

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет

ГУРТОВЕНКО ІРИНА ОЛЕКСАНДРІВНА



УДК: 582.734.4:582.949.2:615.07:615.322:54.061/.062:547.9:577.15/.17

ПОРІВНЯЛЬНЕ ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕЯКИХ
ВИДІВ РОДУ АГАСТАХЕ (*AGASTACHE J. CLAYTON EX GRONOV*)

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Запоріжжя – 2020

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармацевтичної і біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет».

Науковий керівник доктор фармацевтичних наук, професор **Коновалова Олена Юріївна**, ПВНЗ «Київський медичний університет», завідувач кафедри фармацевтичної і біологічної хімії, фармакогнозії.

Офіційні опоненти:

доктор фармацевтичних наук, професор **Сербін Анатолій Гаврилович**, Національний фармацевтичний університет, професор кафедри ботаніки;

доктор фармацевтичних наук, доцент **Карпюк Уляна Володимирівна**, Національний медичний університет, доцент кафедри фармакогнозії та ботаніки.

Захист відбудеться «16» квітня 2020 року о 12⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 17.600.03 при Запорізькому державному медичному університеті за адресою: 69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Запорізького державного медичного університету (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26).

Автореферат розісланий «16» березня 2020 року.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради



С. О. Васюк

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Застосування лікарської рослинної сировини при виробництві та створенні нових лікарських засобів є актуальним завданням фармації. Клінічна практика засвідчує, що фітопрепарати мають широкий спектр дії, низьку токсичність і не спричиняють побічної дії на організм. На особливу увагу при створенні нових лікарських засобів рослинного походження заслуговують рослини, які здавна використовуються в народній медицині. В числі таких цінних та ще мало вивчених рослин є представники роду Агастахе *Agastache* J. Clayton ex Gronov. (синонімічна назва – Лофант або Багатоколосник), які широко застосовують в східній медицині при застудних захворюваннях і запальних процесах шлунково-кишкового тракту і сечовивідної системи; зовнішньо – при дерматитах грибкового походження, себореї, для зміцнення росту волосся. В той же час в науковій медицині рослини роду *Agastache* не використовуються, хімічний склад видів роду вивчений недостатньо. Саме тому фармакогностичне дослідження рослин даного роду з метою виявлення нових джерел біологічно активних речовин серед культивованих рослин з метою створення нових фітопрепаратів та подальшої стандартизації перспективних видів сировини є актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи ПВНЗ «Київський медичний університет» «Експериментальне і клінічне обґрунтування механізмів дії біологічно-активних речовин, фізичних та інформаційних факторів» (№ державної реєстрації 0113U007296). Особиста участь полягає у комплексному системному фармакогностичному дослідженні рослин роду *Agastache* як перспективного джерела для отримання лікарських засобів, що впливають на різні функції і системи організму людини.

Мета і завдання дослідження. Метою даної роботи було порівняльне фармакогностичне вивчення деяких видів роду *Agastache*.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- проаналізувати та узагальнити сучасні дані літературних джерел щодо систематичного положення, морфологічних особливостей, географічного поширення, хімічного складу і застосування у медицині видів роду *Agastache*;
- ідентифікувати БАР та визначити їхній кількісний вміст у сировині агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого та виявити найбільш перспективні види сировини для подальших досліджень;
- розробити оптимальну технологію одержання екстрактів з перспективних видів сировини та визначити основні БАР в отриманих екстрактах;
- встановити основні морфолого-анатомічні діагностичні ознаки сировини досліджуваних видів;
- провести стандартизацію сировини і екстрактів та розробити проекти МКЯ;

– дослідити можливість отримання стандартизованої біомаси сировини агастахе в культурі *in vitro*;

– встановити гостру токсичність і визначити фармакологічну активність отриманих субстанцій.

Об'єкт дослідження. Комплексне фармакогностичне дослідження трави *Agastache foeniculum* (Pursch) Kuntze, *A. urticifolia* (Benth.) Kuntze та екстрактів з трави досліджуваних видів, параметри їхньої стандартизації.

Предмет дослідження. Виявлення, ідентифікація БАР у траві деяких видів *Agastache* на різних стадіях онтогенезу та встановлення їх кількісного вмісту, визначення діагностичних ознак анатомічної будови, отримання лікарських субстанцій та встановлення їх фармакологічної активності.

Методи дослідження. Для ідентифікації і визначення кількісного вмісту БАР були застосовані такі методи: хроматографічні – ТШХ, ПХ, ВЕРХ, ГХ, ГХ-МС, УФ-спектрофотометрія і спектрофотометрія у видимій частині спектра, ІЧ-спектроскопія; хімічні – хімічні реакції кольорові, осадові, комплексоутворення, титрування. Елементний склад було досліджено методом РФА. Анатомічна будова була встановлена на препаратах з поверхні та поперечних зрізах листка, черешків, стебел. Визначення фармакологічної активності було проведено за методиками *in vivo* та *in vitro* за стандартними методиками. Статистичну обробку результатів експериментів проводили згідно з вимогами ДФУ.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше проведено порівняльне комплексне фармакогностичне вивчення трави *A. foeniculum* та *A. urticifolia*, що вирощуються в Україні.

Загалом в результаті роботи в сировині *A. foeniculum* ідентифіковано 112 сполук, які включають 15 класів сполук, з яких вперше – багатоатомні спирти, моно- та дисахариди. В сировині *A. urticifolia* ідентифіковано 112 сполук, які включають 15 класів сполук, серед яких вперше – ГКК, флавоноїди, багатоатомні спирти, моно- та дисахариди, органічні та жирні кислоти, амінокислоти, хімічні елементи.

Встановлено кількісний вміст флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, катехінів, фенольних кислот, компонентного складу ефірних олій, вільних та зв'язаних цукрів та багатоатомних спиртів, жирних кислот, вільних та зв'язаних амінокислот, хімічних елементів; в тому числі – багатоатомні спирти, моно- та дисахариди – вперше.

Вперше методами спектрофотометрії визначено кількісний вміст суми поліфенолів, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, проціанідинів у траві агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого в залежності від фаз вегетації, що дозволило встановити оптимальні умови заготівлі сировини.

Вперше отримано культуру рослин видів *Agastache*, вирощених *in vitro* (з насіння) та проведено порівняльне дослідження вмісту основних БАР у траві агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого, що культивувались *in vitro* та в умовах відкритого ґрунту.

