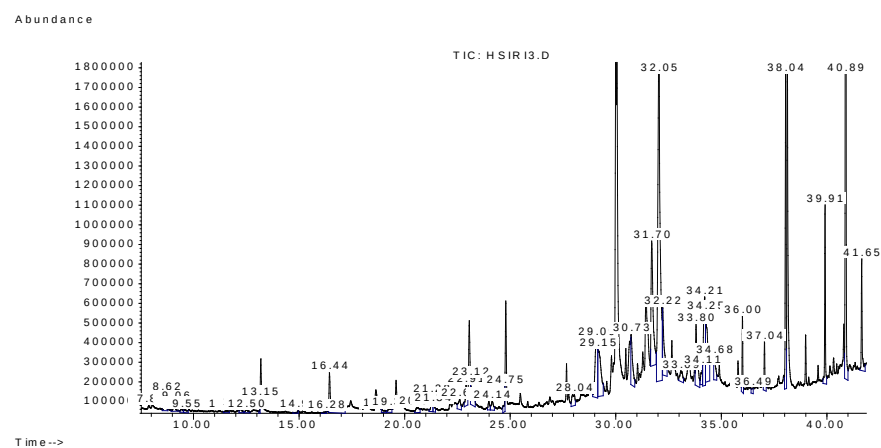
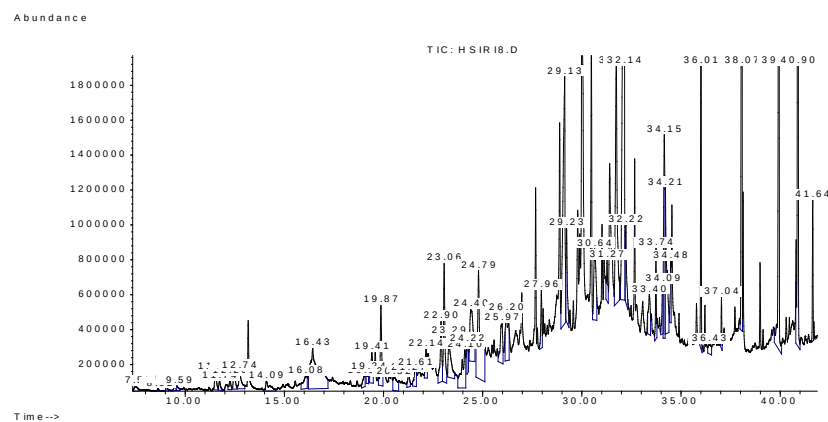
164. Степанець І., Моргаєнко О., Остапченко Л. Білковий склад сироватки крові щурів за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації. *Вісн. Львів. ун-ту. Серія біологічна*. 2013. Вип. 2013. Т. 61. С. 30–36.
165. Гланц С. Медико–біологическая статистика / пер. с англ. М. : Практика, 1999. Т. 459. С. 1.
166. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів : метод. рек. / Ю. Л. Волянський та ін. ; ДФЦ МОЗ України. Київ, 2004. 38 с.
167. Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» : Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 05.04.2007 р. № 167 / Міністерство охорони здоров'я України. URL: <http://mozdocs.kiev.ua/view.php?id=6958>. 12.11.2014. (дата звернення: 10.11.2019)
168. Стандартизація приготування мікробних суспензій : інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я України № 163–2006/ Ю. Л. Волянський та ін. Київ : (Укрмедпатентінформ), 2006. 10 с..
169. Бактеріологічний контроль поживних середовищ : інформ. лист МОЗ України № 05.4.1/1670. Київ, 2001. 9 с.
170. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В. Фенольні сполуки півників угорських та їх антибактеріальна активність. *Хімія природних сполук* : матеріали конф., 21–22 квіт. 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 22–23.
171. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В. Перспективність створення антимікробного засобу на основі півників. *Ліки–людині* : матеріали І Міжнар. наук.–практ. конф., 30–31 берез. 2017 р. Харків, 2017. С. 186.
172. Antimicrobial activity of extracts of *Iris hungarica* and *Iris sibirica* / Kovalyov V. M. et al. *Анали Мечниковського Інституту*. 2017. № 2. С. 57–64.

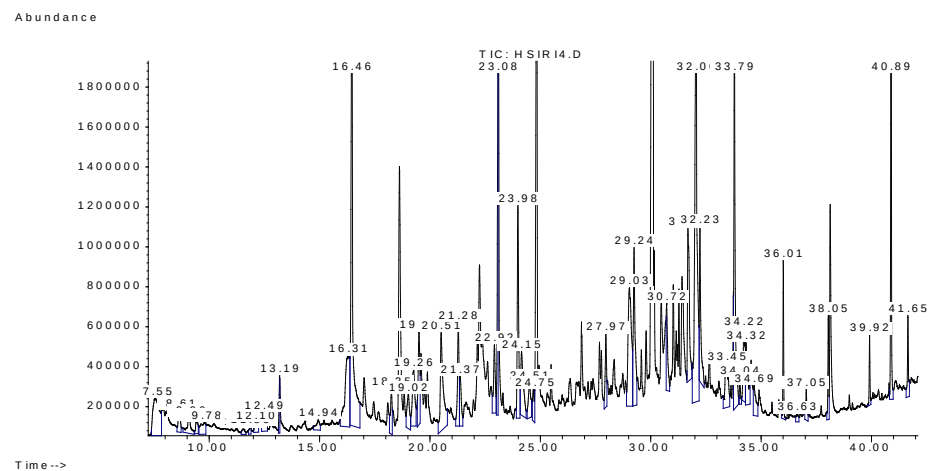
173. Державна Фармакопея України : «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. Т. 1. 261 с.
174. Люта В. А. Мікробіологія з технікою мікробіологічних досліджень, вірусологія та імунологія: підручник. Київ : Медицина, 2018. 576 с.
175. Мікробіологія : підруч. для студ. ВНЗ / І. Л. Дикий та ін.; за заг. ред. І. Л. Дикого. Харків : Вид-во «Оригінал», 2006. 432 с.
176. Ковальов В. М., Кречун А. В., Михайленко О. О., Домарьов А. П. Спосіб одержання засобу з антигерпетичною, антиоксидантною та антимікробною активністю з листя півників угорських : пат. на корисну модель 135620 Україна. № u 2019 00863 ; заявл. 28.01.19 ; опубл. 10.07.19. Бюл. № 13.

ДОДАТКИ

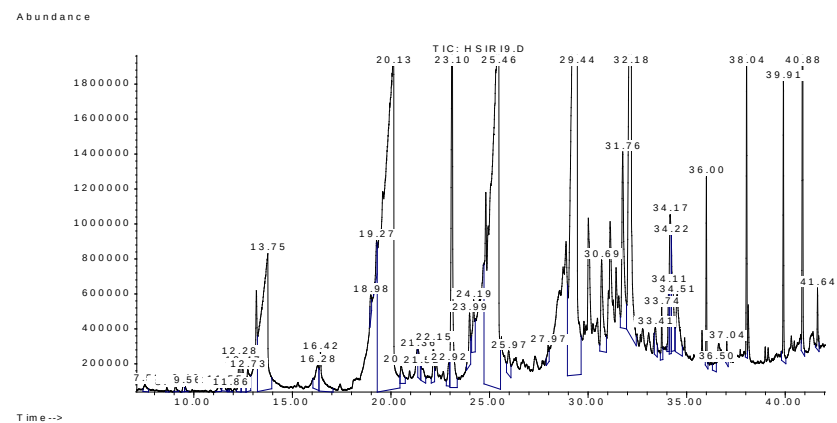
ДОДАТОК А

Хроматограми сортових півників, компоненти ефірної олії

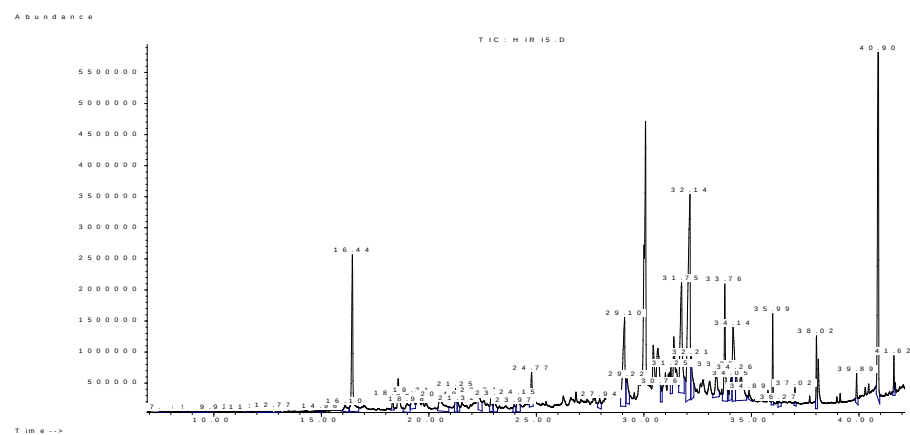
1A *I. hybrida* 'Indian Pow Waw' листя2A *I. hybrida* 'Indian Pow Waw' кореневища3A *I. hybrida* 'Little Dream' листя4A *I. hybrida* 'Little Dream' кореневища