Вперше розроблено схему комплексної переробки сировини агастахе фенхельного, а саме, отримання ліпофільного екстракту з антибактеріальною та

протигрибковою дією та отримання зі шроту рідкого екстракту з гепатопротекторною та антиоксидантною дією, що забезпечується подальшим екстрагуванням знежиреної сировини водно-спиртовою сумішшю.

Вперше досліджено антибактеріальну активність ліпофільного екстракту з трави агастахе фенхельного та гепатопротекторну дію рідкого екстракту з трави агастахе фенхельного.

Практичне значення отриманих результатів. Розроблено технологічну схему одержання ліпофільного екстракту з трави агастахе фенхельного з антимікробною активністю. Розроблено технологічну схему одержання рідкого екстракту з трави агастахе фенхельного з гепатопротекторною та антиоксидантною активністю.

На основі отриманих результатів досліджень отримано патент України на корисну модель № 130906 від 26.12.2018 (Фітозасіб із гепатопротекторною активністю).

Розроблено проекти МКЯ «Агастахе фенхельного трава», «Ліпофільний екстракт агастахе фенхельного» та «Поліфенольний екстракт агастахе фенхельного». Розроблені методики контролю якості сировини та отриманих субстанцій апробовані в промислових умовах лабораторії фізико-хімічного контролю СУП ТОВ «Сперко», м. Вінниця та лабораторії фізико-хімічного контролю ТОВ «БІОТЕСТЛАБ», м. Київ.

Результати досліджень впроваджено в навчальний процес та науково-дослідну роботу кафедри фармацевтичної хімії та кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії і технології ліків Запорізького державного медичного університету, кафедри хімії природних сполук та кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету, кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського, кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету ім. Д. Галицького, кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету, кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця.

Особистий внесок здобувача. Здобувачем особисто проведено інформаційно-патентний пошук та аналіз наукових першоджерел щодо хімічного складу, особливостей використання рослин роду *Agastache* в народній і науковій медицині; проведено вивчення якісного складу і кількісного вмісту БАР рослин роду *Agastache*; досліджено морфолого-анатомічну будову трави агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого та встановлено її основні діагностичні ознаки; розроблено технологічні схеми одержання ліпофільного екстракту та рідкого екстракту з трави агастахе фенхельного; проведено стандартизацію сировини агастахе фенхельного і отриманих екстрактів та розроблено проекти МКЯ «Агастахе фенхельного трава», «Ліпофільний екстракт агастахе фенхельного» та «Поліфенольний екстракт агастахе фенхельного»; проведено статистичну обробку отриманих експериментальних даних, оформлено всі розділи дисертаційної роботи.

Дисертантом взято безпосередню участь в оформленні статей, тез доповідей та патенту України на корисну модель.

Наукові роботи опубліковані у співавторстві з науковим керівником Коноваловою О. Ю. та науковцями, спільно з якими проведені дослідження – Геращенком І. І., Серединською Н. М., Середою П. І., Шураєвою Т. К., Меньшовою В. О., Калістою М. С., Щербаковою О. Ф., Гудзенко Н. В., Пушкарьовою Н. О., Гергель Є. М., Гергелем О. В., Гудзенком О. І., Омельковець Т. С., Ящук Б. О., Романюк А. О., Атякшевою Н. В., Михайловською О. А. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були представлені та обговорені на VIII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація XXI століття: Тенденції та перспективи» (13-16 вересня 2016, Харків), на Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні теоретичні та практичні аспекти щодо стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини» (28-29 жовтня 2016, Київ), на VI науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (10-11 листопада 2016, Тернопіль), на IV Міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів і молодих учених «Інновації та перспективи сучасної медицини» ВІМСО 2017 (5-7 квітня 2017, Чернівці), на XXI Міжнародному конгресі студентів та молодих вчених присвяченому 60-річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України (24-26 квітня 2017, Тернопіль), на I Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (5 квітня 2018, Харків), на XXII Міжнародному конгресі студентів та молодих вчених Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України (23-25 квітня 2018, Тернопіль), на II Всеукраїнській науковій конференції «Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи» (16 травня 2018, Житомир), на Науковому форумі з міжнародною участю. Сучасні теоретико-практичні аспекти у розв'язанні послідовності реалізації впровадження «Стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини» у первинну ланку охорони здоров'я (26 жовтня 2018, Київ), на III Міжнародній науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (26-28 листопада 2018, Харків), на V Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (30-31 травня 2019 року, м. Тернопіль), на XII Національному медичному конгресі з міжнародною участю «Людина та ліки» (27-28 березня 2019, Київ), на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку», присвяченій 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України (19-20 вересня 2019, Харків).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 24 наукові праці, з них 5 статей у наукових фахових виданнях, з яких 2 статті у

закордонних виданнях, 1 патент України на корисну модель, 18 тез доповідей на науково-практичних конференціях та конгресах.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 267 сторінках машинописного тексту, складається з переліку умовних позначень, вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 6 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 148 сторінок друкованого тексту. Роботу ілюстровано 45 таблицями та 27 рисунками. Список використаних джерел містить 255 найменувань, із них 144 кирилицею та 111 латиною.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Сучасний стан досліджень представників роду *Agastache* (огляд літератури)

Проведено детальний аналіз джерел літератури щодо систематичного положення, морфологічних особливостей, географічного поширення, стану природних ресурсів та культивування, хімічного складу та використання видів роду *Agastache* в медицині та фармації. Наявність у рослин даного роду широкого спектра БАР, різнобічної фармакологічної активності, а легкість вирощування та культивування видів агастахе фенхельного та а. кропиволистого в умовах України і недостатня їх фітохімічна та фармакологічна дослідженість створює підґрунтя для комплексного вивчення видів роду *Agastache* з метою створення на основі їх БАР нових лікарських засобів.

Об'єкти та методи дослідження

Об'єктами дослідження були трава *Agastache foeniculum* (Pursch) Kuntze, *A. urticifolia* (Benth.) Kuntze, заготовлена у фазу РВО (травень) та у фазу МЦ (з червня до середини липня) у 2016–2018 роках на дослідних ділянках Ботанічного саду ім. академіка О. В. Фоміна в м. Києві. Вихідним матеріалом для започаткування культури рослин *in vitro* слугувало насіння досліджуваних видів, отримане з природних рослин у вересні 2017 р. Об'єктами фармакологічних досліджень стали ліпофільний та рідкий екстракти із трави агастахе фенхельного, отримані екстрагентами: хлороформом та водно-спиртовою сумішшю. У розділі наведено методики для вивчення елементного складу (РФА); амінокислот (ПХ, ВЕРХ), жирних кислот (ГХ-МС), вуглеводів (ПХ, ГХ-МС, гравіметричний метод), летких сполук (ТШХ, ГХ-МС), поліфенольних сполук (ТШХ, ВЕРХ), суми сполук фенольної природи (СФ). Фармакологічні дослідження проводили *in vivo* та *in vitro* з використанням стандартних методик.

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту БАР у сировині видів роду *Agastache*

За допомогою хімічних якісних реакцій, результатів хроматографічного дослідження (ПХ, ТШХ) у траві *A. foeniculum* та *A. urticifolia* ідентифіковано вуглеводи (арабінозу, галактозу, глюкозу, манозу, фруктозу, галактуронову кислоту), амінокислоти (глутамінову к-ту, аргінін, серин, β -аланін), органічні кислоти (яблучну, винну, лимонну та аскорбінову кислоти), ГКК (хлорогенову, розмаринову, кофейну кислоти), флавоноїди (рутин, апігенін, лютеолін та кверцетин), терпеноїди (ментол, ліналоол, пулегон).

Методом РФА («ElvaX» ТОВ «Елватех», Україна) досліджено якісний склад та кількісний вміст макро- та мікроелементів трави *A. foeniculum* та *A. urticifolia* в порівнянні з макро- та мікроелементним складом ґрунту. В об'єктах дослідження серед макроелементів домінують кальцій (а. фенхельний – 1047,2 мг/100 г, а. кропиволистий – 810,2 мг/100 г), калій (а. фенхельний – 677,7 мг/100 г, а. кропиволистий – 724,2 мг/100 г) та сірка (а. фенхельний – 567,8 мг/100 г, а. кропиволистий – 107,9 мг/100 г), а серед мікроелементів – залізо (а. фенхельний – 12,9 мг/100 г, а. кропиволистий – 14,5 мг/100 г). Відзначено, що склад ґрунту істотно впливає на мінеральний склад трави агастахе, тому, враховуючи, що рослини цих видів здатні накопичувати цінні для людини хімічні елементи, можна за рахунок відповідного коригування складу ґрунту досягти бажаного збагачення сировини.

Методом ВЕРХ (Agilent 1200 (Agilent technologies, USA)) у траві *A. foeniculum* та *A. urticifolia* ідентифіковано та встановлено вміст 15 вільних амінокислот та 16 амінокислот у зв'язаному стані, 7 з яких є незамінними. В результаті дослідження встановлено, що амінокислотний склад обох видів, що вивчались, у фазі масового цвітіння є подібним, проте у траві *A. foeniculum* міститься більше вільних та зв'язаних амінокислот (46,7 мг/100 г; 9216,7 мг/100 г), ніж у траві *A. urticifolia* (24,8 мг/100 г та 5630,7 мг/100 г відповідно). Домінуючими серед зв'язаних амінокислот є пролін, лейцин, лізин, аргінін та аланін. Серед вільних амінокислот переважають пролін, аргінін, глутамінова кислота, аспарагінова кислота та аланін.

Методом ГХ-МС (Agilent 6890N/5973 inert (Agilent Technologies, USA)) було досліджено жирнокислотний склад трави *A. foeniculum* та *A. urticifolia*. В ліпофільному комплексі трави *A. foeniculum* та *A. urticifolia* домінують поліненасичені α -ліноленова (69,2 мг/100 г та 49,5 мг/100 г відповідно) та лінолева кислоти (22,9 мг/100 г та 16,8 мг/100 г відповідно). Серед насичених жирних кислот для обох видів найвищий вміст характерний для пальмітинової кислоти (42,1 мг/100 г та 26,9 мг/100 г відповідно) (рис.1).

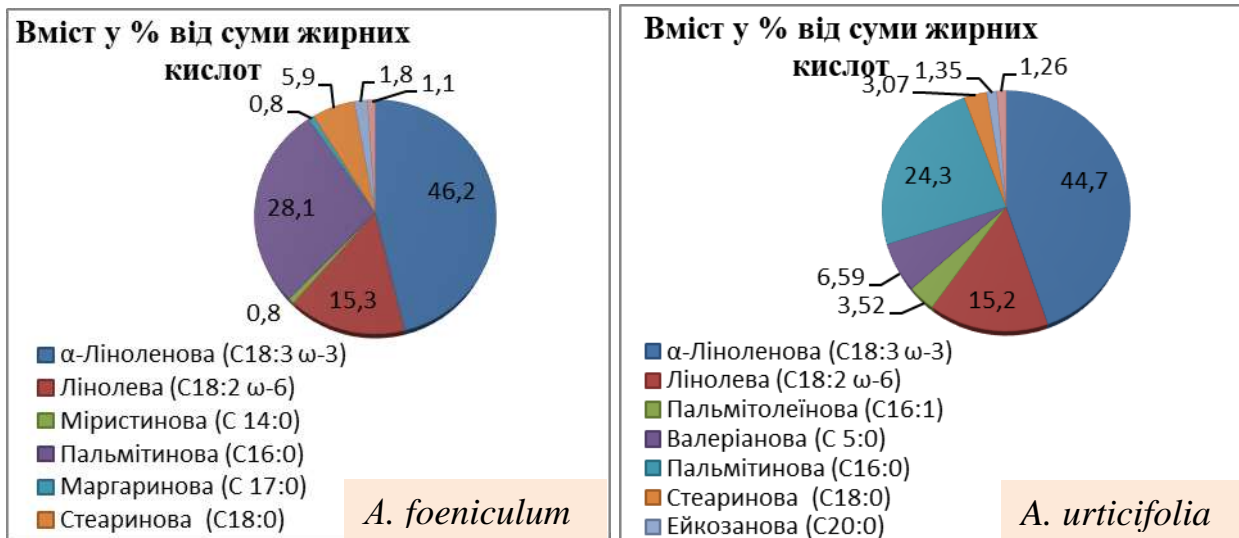


Рис. 1. Вміст жирних кислот у загальній сумі ідентифікованих жирних кислот у траві видів роду *Agastache*

Гравіметричним методом визначено вміст полісахаридів та їх окремих фракцій у траві *A. foeniculum* та *A. urticifolia*. Встановлено, що в траві обох видів він є досить подібним. Переважаючими фракціями полісахаридного комплексу є ВРПС, дещо меншим є вміст ПР і ГЦ Б, а найменшим – ГЦ А (рис. 2).