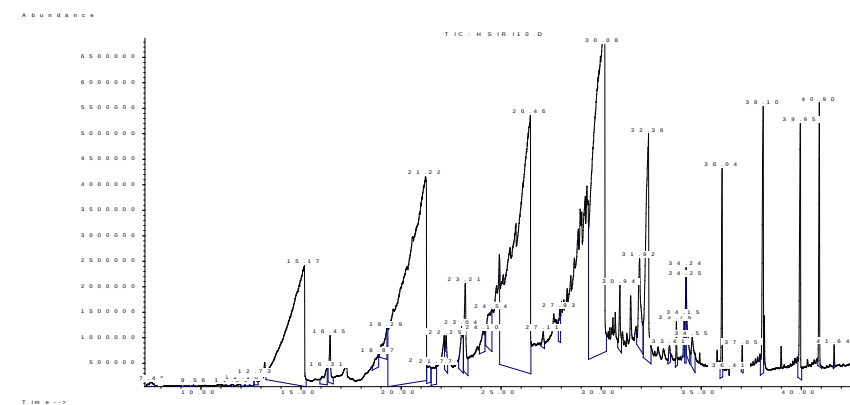
5A *I. hybrida* 'Galleon Gold' листья



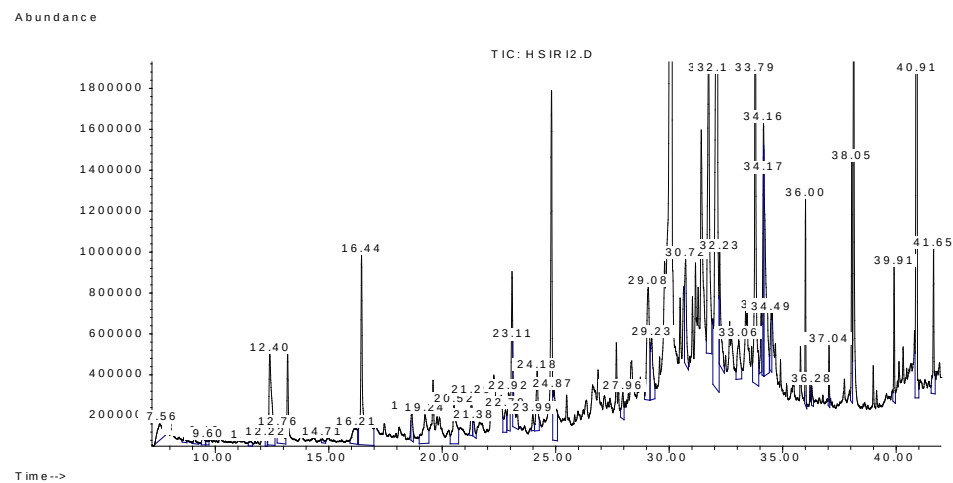
6A *I. hybrida* 'Galleon Gold' корневища



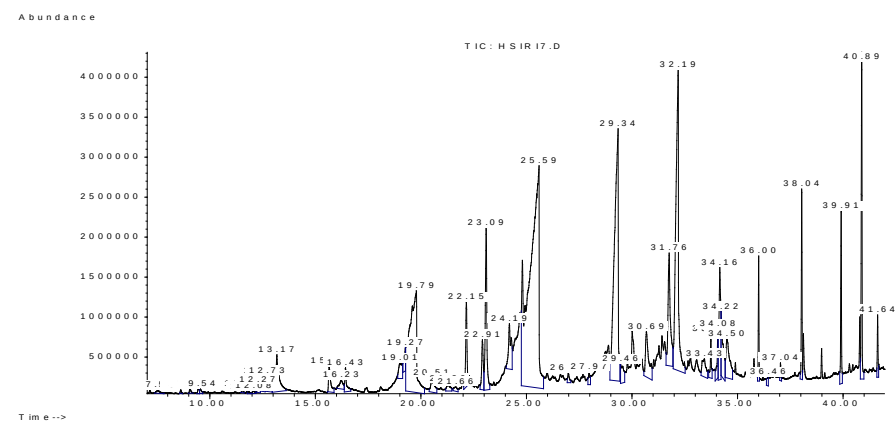
7A *I. hybrida* 'Bright white' листья



8A *I. hybrida* 'Bright white' корневища



9A *I. hybrida* 'Mini Dynamo' листь



10A *I. hybrida* 'Mini Dynamo' кореневища

21	20.29	геранілацетон	14.64	0.27	7.73	1.09	20.23	1.79	3.77	0.46	24.83	4.10	29.12	2.43
22	21.05	β -іонон-5,6-епоксид	6.05	0.11	7.06	1.00	8.22	0.73	5.86	0.72	13.88	2.29	15.07	1.26
23	21.15	β -іонон	2.26	0.04	3.54	0.50	4.17	0.37	2.59	0.32	7.73	1.28	7.15	0.60
24	22.335	тетрадеканаль	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17.04	1.42
25	22.49	гераніаль	2.67	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	22.67	α -ірон	8.06	0.15	6.86	0.97	9.54	0.85	8.31	1.02	9.99	1.65	10.57	0.88
27	22.81	транс-2,6- γ -ірон	3.04	0.06	8.74	1.24	15.8	1.40	12.37	1.52	19.16	3.16	12.91	1.08
28	23.6	мегастігматрієнон-1	3.59	0.07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	23.99	псевдоіонон	-	-	3.05	0.43	3.91	0.35	2.94	0.36	25.76	4.25	6.4	0.53
30	24.2	каріюфіленоксид	-	-	8.55	1.21	15.94	1.41	4.32	0.53	14.32	2.37	15.88	1.32
31	24.49	пентадеканова	28.0	0.51	11.54	1.63	24.71	2.19	18.36	2.26	-	-	-	-
32	24.509	фарнезол	-	-	-	-	-	-	-	-	7.23	1.19	-	-
33	24.748	етил лауринат	-	-	11.83	1.67	21.66	1.92	3.35	0.41	4.83	0.80	23.02	1.92
34	24.8	мегастігматрієнон-2	3.97	0.07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	27.62	2,3,6-триметилнафтохінон	4.44	0.08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	27.97	метил міристан	-	-	13.42	1.90	6.58	0.58	7.37	0.91	8.15	1.35	9.24	0.77
37	29.03	міристинова кислота	375.3	6.89	32.86	4.65	40.19	3.56	29.06	3.58	34.38	5.68	83.74	6.98
38	29.243	етил міристан	-	-	22.85	3.23	22.6	2.00	30.46	3.75	23.68	3.91	22.7	1.89
39	29.83	гексагідрофарнезилацетон	26.15	0.48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	29.96	неофітадієн	59.92	1.10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41	29.97	стеаринова	137.4	2.52	10.14	1.43	10.43	0.93	8.93	1.10	6.54	1.08	5.2	0.43
42	30.27	олеїнова	300.4	5.52	29.54	4.18	58.15	5.16	33.6	4.14	10.71	1.77	62.1	5.18
43	30.38	10-октадеценова	74.0	1.36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44	30.39	фарнезилацетон С	7.74	0.14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	30.64	пентадеканова кислота	-	-	11.54	1.63	-	-	18.36	2.26	10.14	1.67	-	-
46	30.75	фарнезилацетон	16.02	0.29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	31.11	лінолева	1150.7	21.13	12.67	1.79	31.81	2.82	32.79	4.04	12.69	2.10	66.22	5.52

Компоненти ефірної олії кореневищ півників угорських та сортових півників

216

№	RT, хв	Назва сполуки	Iris hungarica		Iris hybrida `Indian Pow Wow`		Iris hybrida `Mini Dynamo`		Iris hybrida `Little Dream`		Iris hybrida `Galleon Gold`		Iris hybrida `Bright White`	
			мг/кг	%	мг/кг	%	мг/кг	%	мг/кг	%	мг/кг	%	мг/кг	%
1	7.15	фенілацетальдегід	-	-	8.74	0.23	9.85	0.15	7.48	0.21	9.53	0.14	11.67	0.08
2	8.63	цис-ліналоол-оксид	-	-	2.89	0.07	3.52	0.05	1.63	0.05	2.58	0.04	1.45	0.01
3	9.07	транс- ліналоол-оксид	-	-	5.85	0.15	6.57	0.10	4.3	0.12	4.91	0.07	5.01	0.04
4	9.48	нонаналь	-	-	3.77	0.10	6.84	0.10	4.61	0.13	5.37	0.08	4.85	0.03
5	9.66	транс-2-октеналь	0.29	0.01	-	-	-	-	-	-	2.88	0.04	-	-
6	9.7	ліналоол	-	-	2.01	0.05	7.44	0.11	4.48	0.13	6.83	0.10	2.25	0.02
7	11.28	2-етилгексанова кислота	-	-	-	-	-	-	-	-	7.95	0.11	-	-
8	11.47	борнеол	-	-	12.4	0.32	4.3	0.06	15.51	0.44	1.79	0.03	4.44	0.03
9	11.85	терпен-4-ол	-	-	3.12	0.08	3.71	0.06	7.35	0.21	2.74	0.04	11.12	0.08
10	12.05	p-кумен-8-ол	-	-	5.81	0.15	5.81	0.09	-	-	-	-	-	-
11	12.29	p-мент-1-єн-8-ол	-	-	16.99	0.44	12.43	0.19	9	0.25	28.1	0.40	21.27	0.15
12	12.49	міртенол	-	-	38.95	1.01	25.76	0.39	16.18	0.45	24.02	0.34	23.91	0.17
13	12.7	деканаль	-	-	19.32	0.50	35.63	0.54	21.97	0.62	27.4	0.39	16.87	0.12
14	13.46	каприлова кислота	3.90	0.07	191.09	4.94	113.68	1.71	19.07	0.54	391.44	5.55	1572.82	11.32
15	15.568	декан-2-он	-	-	-	-	47.61	0.71	-	-	-	-	-	-
16	15.78	2-метокси-4-вінілфенол	7.48	0.14	15.07	0.39	28.25	0.42	62.28	1.75	39.68	0.56	48.22	0.35
17	19.02	етил-деканат	-	-	23.15	0.60	46.36	0.70	10.89	0.31	13.09	0.19	39.37	0.28
18	19.22	ундекан-2-он	-	-	27.82	0.72	29.59	0.44	8.46	0.24	18.09	0.26	88.31	0.64
19	19.413	3-(2,6,6-триметилциклогекс-1-єн-1-ил) бутаналь	-	-	-	-	-	-	26.47	0.74	-	-	-	-
20	20.29	геранілацетон	-	-	20.7	0.54	44.11	0.66	25.08	0.70	22.35	0.32	50.1	0.36
21	20.79	капринова кислота	161.84	3.0	496.45	12.84	669.21	10.05	52.64	1.48	1476.75	20.92	3401.46	24.48
22	21.05	β -іонон-5,6-єпоксид	1.96	0.04	23.45	0.61	20.67	0.31	11.55	0.32	45.32	0.64	50.01	0.36
23	21.15	β -іонон	-	-	13.74	0.36	12.5	0.19	18.68	0.52	18.84	0.27	32.17	0.23
24	21.151	2-метил-4-(2,6,6,-триметилциклогексен-1-	-	-	-	-	102.07	1.53	21.97	0.62	25.15	0.36	-	-

		ил)бутаналь												
25	21.505	4-[2,6,6-триметилциклогекса-1,3-дієніл]бутан-2-он	-	-	20.8	0.54	-	-	-	-	-	-	-	-
26	22.67	α -ірон	56.76	1.05	37.29	0.96	72.24	1.08	45.82	1.29	17.59	0.25	65.65	0.47
27	22.81	транс-2,6- γ -ірон	15.77	0.29	79.36	2.05	228.08	3.42	77.49	2.18	297.48	4.22	92.51	0.67
28	23.291	елеміцин	-	-	-	-	-	-	48.6	1.36	-	-	-	-
29	23.83	β -ізометиліонон	4.05	0.08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	23.99	псевдоіонон	-	-	-	-	-	-	63.21	1.77	38.32	0.54	42.56	0.31
31	24.2	каріофіленоксид	-	-	22.59	0.58	101.89	1.53	15.37	0.43	46.03	0.65	86.34	0.62
32	24.78	етил лауринат	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	25.597	лаурінова кислота	530	10.73	492.95	12.75	1807	27.13	168.54	4.73	1327.14	18.80	3232.48	23.26
34	26.198	муорол	-	-	-	-	-	-	60.73	1.70	-	-	-	-
35	26.708	кадиол	-	-	-	-	14.09	0.21	42.93	1.21	27.3	0.39	21.36	0.15
36	27.97	метил міристат	1.22	0.02	19.23	0.50	16.38	0.25	27.45	0.77	12.9	0.18	46.65	0.34
37	29.34	міристинова кислота	2200	40.74	663.55	17.16	847.81	12.73	226.89	6.37	1437.51	20.37	2959.63	21.30
38	29.46	етил міристат	-	-	24.98	0.65	47.08	0.71	53.47	1.50	-	-	-	-
39	29.85	11-тетрадеканова кислота	100	1.85	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	30.685	пентадеканова кислота	17	0.31	98.77	2.55	133.08	2.00	70.22	1.97	98.79	1.40	69.43	0.50
41	31.272	метил пальміат	-	-	33.14	0.86	-	-	21.86	0.61	-	-	-	-
42	31.76	пальмітоолеїнова кислота	26	0.48	193.65	5.01	239.35	3.59	195.43	5.49	168.09	2.38	197.16	1.42
43	32.189	пальмітинова кислота	620	1.92	450.16	11.64	728.56	10.94	437.18	12.27	635.47	9.00	558.67	4.02
44	32.45	етил пальміат	-	-	-	-	-	-	42.3	1.19	-	-	-	-
45	33.01	гексадеканова кислота	60	1.11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46	33.43	гептадеканова кислота	-	-	18.38	0.48	60.5	0.91	32.61	0.92	22.61	0.32	20.99	0.15
47	33.49	хенейкозан	4.07	0.08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	33.84	фітол	-	-	18.88	0.49	38.87	0.58	31.3	0.88	20.02	0.28	29.9	0.22
49	34.078	ліноленова кислота	120	2.22	30.92	0.80	49.54	0.74	26.61	0.75	29.97	0.42	31.65	0.23

50	34.163	лінолева кислота	650	12.04	104.73	2.71	167.22	2.51	116.91	3.28	97.74	1.38	72.29	0.52
51	34.22	маргаринова кислота	33	0.61	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52	34.224	олеїнова кислота	250	4.63	70.42	1.82	104.91	1.58	102.18	2.87	81.88	1.16	76.28	0.55
53	34.32	<i>цис</i> -вакценова	52	0.96	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
54	34.494	стеаринова кислота	100	1.85	86	2.22	129.65	1.95	22.64	0.64	86.21	1.22	64.55	0.46
55	34.65	докозан	7.80	0.14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56	35.74	трикозан	27.46	0.51	55.28	1.43	74.02	1.11	126.68	3.56	54.73	0.78	149.26	1.07
57	36.28	тетракозан	2.65	0.05	9.12	0.24	11.96	0.18	12.92	0.36	12.01	0.17	3.35	0.02
58	37.76	пентакозан	96.85	1.79	9	0.23	13.01	0.20	15.08	0.42	8.61	0.12	18.19	0.13
59	38.07	гексакозан	4.32	0.08	81.5	2.11	121.36	1.82	286.63	8.05	92.4	1.31	257.66	1.85
60	39.6	гептакозан	83.13	1.54	74.41	1.92	123.66	1.86	332.62	9.34	88.98	1.26	229.71	1.65
61	33.23	арахінова	200	3.70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
62	33.453	бегенова	180	3.33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63	33.49	трикоцилова кислота	20	0.37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64	33.84	лігноцеринова	100	1.85	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65	35.65	октадекандієнова	50	0.93	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	38.74	церотинова	50	0.93	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67	40.57	сквален	19.89	0.37	222.91	5.76	252.06	3.78	385.68	10.83	157.43	2.23	171.98	1.24
68	41.34	нонакозан	-	-	17.87	0.46	41.24	0.62	40.87	1.15	23.49	0.33	12.93	0.09
69	42.91	унтриаконтан	2.59	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Примітка: «-» - речовина не ідентифікована