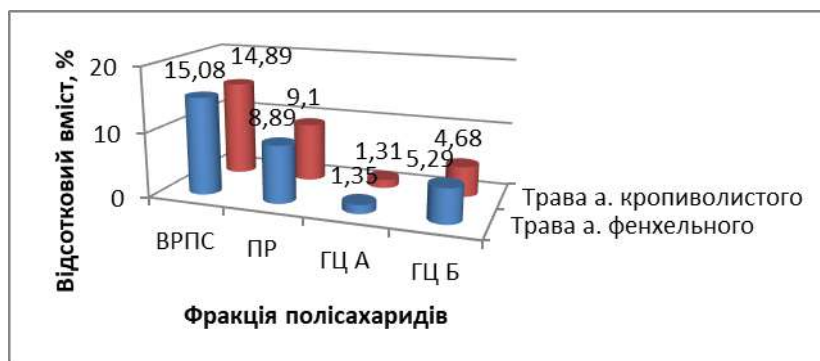


Рис. 2. Кількісний вміст окремих фракцій полісахаридів у траві *A. foeniculum* та *A. urticifolia*, %

Вперше методом ГХ-МС (Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA)) було визначено вміст моно-, дисахаридів та багатоатомних спиртів у траві *A. foeniculum* та *A. urticifolia*. В результаті проведених досліджень встановлено, що в траві *A. foeniculum* за кількісним вмістом переважають сахароза (4822 мг/100 г), глюкоза (1005 мг/100 г), інозитол (528 мг/100 г) та фруктоза (136 мг/100 г), а в траві *A. urticifolia* – сахароза (6287 мг/100 г), глюкоза (521 мг/100 г), інозитол (369 мг/100 г).

Методом ГХ-МС (Agilent 6890N/5973 inert (Agilent Technologies, USA)) визначено склад легких сполук трави *A. foeniculum* та *A. urticifolia* в онтогенезі при інтродукції в Україні (м. Київ). У траві *A. foeniculum* та *A. urticifolia*, заготовлених у фазу РВО, ідентифіковано 42 та 36 легких сполук, у фазу МЦ – 30 та 50, відповідно, визначено їх відсотковий вміст. Встановлено, що домінуючими компонентами трави досліджуваних видів, незалежно від фази

онтогенезу, є ментон, ізоментон, пулегон, D-лімонен. У менших кількостях представлені кубенен, γ -елемен, β -каріофілен, β -бурбонен. В процесі онтогенезу вміст летких сполук змінюється, а саме: вміст пулегону істотно збільшується у фазу МЦ (у 2,8 рази у *A. foeniculum* та у 2,64 рази у *A. urticifolia*) в порівнянні з фазою РВО (рис. 3).

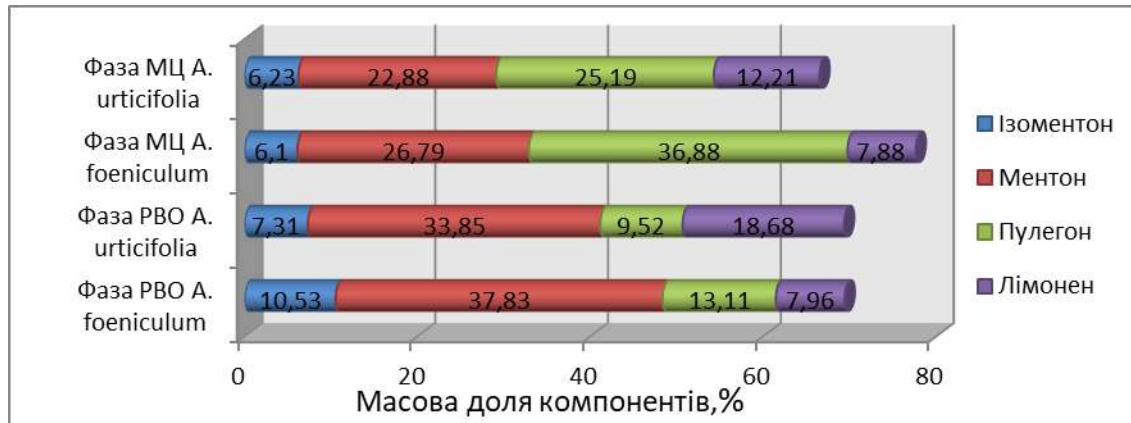


Рис. 3. Вміст мажоритарних терпеноїдів у траві видів роду *Agastache* в залежності від фази онтогенезу

Досліджено компонентний склад та кількісний вміст флавоноїдів (у тому числі – катехинів), кумаринів, ГКК, фенольних кислот у траві *A. foeniculum* методом ВЕРХ (Agilent 1200 (Agilent Technologies, USA)). Ідентифіковано ряд сполук поліфенольної природи, зокрема флавоноїди (рис. 4): флавони та флавоноли – гіперозид, рутин, кверцетин-3-D-глікозид, лютеолін, апігенін, кверцетин, кемпферол, катехіни (рис. 6) – епігалокатехін, катехін, епікатехін, епікатехінгалат; ГКК (рис. 5) – хлорогенова, кофейна, ферулова, *n*-кумарова, розмаринова; фенольні кислоти (рис. 6) – елагова та галова; кумарин (рис. 4) – скополетин.