Зразок	Об'єкт	Вміст елемента, мг/100г.															Вміст золи, %
		Fe	Si	P	Al	Mn	Mg	Pb	Ni	Mo	Ca	Cu	Zn	Na	K	Sr	
<i>Iris hungarica</i>	л	20	815	100	35	0,6	715	<0,03	<0,03	<0,03	1900	0,6	6,0	24	1190	24	11,93
	к	58	585	80	23	1,9	140	<0,03	<0,03	<0,03	750	0,7	3,8	23	430	4,7	7,32
<i>Iris x hybrid hort.</i> 'Galleon Gold'	л	15,8	84	126	23,1	6,3	365	<0,03	<0,03	0,031	1050	0,31	9,4	52	2100	12,6	10,56
	к	15,2	115	115	38	5,7	215	<0,03	0,076	0,038	685	0,30	15,2	61	1900	13,7	7,6
<i>Iris x hybrid hort.</i> 'Little Dream'	л	20,0	120	160	265	2,0	400	<0,03	<0,03	0,04	1330	0,66	10,6	67	3990	20,0	13,3
	к	21,5	215	145	86	2,1	260	<0,03	0,086	0,043	1030	0,34	21,5	60	2150	17,2	8,61
<i>Iris x hybrid hort.</i> 'Bright white'	л	18,1	100	170	20	12,6	305	<0,03	0,05	0,05	810	0,75	10,0	50	3030	15,1	9,63
	к	28,8	240	125	38	3,4	290	<0,03	0,096	0,096	960	0,48	24,0	67	2880	17,3	9,6
<i>Iris x hybrid hort.</i> 'Mini Dynamo'	л	12,0	86	205	25,8	2,6	515	<0,03	<0,03	0,086	1720	0,70	13,8	52	4300	25,8	17,2
	к	86	430	170	105	3,4	260	0,086	0,043	0,043	1030	0,51	15,5	69	2150	17,2	8,6
<i>Iris x hybrid hort.</i> 'Indian Pow Waw'	л	17	115	170	34	4,0	340	<0,03	<0,03	0,056	1020	0,50	10,2	34	3390	13,5	11,41
	к	87	520	150	87	5,2	260	<0,03	0,043	<0,03	1045	0,43	17,4	43,5	1740	19,1	8,67

Примітка. В усіх зразках: Co < 0,03 мг/100г; Cd < 0,001 мг/100г; As < 0,001 мг/100г; Hg < 0,001 мг/100г

ДОДАТОК Б-1

Проект МКЯ «Півників угорських листя»

Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
1	2	3
Опис	Листя лінійно-мечевидне, близько 45 см у довжину, 3-4 см в ширину, на кінцях звужене в гострокінцеве. Тонке, гладке, світло-зелене, сизе, з добре вираженими паралельним жилкуванням.	Візуальний
	Ідентифікація:	
Мікроскопія	Порошок світло – зеленого кольору переглядають під мікроскопом, використовуючи <i>розчин хлоральгідрату Р</i> . У порошку виявляються такі діагностичні структури: листова пластинка ізолатеральної будови. Епідерма однорядна, вкрита кутикулою, з рівномірно потовщеними оболонками клітин, на яких зустрічаються сосочковидні вирости. Продиховий апарат тетрацитного типу. Під епідермою краю листової пластинки розташована 4 – 5 шарова кутикова колєнхіма. Центральна частина листової пластинки має добре розвинуту аеренхіму з великими тонкостінними клітинами.	Візуальний
Метод ТШХ	Проводять на ТШХ – пластинках із шаром силікагелю F_{254} <i>Р</i> розміром 10×10 см, розчин порівняння: 10 мг <i>мангіферину</i> у 10 мл <i>метанолу</i> . Рухома фаза: : <i>оцтова кислота Р – мурашина кислота безводна Р – вода Р – етилацетат Р (11:11:27:100)</i> . Відстань, що має пройти рухома фаза – 8 см від лінії старту. Проявляють розчином 10 г/л <i>дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру Р</i> у <i>метанолі Р</i> , потім обприскують розчином 50 г/л <i>макроголу 400 Р</i> у <i>метанолі Р</i> , висушують на повітрі протягом 30 хв. Переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм. На хроматограмі випробованого розчину можуть проявлятися світло – коричнева та блакитна флуоресціюючі зони нижче зони, відповідно <i>мангіферину</i> на хроматограмі розчину порівняння.	ДФУ,1 вид.2.2.27
	Випробування:	

Втрата в масі при висушуванні	Не більше 12 %	ДФУ,1 вид.2.2.32
Загальна зола	Не більше 10 %	ДФУ,1 вид.2.4.16
Сторонні домішки	Лікарська рослинна сировина не повинна містити цвілі, комах та інших домішок тваринного походження. Кількість інших сторонніх часток не має перевищувати 2,0 %.	ДФУ,1 вид.2.8.2
Частина листя, що потемніла або побуріла	Не більше 5 %	ДФУ,1 вид.2.8.2
	Кількісне визначення:	
Сума ксантонів	Спектрофотометричний метод. При аналітичній $\lambda=369$ нм у перерахунку на мангіферин. Питомий показник поглинання мангіферину при $\lambda=369 \pm 2$ нм рівний 295. Сума ксантонів у перерахунку на мангіферин має бути не менше 1,0 %.	ДФУ,1 вид.2.2.25

ДОДАТОК Б-2

Проект МКЯ «Півників угорських кореневища»

Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
1	2	3
Опис	Ціле кореневище гладке, вузлувате, округле, 4-10 см завдовжки та 2-4 см у діаметрі, розгалужене. На поверхні наявні залишки листя, знизу кореневище має відрости чисельних тонких корінців 1-3 мм в діаметрі. Фрагменти кореневища мають вигляд шматочків 2-5 см завдовжки та 2-4 см в діаметрі. На поверхні наявні рубці від стебел та корінці. Поверхня темно-коричнева, на зламі – світло-жовта, коричнево-жовта. Текстура тверда, злам щільний.	Візуальний
	Ідентифікація:	
Мікроскопія	Порошок темно – коричневого кольору переглядають під мікроскопом, використовуючи <i>розчин хлоральгідрату Р</i> . У порошок виявляються такі діагностичні структури: верхні шари первинної кори опробковілі, клітини корової паренхіми і центрального циліндру заповнені крохмалом. Зустрічаються стилоїди і призматичні кристали. Центрофлоемні судинні пучки розташовані хаотично.	Візуальний
Метод ТШХ	Проводять на ТШХ-пластинках із шаром силікагелю $F_{254} R$ розміром 5×10 см, рухома фаза: <i>оцтова кислота льодяна Р – бутанол Р (5:95)</i> . Відстань, що має пройти рухома фаза: 8 см від лінії старту. Розчин порівняння - 10 мг <i>ононіну</i> у 10 мл <i>етанолу Р</i> . На хроматограмі випробованого розчину можуть проявлятися одна темно – коричнева флуоресціююча зона вище зони, відповідно ононіну на хроматограмі розчину порівняння. Проводять на ТШХ- пластинках із шаром силікагелю $F_{254} R$ розміром 5×10 см, рухома фаза: <i>толуол Р – етилацетат Р – мурашина кислота Р – (5:4:1)</i> . Відстань, що має пройти рухома фаза: 8 см від лінії старту. Розчин порівняння - 10 мг <i>нігрицину</i> у 10 мл <i>етанолу Р</i> . На хроматограмі випробованого розчину можуть проявлятися одна темно – коричнева флуоресціююча зона вище зони, відповідно нігрицину на хроматограмі розчину порівняння.	ДФУ,1 вид.2.2.27
	Випробування:	

Втрата в масі при висушуванні	Не більше 12 %	ДФУ,1 вид.2.2.32
Загальна зола	Не більше 10 %	ДФУ,1 вид.2.4.16
Сторонні домішки	Лікарська рослинна сировина не повинна містити цвілі, комах та інших домішок тваринного походження. Кількість інших сторонніх часток не має перевищувати 2,0 %.	ДФУ,1 вид.2.8.2
Частина кореневищ, що згнила або зіпсувалася	Не більше 1 %	ДФУ,1 вид.2.8.2
	Кількісне визначення:	
Сума ізофлавоноїдів	Спектрофотометричний метод. При аналітичній $\lambda=260$ нм у перерахунку на ононін. Питомий показник поглинання ононіну при $\lambda=260 \pm 2$ нм рівний 715. Сума ізофлавоноїдів у перерахунку на ононін має бути не менше 1,0 %.	ДФУ,1 вид.2.2.25
Ксантони (мангіферин)	Рідинна хроматографія. Вміст мангіферину не менше 0,2 %	2.2.29

ДОДАТОК Б-3

Проект МКЯ «Півників угорських листя екстракт сухий»

Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
1	2	3
Опис	Крупно-зернистий порошок темно- коричневого кольору, запах ароматний, смак в'яжучий.	Візуальний
Розчинність	Розчинний у воді <i>P</i> , при нагріванні у 70 % спирті.	
	Ідентифікація:	Візуальний
Метод ТШХ	А. Проводять на ТШХ – пластинках із шаром силікагелю F_{254} <i>P</i> розміром 10×10 см, розчин порівняння: 10 мг мангіферину у 10 мл метанолу. Рухома фаза: оцтова кислота <i>P</i> – мурашина кислота безводна <i>P</i> – вода <i>P</i> – етилацетат <i>P</i> (11:11:27:100). Відстань, що має пройти рухома фаза – 8 см від лінії старту. Проявляють розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру <i>P</i> у метанолі <i>P</i>, потім обприскують розчином 50 г/л макрогону 400 <i>P</i> у метанолі <i>P</i>, висушують на повітрі протягом 30 хв. Переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм. На хроматограмі випробуваного розчину можуть проявлятися світло – коричнева та блакитна флуоресціюючі зони нижче зони, відповідно мангіферину на хроматограмі розчину порівняння. В. Проводять на пластинках ВЕТШХ із шаром силікагелю 5×10 см, розчин порівняння: кверцетин, ізокверцетин у метанолі. Рухома фаза: оцтова кислота <i>P</i> – бутанол <i>P</i> – вода <i>P</i> – етилацетат <i>P</i> (5:10:5:80). Відстань, що має пройти рухома фаза: 8 см від лінії старту. Проявляють розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру <i>P</i> у метанолі <i>P</i>, потім обприскують розчином 50 г/л макрогону 400 <i>P</i> у метанолі <i>P</i>, висушують на повітрі протягом 30 хв. Переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм. На хроматограмі випробуваного розчину можуть проявлятися блакитна флуоресціююча зона нижче зони, відповідно ізокверцетину та кверцетину на хроматограмі розчину	ДФУ,1 вид.2.2.27

	порівняння.	
	Випробування:	
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 8 %	ДФУ,1 вид.2.2.32
Загальна зола	Не більше 10 %	ДФУ,1 вид.2.4.16
Важкі метали	Не більше 100 ppm	ДФУ,1 вид.2.8.2
Мікробіологічна кислота	У 1 г препарату не більше 100 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій і деяких інших грамнегативних бактерій у 1 г. Не допускається наявність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> у 1 г. Не допускається наявність <i>Staphylococcus aureus</i> у 1 г.	ДФУ,1 вид.2.8.2
	Кількісне визначення:	
Сума ксантонів	Спектрофотометричний метод. При аналітичній $\lambda=369$ нм у перерахунку на мангіферин. Питомий показник поглинання мангіферину при $\lambda=369 \pm 2$ нм рівний 295. Сума ксантонів у перерахунку на мангіферин має бути не менше 9,0 %.	ДФУ,1 вид.2.2.25

ДОДАТОК Б-4

Проект МКЯ «Півників угорських листя екстракт водний сухий»

Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
1	2	3
Опис	Крупно-зернистий порошок темно-коричневого кольору, запах ароматний, смак в'язучий.	Візуальний
Розчинність	Розчинний у воді Р, при нагріванні у етанолі.	Хімічний
	Ідентифікація:	
Метод ТШХ	А. Проводять на ТШХ-пластинках із шаром силікагелю F ₂₅₄ Р розміром 10×10 см, розчин порівняння: 10 мг мангіферину у 10 мл метанолу. Рухома фаза: оцтова кислота Р – мурашина кислота безводна Р – вода Р – етилацетат Р (11:11:27:100). Відстань, що має пройти рухома фаза – 8 см від лінії старту. Проявляють розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру Р у метанолі Р, потім обприскують розчином 50 г/л макроголу 400 Р у метанолі Р, висушують на повітрі протягом 30 хв. Переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм. На хроматограмі випробуваного розчину можуть проявлятися світло – коричнева та блакитна флуоресціюючі зони нижче зони, відповідно мангіферину на хроматограмі розчину порівняння.	ДФУ, I вид. 2.2.27
	Випробування:	
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 8 %	ДФУ, I вид., 2.2.32
Загальна зола	Не більше 10 %	ДФУ, I вид., 2.4.16
Важкі метали	Не більше 100 ppm	ДФУ II вид. 2.2.102
Мікробіологічна кислота	У 1 г препарату не більше 100 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій і деяких інших грамнегативних бактерій у 1 г.	ДФУ, I вид., 2.6.12, N;

	Не допускається наявність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> у 1 г. Не допускається наявність <i>Staphylococcus aureus</i> у 1 г.	2.6.13, N. Категорія 4 А, 5.1.4, N
	Кількісне визначення:	
Сума ксантонів	Спектрофотометричний метод. При аналітичній $\lambda=369$ нм у перерахунку на мангіферин. Питомий показник поглинання мангіферину при $\lambda=369 \pm 2$ нм рівний 295. Сума ксантонів у перерахунку на мангіферин має бути не менше 9,0 %.	ДФУ, 1 вид. 2.2.25

ДОДАТОК Б-4

Проект МКЯ «Півників угорських кореневищ екстракт сухий»

Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
1	2	3
Опис	Крупно-зернистий порошок коричневого кольору, запах ароматний, смак в'язучий.	Візуальний
Розчинність	Розчинний у 70% спирті, при нагріванні у воді Р.	
	Ідентифікація:	Візуальний
Метод ТШХ	А. Проводять на ТШХ-пластинках із шаром силікагелю F_{254} Р розміром 5×10 см, розчин порівняння: 10 мг ононіну 10 мл етанолу Р.. Рухома фаза: оцтова кислота льодяна Р – бутанол Р (5:95). Відстань, що має пройти рухома фаза – 8 см від лінії старту. Висушують на повітрі протягом 30 хв, переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм. На хроматограмі випробованого розчину можуть проявлятися одна темно – коричнева флуоресціююча зона вище зони, відповідно ононіну на хроматограмі розчину порівняння. В. Проводять на пластинках ТШХ із шаром силікагелю 5×10 см, розчин порівняння: 10 мг нігрицину 10 мл етанолу Р. Рухома фаза: толуол Р – етилацетат Р – мурашина кислота Р – (5:4:1). Висушують на повітрі протягом 30 хв, переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм. На хроматограмі випробованого розчину можуть проявлятися одна темно – коричнева флуоресціююча зона вище зони, відповідно нігрицину на хроматограмі розчину порівняння.	ДФУ,1 вид.2.2.27
	Випробування:	
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 8 %	ДФУ,1 вид.2.2.32
Загальна зола	Не більше 10 %	ДФУ,1 вид.2.4.16

Важкі метали	Не більше 100 ppm	ДФУ,1 вид.2.8.2
Мікробіологічна кислота	У 1 г препарату не більше 100 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій і деяких інших грамнегативних бактерій у 1 г. Не допускається наявність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> у 1 г. Не допускається наявність <i>Staphylococcus aureus</i> у 1 г.	ДФУ,1 вид.2.8.2
	Кількісне визначення:	
Сума ізофлавоноїдів	Спектрофотометричний метод. При аналітичній $\lambda=260$ нм у перерахунку на ононін. Питомий показник поглинання ононіну при $\lambda=260 \pm 2$ нм рівний 715. Сума ізофлавоноїдів у перерахунку на ононін має бути не менше 8,0 %.	ДФУ,1 вид.2.2.25
Ксантони (мангіферин)	Метод ВЕРХ. Вміст мангіферину не менше 0,5 %.	2.2.29

Продов. дод. Б

ЗАТВЕРДЖЕНОНаказ міністерства охорони
здоров'я України

№ _____ від _____

Реєстраційне посвідчення

№ _____

Заявник, країна

ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», Україна

Виробник, країна

ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», Україна

ПРОЕКТ**МЕТОДИКИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬОГО ЗАСОБУ***Iridis hungaricae folii extractum siccum*

Півників угорських листя екстракт сухий

По 20 г у пакетах

Продов. дод. Б

A – оптична густина випробуваного розчину;

$E_{1\text{см}}^{1\%}$ – питомий показник поглинання мангіферину (295);

m – маса наважки;

W – вологість сировини.

УПАКОВКА

По 20 г у пакеті з пакувального високобар'єрного багат шарового матеріалу.

МАРКУВАННЯ

Відповідно до вимог ДФУ.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

Зберігати в оригінальній упаковці при температурі не вище 25 °С та вологості повітря 30-40 %. В складських приміщеннях сировина повинна зберігатися на стелажах, які встановлюють на відстані не менше 15 см від підлоги.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

3 роки.

Копія вірна

Заявник

Директор

ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка»

І.В. Трутасв

Печатка заявника



Продов. дод. Б

(80 % об/об). Розрахунок суми ксантонів у перерахунку на мангіферин проводять за формулою:

$$X = \frac{A \times 25 \times 25 \times 100}{E_{1\text{cm}}^{1\%} \times m \times (100 - W)}$$

де:

A – оптична густина випробуваного розчину;

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ – питомий показник поглинання мангіферину (295);

m – маса наважки;

W – вологість сировини.