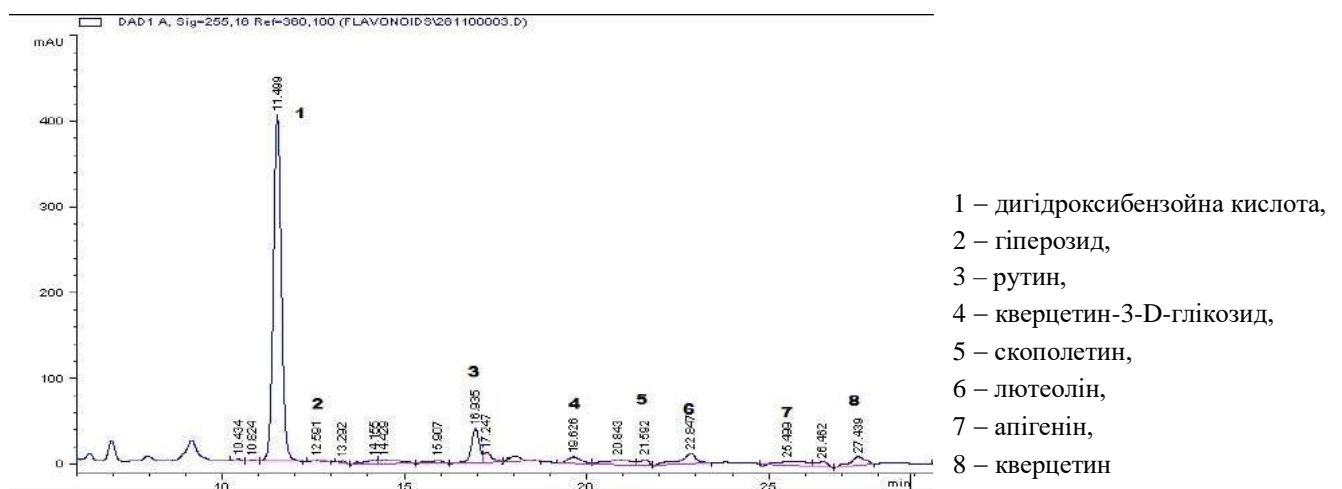


Рис. 4. Хроматограма флавоноїдів та кумаринів трави *A. foeniculum*

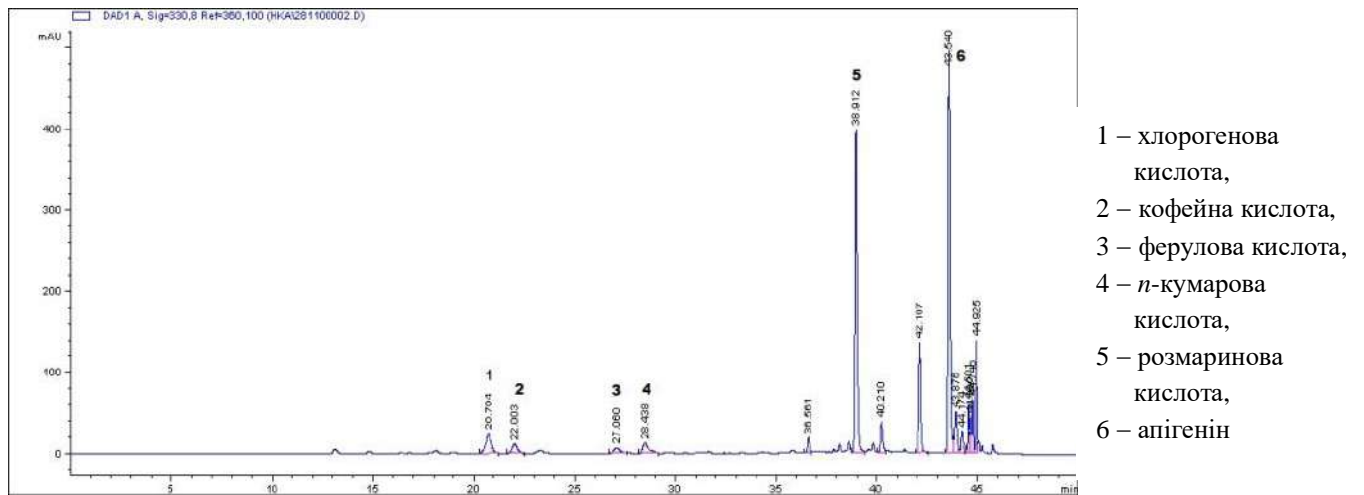


Рис. 5. Хроматограма гідроксикоричних кислот та апігеніну трави *A. foeniculum*

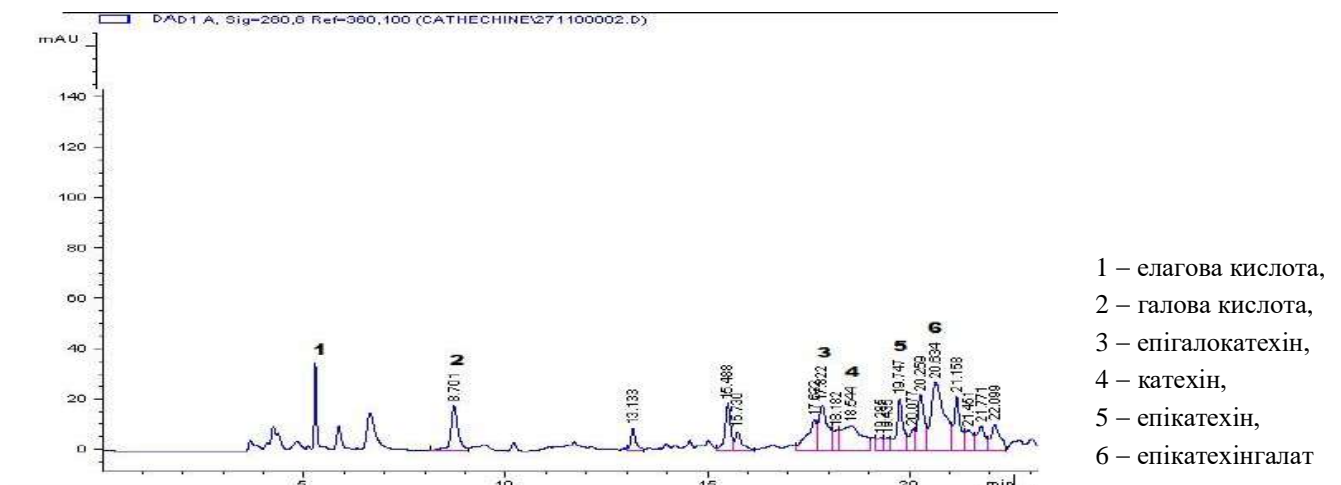


Рис. 6. Хроматограма фенольних кислот та катехинів трави *A. foeniculum*

Встановлено, що домінуючими компонентами трави *A. foeniculum* є епігалокатехін (1411,7 мг/100 г), апігенін (1185 мг/100 г) та розмаринова кислота (1179,1 мг/100 г), дещо менший вміст рутину (633,1 мг/100 г), катехіну (243,6 мг/100 г), хлорогенової кислоти (239,5 мг/100 г).

Спектрофотометрично (спектрофотометр ULAB 108UV (ULAB, Китай)) досліджено динаміку накопичення сполук поліфенольної природи у сировині досліджуваних видів. Аналіз отриманих даних (табл. 1) показав, що в процесі онтогенезу вміст основних груп БАР поліфенольної природи у сировині *A. foeniculum* та *A. urticifolia* змінюється незначно. Сумарний кількісний вміст поліфенольних сполук для обох видів агастахе є більшим у фазу МЦ, тоді як вміст флавоноїдів та проціанідинів майже не змінюється, а вміст ГКК у фазу МЦ, навпаки, дещо знижується (у траві а. фенхельного на 0,56%, у траві а. кропиволистого – на 2,07%).

**Кількісний вміст сполук поліфенольної природи у сировині
A. foeniculum та *A. urticifolia* в онтогенезі**

Об'єкт дослідження / клас сполук	Вміст, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ від маси повітряно-сухої сировини			
	Агастахе фенхельний		Агастахе кропиволистий	
	Фаза РВО	Фаза МЦ	Фаза РВО	Фаза МЦ
Поліфеноли	5,99 ±0,05	9,48 ±0,07	5,83 ±0,05*	9,41 ±0,05 ^o
ГКК	28,32±0,13	27,76±0,13	28,36±0,13 [#]	26,29±0,21 [^]
Флавоноїди	2,22±0,025	2,31±0,002	2,14±0,04 [#]	2,25±0,002 [^]
Проціанідини	4,82±0,001	5,29±0,001	4,53±0,001*	5,00±0,001 [^]

Примітка. n = 5, P=0,95; *- (p≤0,05) вірогідність відмінностей порівняно з а. фенхельним у стадії РВО; # - (p≥0,05) вірогідність відмінностей порівняно з а. фенхельним у стадії РВО; ^- (p≤0,05) вірогідність відмінностей порівняно з а. фенхельним у стадії МЦ; ^o - (p≥0,05) вірогідність відмінностей порівняно з а. а. фенхельним у стадії МЦ

Тому для отримання субстанцій з високим вмістом суми поліфенольних сполук оптимальним терміном заготівлі сировини *A. foeniculum* та *A. urticifolia* є фаза МЦ, тоді як для одержання субстанцій з високим вмістом ГКК, флавоноїдів та проціанідинів сировина може бути зібрана протягом усього вегетаційного періоду.

**Стандартизація сировини та розробка технології одержання
лікарських засобів на її основі**

Вивчено макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки сировини видів *Agastache*. При співставленні основних морфологічних ознак *A. foeniculum* та *A. urticifolia*, виділено наступні діагностичні відмітні ознаки, характерні для кожного виду (табл. 2).

**Основні морфологічні відмітні діагностичні ознаки
A. foeniculum та *A. urticifolia***

Діагностичні ознаки	<i>A. foeniculum</i>	<i>A. urticifolia</i>
Довжина зубців чашечки	1–2 мм	1,7-5 мм
Характер опушення нижньої поверхні листових пластинок	Густе, притиснуте білоповстисте	Відсутність або слабе опушення
Кількість жилок чашечки	15	3
Колір віночка та розмір його трубки	Блакитний, пурпурово-ліловий, трубка 6,5–7,5 мм	Від рожево-фіолетового до білуватого, трубка 3–12 мм

Проведено аналіз анатомічних показників листків, черешків, стебел різновікових особин *A. foeniculum* та *A. urticifolia* ювенільної та генеративної стадій онтогенетичного розвитку. У генеративних особин також досліджувались пелюстки. Виявлені анатомічні відмінності, які можуть використовуватись як ключові показники якості при стандартизації досліджуваних видів та ідентифікації сировинного матеріалу. А саме:

- опушення листків простими трихомами з абаксіального боку у *A. foeniculum* рівномірне, густе, трихоми 1–2 клітинні, короткі; у *A. urticifolia* – розсіяне, переважно по жилках, трихоми 2–4 клітинні, довгі (рис. 7);

- у *A. urticifolia*, на відміну від *A. foeniculum*, з адаксіального боку листка та абаксіального боку черешка повністю відсутні залозисті трихоми з 2-клітинною ніжкою і 2-клітинною голівкою, кількісно їх втричі менше; у *A. foeniculum* ефіроолійних сидячих залозистих трихом на 60% більше;

- стебла *A. foeniculum* густіше опушені у порівнянні з *A. urticifolia* (рис. 8);

- пелюстки *A. urticifolia* містять меншу кількість залозистих та простих трихом порівняно з *A. foeniculum* (рис. 9);

- показники товщини епідерми різних органів більші у *A. urticifolia*; товщина листків та пелюсток також більша ніж у *A. foeniculum*.