УПАКОВКА

По 20 г у пакеті з пакувального високобар'єрного багат шарового матеріалу.

МАРКУВАННЯ

Відповідно до вимог ДФУ.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

Зберігати в оригінальній упаковці при температурі не вище 25 °C та вологості повітря 30-40 %. В складських приміщеннях сировина повинна зберігатися на стелажах, які встановлюють на відстані не менше 15 см від підлоги.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

3 роки.

Копія вірна

Заявник

Директор

ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка»

І.В. Грутаєв

Печатка заявника



Продов. дод. Б

ЗАТВЕРДЖЕНОНаказ міністерства охорони
здоров'я України

№__ від__

Реєстраційне посвідчення

№__

Заявник, країна

ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», Україна

Виробник, країна

ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», Україна

ПРОЕКТ**МЕТОДИКИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬОГО ЗАСОБУ***Iridis hungaricae rhizomata extractum siccum*

Півників угорських кореневища екстракт сухий

По 20 г у пакетах

Продов. дод. Б

m – маса наважки;

W – вологість сировини.

УПАКОВКА

По 20 г у пакеті з пакувального високобар'єрного багат шарового матеріалу.

МАРКУВАННЯ

Відповідно до вимог ДФУ.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

Зберігати в оригінальній упаковці при температурі не вище 25 °С та вологості повітря 30-40 %. В складських приміщеннях сировина повинна зберігатися на стелажах, які встановлюють на відстані не менше 15 см від підлоги.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

3 роки.

Копія вірна

Заявник

Директор

ПАТ «Хіміфармзавод «Червона зірка»

Г.В. Грутаєв

Печатка заявника



Продов. дод. Б

ЗАТВЕРДЖЕНО

Наказ міністерства охорони
здоров'я України

№ ____ від _____

Реєстраційне посвідчення

№ _____

Заявник, країна

ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», Україна

Виробник, країна

ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», Україна

ПРОЕКТ

МЕТОДИКИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬОГО ЗАСОБУ

Rhizomata Iridis hungaricae

Півників угорських кореневища

По 50 г у пакетах

Продов. дод. Б

Копія вірна

Заявник

Директор

ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка»

Г.В. Трутаєв

Печатка заявника



Продов. дод. Б

ЗАТВЕРДЖЕНО

Наказ міністерства охорони
здоров'я України

№ _____ від _____

Реєстраційне посвідчення

№ _____

Заявник, країна

ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», Україна

Виробник, країна

ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», Україна

ПРОЕКТ

МЕТОДИКИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬОГО ЗАСОБУ

Folia Iridis hungaricae

Півників угорських листя

По 50 г у пакетах

Продов. дод. Б

m – маса наважки;

W – вологість сировини.

УПАКОВКА

По 50 г у пакеті з пакувального високобар'єрного багат шарового матеріалу.

МАРКУВАННЯ

Відповідно до вимог ДФУ.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

Зберігати в оригінальній упаковці при температурі не вище 25 °С та вологості повітря 30-40 %. В складських приміщеннях сировина повинна зберігатися на стелажах, які встановлюють на відстані не менше 15 см від підлоги.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

3 роки.

Копія вірна

Заявник

Директор

ПАТ «Хімікофармзавод «Червона зірка»

І.В. Трутаєв

Печатка заявника



ДОДАТОК В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор Івано-Франківського національного
медичного університету
д.м.н., заслужений діяч науки і техніки України
проф. М.М. Рожко

« 15 » « 12 » 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозицій для впровадження: матеріали експериментальних досліджень, представлені в дисертаційній роботі аспіранта кафедри фармакогнозії НФаУ А. В. Кречун «Вивчення біологічно активних сполук півників угорських та розробка субстанцій на їх основі».

2. Установа, автор: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, кафедра фармакогнозії, аспірант А. В. Кречун.

3. Джерела інформації:

1. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М. Макро– та мікроскопічний аналіз сировини півників угорських. *Сучасна фармація: історія, реальність та перспективи розвитку* : матеріали наук.–практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 20-й річниці заснування Дня фармац. працівника України, м. Харків, 19–20 верес. 2019 р. : у 2 т. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 224–226

2. Скринінг накопичення біологічно активних речовин в ірисі угорському впродовж вегетаційного періоду / А. В. Кречун та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12, № 2 (30). С. 135–140 Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М., Орлова Т.Г.

3. Mykhailenko O. O., Kovalyov V. M., Kovalyov S. V., Krechun A. V. Biologically active compounds from the rhizomes of *Iris hungarica*. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2016. Т. 14, № 4 (56). С. 63–66.

4. Спосіб одержання засобу з антигерпетичною, антиоксидантною та антимікробною активністю з листя півників угорських : пат. на корисну модель 135620 Україна. № u 2019 00863 ; заявл. 28.01.19 ; опубл. 10.07.19. Бюл. № 13.

5. Kovalev V. M., Mykhailenko O. O., Krechun A. V., Osolodchenko T. P. Antimicrobial activity of extracts of *Iris hungarica* and *Iris sibirica*. *Анали Мечниковського Інституту*. 2017. № 2. С. 57–64.

6. Kerimova G., Krechun A., Rybak V., Mykhailenko O., Kovalev V. Research of antileucocytic activity of the dry extracts of *Iris hungarica* leaves and rhizomes. *Ukrainian Biopharmaceutical Journal*. 2019. № 4 (61). P. 55–58.

4. Де впроваджено: в навчальний процес та наукову роботу кафедри фармації ІФНМУ теми: «Фенольні сполуки. Лігнани. Ксантони», «Методи фармакогнозії. Макроскопічний аналіз листя, трави, квіток, коренів, кореневищ, кори і плодів».

5. Форма впровадження: навчальний процес, у лекційному курсі.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань студентів з питань хімічного складу, оптимального терміну заготівлі, морфолого-анатомічної будови, використання в медицині півників угорських (*Iris hungarica* Waldst et. Kit.).

7. Строки впровадження: 2019-2020 навчальний рік.

Зав. каф. фармації ІФНМУ

д.фарм.н., професор А.Р. Грицик

Відповідальний за впровадження:

доц. Водославський В.М.

« 13 » « 01 » 2020 р.

Продов. дод. В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

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

проф. І.М. Кліщ



» 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозицій для впровадження: матеріали експериментальних досліджень, представлені в дисертаційній роботі аспіранта кафедри фармакогнозії НФаУ А. В. Кречун «Вивчення біологічно активних сполук півників угорських та розробка субстанцій на їх основі».

2. Установа, автор: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, кафедра фармакогнозії, аспірант А. В. Кречун.

3. Джерела інформації:

1. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М. Макро– та мікроскопічний аналіз сировини півників угорських. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.–практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 20–й річниці заснування Дня фармац. працівника України, м. Харків, 19–20 верес. 2019 р. : у 2 т. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 224–226
 2. Скринінг накопичення біологічно активних речовин в ірисі угорському впродовж вегетаційного періоду / А. В. Кречун та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12, № 2 (30). С. 135–140 Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М., Орлова Т.Г.
 3. Mykhailenko O. O., Kovalyov V. M., Kovalyov S. V., Krechun A. V. Biologically active compounds from the rhizomes of *Iris hungarica*. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2016. Т. 14, № 4 (56). С. 63–66.
 4. Спосіб одержання засобу з антигерпетичною, антиоксидантною та антимікробною активністю з листя півників угорських : пат. на корисну модель 135620 Україна. № u 2019 00863 ; заявл. 28.01.19 ; опубл. 10.07.19. Бюл. № 13.
 5. Kovalev V. M., Mykhailenko O. O., Krechun A. V., Osolodchenko T. P. Antimicrobial activity of extracts of *Iris hungarica* and *Iris sibirica*. *Анали Мечниковського Інституту*. 2017. № 2. С. 57–64.
 6. Kerimova G., Krechun A., Rybak V., Mykhailenko O., Kovalev V. Research of antiexcudative activity of the dry extracts of *Iris hungarica* leaves and rhizomes. *Ukrainian Biopharmaceutical Journal*. 2019. № 4 (61). P. 55–58.
- 4. Де впроваджено:** в навчальний процес та наукову роботу кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ТНМУ ім. І. Я.Горбачевського теми:

Продов. дод. В

«Фенольні сполуки», «Макро- та мікроскопічний аналіз лікарської рослинної сировини».

5. Форма впровадження: навчальний процес, у лекційному курсі.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань студентів з питань хімічного складу, оптимального терміну заготівлі, морфолого-анатомічної будови, використання в медицині півників угорських (*Iris hungarica* Waldst et. Kit.).

7. Строки впровадження: 2019-2020 навчальний рік.

«13» «січня» 2020 р.

Зав. каф. фармакогнозії з медичною ботанікою
ТНМУ імені І. Я.Горбачевського
д.ф.н., проф.



С. М. Марчишин

Продовж. дод. В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор
з науково-педагогічної роботи
Львівського національного медичного
університету ім. Данила Галицького
член-кор. НАМНУ
професор М.Р.Гжегоцький
» Сігн 2020 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Дослідження хімічного складу сировинних органів півників угорських (*Iris hungarica* Waldst. et Kit.) та фармакологічної активності біологічно активних субстанцій на їх основі.

2. Установа, автори: Національний фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, 61002, м.Харків, вул.Пушкінська,53; А.В. Кречун, В.М. Ковальов.

3. Джерела інформації:

1. Скринінг накопичення біологічно активних речовин в ірісі угорському впродовж вегетаційного періоду / А.В. Кречун, О.О. Михайленко, С.В. Ковальов, Т.Г. Орлова // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2019. – Т. 12, №2(30). – с. 135-140.

2. Biologically active compounds from the rhizomes of *Iris hungarica* / О. О. Mykhailenko, V. M. Kovalyov, S. V. Kovalyov, A. V. Krechun // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. - 2016. - Т. 14, вип. 4. - С. 63-66.

3. Kovalev V. M., Mykhailenko O. O., Krechun A. V., Osolodchenko T. P. Antimicrobial activity of extracts of *Iris hungarica* and *Iris sibirica*. *Анали Мечникова Інституту*. 2017. № 2. С. 57–64.

4. Kerimova, G., Krechun, A., Rybak, V., Mykhailenko, O., Kovalev, V. Research of antiexcudative activity of the dry extracts of *Iris hungarica* leaves and rhizomes. *Ukrainian Biopharmaceutical Journal*. 2019. № 4 (61). P. 55–58.

5. Спосіб одержання засобу з антигерпетичною, антиоксидантною та антимікробною активністю з листя півників угорських : пат. на корисну модель 135620 Україна. № u 2019 00863 ; заявл. 28.01.19 ; опубл. 10.07.19. Бюл. № 13.

6. Кречун, А.В. Макро- та мікроскопічний аналіз сировини півників угорських/ А.В. Кречун, О.О. Михайленко, В.М. Ковальов// Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, м. Харків, 19-20 верес. 2019 р.: у 2 т. – Харків : НФаУ, 2019. – Т. 1. – С. 224-226.

4. Де впроваджено: кафедра фармакогнозії і ботаніки ЛНМУ імені Данила Галицького.

5. Форма впровадження: в навчальний процес (лекційний курс та практичні заняття при вивченні теми “Фенольні сполуки”) і наукову роботу (планування і виконання дипломних, магістерських та дисертаційних робіт).

6. Ефективність впровадження: поглиблення знань студентів щодо хімічного складу сировинних органів півників угорських та їх фармакологічної активності.

7.Термін впровадження: 2019/2020 навчальний рік.

Розглянуто на засіданні кафедри фармакогнозії і ботаніки (протокол №5 від 3.01.2020 року).

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри фармакогнозії і ботаніки
ЛНМУ ім. Данила Галицького

доц. Р. С. Дармограй

Продовж. дод. В

Гербарій
Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна (CWU)

Майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна

Акт
про передачу гербарних матеріалів до фондів Гербарію CWU

Згідно з цим актом до фондів гербарію ХНУ імені В.Н. Каразіна (CWU) на зберігання передані та достовірно визначені наступні гербарні матеріали:

ваучерні зразки лікарської сировини (подрібнена сировина, листя, кореневища)
короткої опис гербарних матеріалів

Перелік зразків:

Ірис гібридний "Indian Pow Wow" **кореневища, листя** (Iris hybrida "Indian Pow Wow" rhizomes), НБС ім. Гришка, травень 2017 року [CWU0056395]

Ірис гібридний "Little Dream" **кореневища, листя** (Iris hybrida "Little Dream" rhizomes), НБС ім. Гришка, травень 2017 року [CWU0056596]

Ірис гібридний "Mini Dynamo" **кореневища, листя** (Iris hybrida "Mini Dynamo" rhizomes), НБС ім. Гришка, травень 2017 року [CWU0056602]

Ірис гібридний "Galleon Gold" **кореневища, листя** (Iris hybrida "Galleon Gold" rhizomes), НБС ім. Гришка, травень 2017 року [CWU0056597]

Ірис гібридний "Bright White" **кореневища, листя** (Iris hybrida "Bright White" rhizomes), НБС ім. Гришка, вересень 2015 року [CWU0056599]

Ірис угорський **листя** (Iris hungarica leaves): Бот. сад Університету ім. Каразіна, травень 2015 [CWU0056601]

Ірис угорський **листя, кореневища** Бот. сад Університету ім. Каразіна, вересень 2017 [CWU0056604]

Ірис угорський **листя, кореневища** м. Умань, Національний дендрологічний парк «Софіївка», квітень 2017 [CWU0056598]

Ірис угорський **кореневища**, НБС ім. Гришка: травень 2012 року [CWU005600 (16)]; вересень 2014 року [CWU005600 (14)]; вересень 2015 року [CWU0056598 (18)]; травень 2017 року [CWU0056598 (15)].

Ірис угорський **кореневищ.** Дендрологічний парк «Олександрія» квітень 2017 [CWU0056603]

Гербарні матеріали інсеровані до колекцій ваучерних зразків.

Гербарний матеріал передав:

28.11.2019 *М.К.Р.* *Кучук Н.В.*
Дата Підпис Ф.І.Пб.

Гербарний матеріал прийняв:

куратор гербарію ХНУ імені В.Н. Каразіна, канд. біол. наук., доцент Ю.Г. Гамуля

28.11.2019 *Гамуля Ю.Г.* *Гамуля Ю.Г.*
Дата Підпис Ф.І.Пб.

Підпис Ю.Г. Гамулі засвідчую

ДОДАТОК Г

Список публікацій здобувача

1. Mykhailenko O., Kovalyov V., Kovalyov S., Krechun A. Isoflavonoids from the rhizomes of *Iris hungarica* and antibacterial activity of the dry rhizomes extract. *Ars Pharmaceutica*. 2017. Vol. 58. № 1. P. 39–45. (Особистий внесок – брала участь у проведенні експерименту, інтерпретації одержаних даних).
2. Mykhailenko O. O., Kovalyov V. M., Kovalyov S. V., Krechun A. V. Biologically active compounds from the rhizomes of *Iris hungarica*. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2016. Т. 14, № 4 (56). С. 63–66. (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, інтерпретації одержаних даних, оформленні статті).
3. Kovalev V. M., Mykhailenko O. O., Krechun A. V., Osolodchenko T. P. Antimicrobial activity of extracts of *Iris hungarica* and *Iris sibirica*. *Анали Мечниковського Інституту*. 2017. № 2. С. 57–64. (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, інтерпретації одержаних даних, оформленні статті).
4. Kovalyov V. M., Krechun A. V., Mykhailenko O. O., Gryshyna O. V. The study of elemental composition of *Iris hungarica* and irises varieties. *Вісник фармації*. 2018. №. 4 (96). С. 9–15 (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, пробоподготовці, інтерпретації одержаних даних, оформленні статті).
5. Kovalyov V., Chetvernia S., Krechun A., Mykhailenko O. Establishment of the main technological parameters of iris raw material. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2019. Vol. 12. № 7. P. 3359–3364 (Особистий внесок – брала участь у проведенні експерименту, інтерпретації одержаних даних, оформленні статті).
6. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В., Орлова Т.Г. Скринінг накопичення біологічно активних речовин в ірісі угорському впродовж вегетаційного періоду. *Актуальні питання фармацевтичної і*