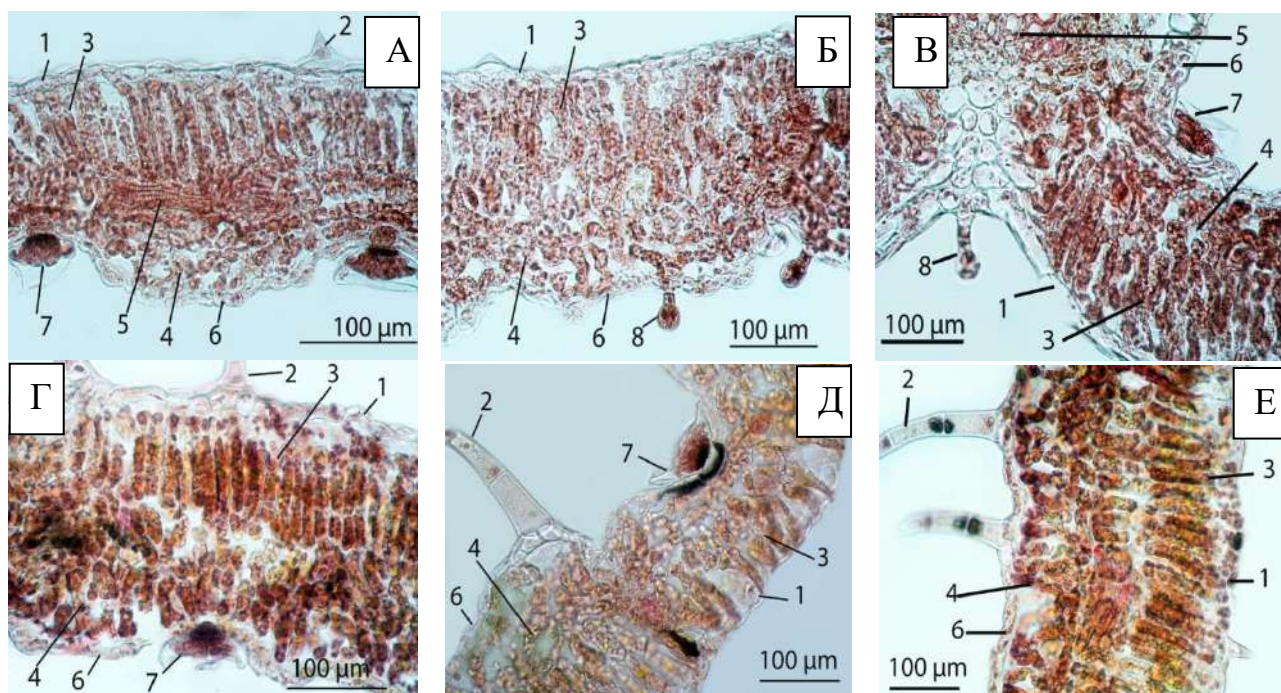


Рис. 7. Мікрофотографії поперечного перерізу листків ювенільних особин *A. foeniculum* (А, Б), *A. urticifolia* (Г, Д) та генеративних особин *A. foeniculum* (В), *A. urticifolia* (Е). 1 – адаксіальна епідерма, 2 – незалозиста трихома, 3 – стовпчаста паренхіма, 4 – губчаста паренхіма, 5 – провідний пучок, 6 – абаксіальна епідерма, 7 – ефіроолійні залозисті трихоми, 8 – залозисті трихоми з 2-клітинною голівкою

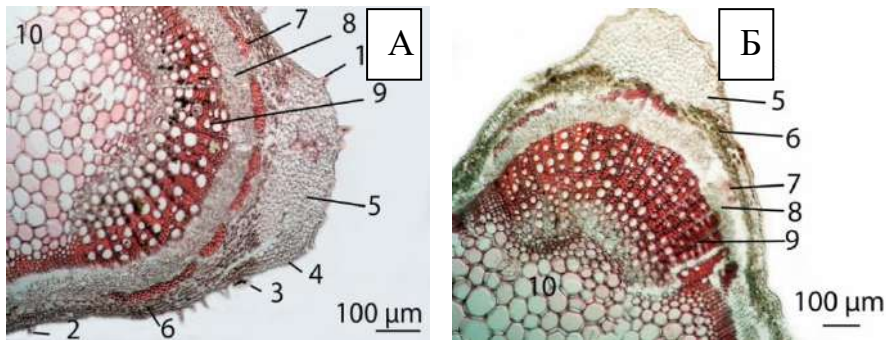


Рис. 8. Мікрофотографії поперечного перерізу стебел *A. foeniculum* (А), *A. urticifolia* (Б). 1 – прості трихоми, 2 – залозисті трихоми з 2-клітинною голівкою, 3 – ефіроолійні залозисті трихоми, 4 – епідерма, 5 – коленхіма, 6 – кора паренхіма, 7 – склеренхіма, 8 – флоема, 9 – ксилема, 10 – серцевинна паренхіма

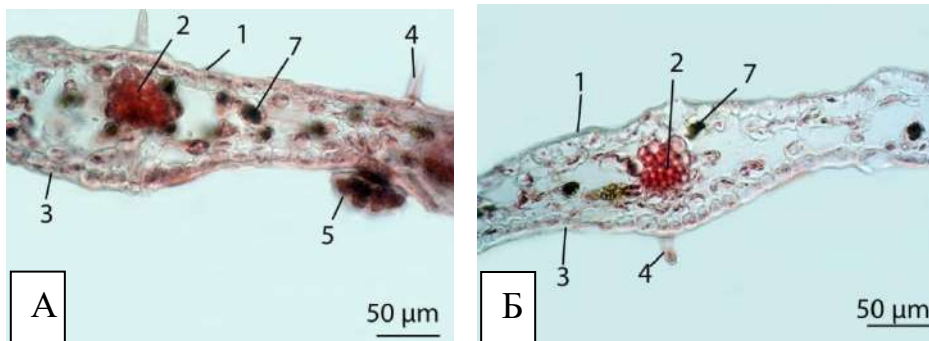


Рис. 9. Мікрофотографії поперечного перерізу пелюстки *A. foeniculum* (А) та *A. urticifolia* (Б). 1 – адаксіальна епідерма, 2 – провідний пучок, 3 – абаксіальна епідерма, 4 – прості трихоми, 5 – ефіроолійні залозисті трихоми, 6 – залозисті трихоми з 2-клітинною голівкою, 7 – включення

Виходячи з отриманих результатів анатомічних досліджень, можна стверджувати, що визначення типу опушення, його локалізації та рясності може слугувати надійним критерієм для діагностики досліджуваних видів. Сировина *A. foeniculum*, вірогідно, має більшу цінність з точки зору продуктивності ефірної олії, оскільки характеризується більшою кількістю ефіроолійних залозистих трихом.

З метою дослідження можливості отримання стандартизованої біомаси сировини видів роду *Agastache* було досліджено можливість їх введення в культуру *in vitro*. Біохімічне порівняння рослин у культурі *in vitro* та в природі дає можливість отримати уявлення про вплив асептичних умов на процеси синтезу та накопичення вторинних метаболітів, а також в перспективі, суттєво скоротити час, необхідний для отримання необхідної у промислових масштабах рослинної сировини. В результаті проведених досліджень виявлено, що на середовищі без гормонів рослини роду *Agastache* знаходяться у фазі вегетативного розвитку, до генеративної стадії не переходять, цвітіння та плодоношення також не відбувається.

Методом ТШХ (при 15°C) в сировині агастахе, отриманої при вирощуванні *in vitro*, ідентифіковано терпеноїди (ментол, ліналоол, пулегон),

гідроксикоричні кислоти (розмаринова та хлорогенова кислоти) та флавоноїди (рутин, апігенін, лютеолін, кверцетин), які також притаманні сировині, вирощеній в природних умовах. Спектрофотометрично визначено вміст основних груп БАР у даній сировині в різні терміни вирощування (табл. 3).