- медичної науки та практики. 2019. Т. 12. № 2 (30). С. 135–140 (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, інтерпретації одержаних даних, оформленні статті).
7. Керімова Г., Кречун А., Рибак В., Михайленко О., Ковальов В. Дослідження антиексудативної активності сухих екстрактів листя та кореневищ *Iris hungarica*. *Ukrainian Biopharmaceutical Journal*. 2019. № 4 (61). Р. 55–58. (Особистий внесок – брала участь у проведенні експерименту, пробопідготовці, оформленні статті).
 8. Ковальов В. М., Кречун А. В., Михайленко О. О., Домарьов А. П. Спосіб одержання засобу з антигерпетичною, антиоксидантною та антимікробною активністю з листя півників угорських : пат. на корисну модель 135620 Україна. № и 2019 00863 ; заявл. 28.01.19 ; опубл. 10.07.19. Бюл. № 13. (Особистий внесок – брала участь у патентному пошуці, виконанні експерименту, оформленні патенту).
 9. Krechun A. V., Kovalev V. N., Mykhailenko O. O. Determination of quantitative composition of xanthones in the underground organs of *Iris sibirica* and *Iris hungarica*. *Topical issues of new drugs development : abstracts of XXII international scientific and practical conference of young scientists and student*, April 23, 2015. Kh., 2015. Vol. 1. P. 80–81
 10. Krechun A. V., Mykhailenko O. A., Kovalev V. N. Research of quantitative value amount of γ – piron of iris hungarica and iris sibirica leaves. *Topical issues of new drugs development : abstracts of XXIII international scientific and practical conference of young scientists and student*, April 21, 2016. Kh., 2016. Vol. 1. P. 84–85.
 11. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В. Фенольні сполуки півників угорських та їх антибактеріальна активність. *Хімія природних сполук* : матеріали конф., 21–22 квіт. 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 22–23.
 12. Krechun A. V. Perspectiveness of the use of some representatives of the genus *Iris* L. *Topical issues of new drugs development : abstracts of XXIV*

- international scientific and practical conference of young scientists and student, April 20, 2017. Kh., 2017. Vol. 1. P. 85–86.
13. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В. Перспективність створення антимікробного засобу на основі півників. *Ліки–людині : матеріали I Міжнар. наук.–практ. конф.*, 30–31 берез. 2017 р. Харків, 2017. С. 186.
 14. Кречун А. В., Михайленко О. А. Предварительное изучение биологически активных веществ некоторых сортов рода *Iris* L. методом хроматографии. *Актуальные вопросы современной медицины и фармации 2017 : материалы 69-й итоговой науч.–практ. конф. студентов и молодых ученых, г. Витебск, ВГМУ, 19–20 апр. 2017 г. Витебск : ВГМУ, 2017. С. 199–200.*
 15. Krechun A. V., Mykhailenko O. O. Primary screening of the biologically active compounds of *Iris hungarica* Waldst. Et Kit. *Relevant issues of modern medicine: the experience of Poland and Ukraine : International research and practice conference. Lublin, 2017. P. 117–120.*
 16. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М. Розробка методики одержання сухих екстрактів з листя та кореневищ сортових півників. *Актуальні питання медичної теорії та практики : зб. матеріалів міжнар. наук.–практ. конф., м. Дніпро, 8–9 груд. 2017 р. Дніпро : Організація наукових медичних досліджень «Salutem», 2017. С. 113–114.*
 17. Krechun A., Kovalyov V., Mykhailenko O. Establishment of elemental composition of the leaves and rhizomes of *Iris hybrida* hort. “Indian Pow Wow” : The International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy practice is organized by the Faculty of Pharmacy of Lithuanian Health Sciences University in collaboration with Lithuanian Pharmaceutical Association and LSMU FF Alumni Association. Kaunas, 2017. P. 73–75.
 18. Krechun A. V., Mykhailenko O. O., Kovalyov V. M. Organic and hydrocinnamic acids of *Iris hungarica*. *Актуальные вопросы образования,*

- науки и производства в фармации* : материалы респ. науч.–практ. конф. с междунар. участием. Ташкент, 2016. С. 6–7.
19. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М. Встановлення основних технологічних показників сировини півників гібридних сортів «Mini Dynamo» та «Indian Pow Wow». *Медична наука та практика XXI століття* : зб. тез наук. робіт учасників міжнар. наук.–практ. конф., м. Київ, 2–3 лют. 2018 р. Київ : «Київський медичний науковий центр», 2018. С. 104–107.
 20. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М., Ковальов С. В. Хроматографічний аналіз амінокислот рослин родини Iridaceae. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези доп. Всеукр. наук.–практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 80–річчю з дня народж. д-ра фармац. наук, проф. О. М. Гайдукевича, 12–13 квіт. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 271.
 21. Krechun A. V., Mykhailenko O. O. The use of thin-layer chromatography in analysis of xanthones of plant objects. *Topical issues of new medicines development* : матеріали XXVI Міжнар. наук.–практ. конф. молодих учених та студентів, м. Харків, 10–12 квіт. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. С. 49–50.
 22. Кречун А. В., Михайленко О. О. До питання стандартизації сировини півників. *Управління якістю в фармації* : матеріали XII наук.–практ. конф., м. Харків, 18 трав. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 106–107.
 23. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М. Макро– та мікроскопічний аналіз сировини півників угорських. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.–практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 20–й річниці заснування Дня фармац. працівника України, м. Харків, 19–20 верес. 2019 р. : у 2 т. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 224–226.
 24. Кречун А. В., Михайленко О. О. Дослідження вмісту ізофлавоноїдів у сировині сортових півників. *Perspectives of science and education* :

- Proceedings of the 11th International youth conference. New York, 2019. С. 113–117.
25. Krechun A. V., Mykhailenko O. O., Kovalyov V. M. Determination of the xanthon glycoside mangiferin content in the rhizomes of *Iris hungarica* by HPLC method. *XIII International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds*. October 16–19. Shanghai, 2019. P. 127.
26. Krechun A., Mykhailenko O., Kovalyov V. Chemical compositions of the essential oil of Irises hybrid rhizomes. *Science and Practice 2019 : The 10th International Pharmaceutical Conference*, Lithuanian University of Health Sciences, Faculty of Pharmacy. Kaunas, 2019. P. 48.
27. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В. Оптимальні терміни заготівлі кореневищ іриса угорського (*Iris hungarica* Waldst. et Kit.) : інформ. лист № 374–2018. Вип. 47 з проблеми «Фармація». Київ, 2018. 4 с.
28. Михайленко О. О., Ковальов В. М., Буйдін Ю. В., Кречун А. В. Оптимальні умови вирощування лікарської та ефіроолійної рослинної сировини кореневищ сортових ірисів (*Iris hybrida*) в Україні : інформ. лист № 375–2018. Вип. 48 з проблеми «Фармація». Київ, 2018. 4 с.

Продовж. дод. Г

Апробація результатів дисертації

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

1. XXII international scientific and practical conference of young scientists and student (Kharkiv 2015., форма участі – усна доповідь та публікація тез)
2. Фармація XXI століття: тенденції та перспективи – VIII Нац. з'їзду фармацевтів України (м. Харків 2016 р., форма участі – публікація тез)
3. Республиканская научно-практическая конференция (с международным участием) «Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации» (Ташкент, 2016., форма участі – публікація тез)
4. XXIII international scientific and practical conference of young scientists and student (Kharkiv 2016., форма участі – публікація тез)
5. конференція «Хімія природних сполук (Тернопіль 2016, форма участі – публікація тез)
6. XXIV international scientific and practical conference of young scientists and student (Kharkiv 2017., форма участі – публікація тез)
7. I Міжнародна науково-практична конференція «Ліки-людині» (Харків 2017, форма участі – публікація тез)
8. 69-я итоговая научно-практическая конференция студентов и молодых ученых (г. Витебск, ВГМУ, 2017 г., форма участі – публікація тез)
9. International research and practice conference «Relevant issues of modern medicine: the experience of Poland and Ukraine», (Lublin (Poland) 2017., форма участі – публікація тез)
10. Організація наукових медичних досліджень «Salutem» - міжнародна науково-практична конференція (м. Дніпро, 2017 р., форма участі – публікація тез)
11. The International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy practice is organized by the Faculty of Pharmacy of Lithuanian Health Sciences University in collaboration with Lithuanian Pharmaceutical Association and

- LSMU FF Alumni Association (Kaunas, Lithuania, 2017., форма участі – публікація тез)
12. Медична наука та практика XXI століття – міжнародної науково-практичної конференції (м. Київ, 2018 р., форма участі – публікація тез)
 13. Всеукраїнська наук.-практична конференція з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича (Харків, 2018 р., форма участі – публікація тез)
 14. Управління якістю в фармації: XII наук.-практична конференція (м. Харків, 2018 р., форма участі – публікація тез)
 15. XXVI Міжнародна наук.-практична конференція молодих учених та студентів (м. Харків, 2019., форма участі – усна доповідь та публікація тез)
 16. Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку: наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України (м. Харків, 2019 р., форма участі – публікація тез)
 17. Perspectives of science and education – 11th International youth conference (New York, USA, 2019., форма участі – публікація тез)
 18. XIII International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds (October 16–19 Shanghai, 2019., форма участі – публікація тез)
 19. Science and Practice 2019: The 10th International Pharmaceutical Conference, Lithuanian University of Health Sciences, Faculty of Pharmacy (Kaunas, 2019., форма участі – постерна доповідь та публікація тез).