Таблиця 3

Динаміка накопичення основних груп БАР у сировині *A. foeniculum* та *A. urticifolia*, отриманої в умовах *in vitro*

Термін вирощування сировини	Вміст БАР, % у перерахунку на повітряно-суху сировину, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n = 5					
	ГКК	Флавоноїди	Поліфеноли	ГКК	Флавоноїди	Поліфеноли
	<i>A. foeniculum</i>			<i>A. urticifolia</i>		
10 діб	18,22 ±0,11	2,06 ±0,03	6,14 ±0,21	24,32 ±0,11*	2,02 ±0,05^^	5,8 3±0,23^
20 діб	19,08 ±0,13	2,13 ±0,06	6,77 ±0,21	25,48 ±0,13*	2,09 ±0,05	6,01 ±0,30^
30 діб	19,4 ±0,11	2,23 ±0,05	6,81 ±0,30	25,64 ±0,07*	2,13 ±0,03^	6,03 ±0,30^
40 діб	19,49 ±0,11	2,28 ±0,05	6,80 ±0,30	25,68 ±0,07*	2,11 ±0,07^	6,11 ±0,21^

Примітка. *- ($p \leq 0,05$) вірогідність відмінностей порівняно з даними у сировині а. фенхельного; ^- ($p \geq 0,05$) вірогідність відмінностей порівняно з даними у сировині а. фенхельного

В результаті доведено, що вміст БАР у досліджуваній сировині є майже незмінним протягом розвитку рослин, а, отже, прогнозованим, що свідчить про можливість отримання в умовах *in vitro* стандартизованої за вмістом основних груп БАР сировини *A. foeniculum* та *A. urticifolia*.

При порівняльному дослідженні кількісного вмісту основних груп БАР в сировині, отриманій в умовах *in vitro* та вирощеної в природному середовищі встановлено, що рослини Агастахе обох досліджених видів відрізняються досить високим вмістом поліфенольних сполук (як сумарним, так і окремих груп БАР поліфенольної природи – ГКК, флавоноїдів, проціанідинів), близьким до такого у відповідних рослин при культивуванні у відкритому ґрунті (окрім сумарного вмісту поліфенолів, який переважає у сировині, вирощеній в природних умовах, в середньому на 2-3%), рис. 11.

В результаті комплексу проведених досліджень а. фенхельного та а. кропиволистого було встановлено, що обидва види схожі за якісним складом БАР, проте кількісний вміст ідентифікованих сполук дещо вищий у траві а. фенхельного. Зокрема, у траві а. фенхельного кількісний вміст вільних та зв'язаних амінокислот майже вдвічі вищий, сумарний вміст ненасичених жирних кислот більше на 1,5%, вміст суми ГКК – на 1,47%, ніж у траві а. кропиволистого, також сировина а. фенхельного, вірогідно, має більшу цінність

з точки зору продуктивності ефірної олії, оскільки характеризується більшою кількістю ефіроолійних залозистих трихом.

Тому як найбільш перспективний вид сировини з-поміж обох видів агастахе для подальшої розробки лікарських препаратів нами було обрано траву а. фенхельного.

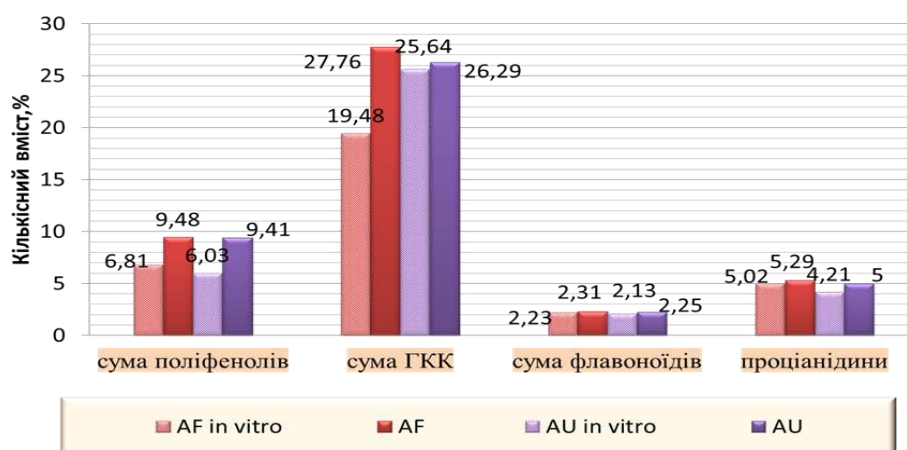


Рис. 11. Залежність кількісного вмісту основних груп БАР у сировині *A. foeniculum* та *A. urticifolia* від умов культивування

З метою раціонального використання ресурсів сировини *A. foeniculum* розроблено схему її комплексної переробки, а саме – отримання з висушеної сировини ліпофільного екстракту з антибактеріальною та протигрибковою дією та наступного отримання зі шроту поліфенольного екстракту з гепатопротекторною та антиоксидантною дією, що забезпечується послідовним екстрагуванням сировини хлороформом та подальшим екстрагуванням знежиреної сировини (шроту) водно-спиртовою сумішшю.

Досліджено оптимальні технологічні параметри екстракції трави агастахе фенхельного та встановлено, що максимальне вилучення ліпофільних сполук з сировини забезпечується при співвідношенні сировина:екстрагент 1:10, час екстракції – 24 год; БАР поліфенольної природи найкраще екстрагуються при подрібненні сировини до 3-4 мм, попередньому знежиренні її хлороформом з подальшою екстракцією шроту 50% спиртом етиловим, при співвідношенні сировина-екстрагент 1:10 з 3-кратною екстракцією протягом 30 хв.

Методом ТШХ у ліпофільному екстракті з трави *A. foeniculum* були ідентифіковані ментол, ліналоол та пулегон. Спектрофотометричним методом визначено вміст суми каротиноїдів у перерахунку на β -каротин, вміст хлорофілів у перерахунку на хлорофіл А (табл. 4). У рідкому екстракті *A. foeniculum* методом ТШХ ідентифіковано рутин, апігенін, лютеолін, кверцетин, хлорогенову, розмаринову та кофейну кислоти. Спектрофотометричним методом визначено вміст суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол, суми ГКК у перерахунку на хлорогенову кислоту, вміст суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін (табл. 4).

Вміст БАР у субстанціях *A. foeniculum*

Група БАР	Вміст БАР,%, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n = 5
Ліпофільний екстракт агастахе фенхельного	
Каротиноїди	8,68 ± 0,02
Хлорофіли	49,8 ± 0,1
Рідкий екстракт агастахе фенхельного	
ГКК	46,26 ± 0,21
Флавоноїди	3,97 ± 0,05
Поліфеноли	37,91 ± 0,07

Стандартизація лікарських засобів та вивчення їх фармакологічної активності

На основі проведених досліджень розроблено 3 проекти МКЯ на сировину та отримані субстанції. Рекомендовано стандартизувати сировину *A. foeniculum* за морфолого-анатомічними ознаками, якісними реакціями та ТШХ (фенольні сполуки та терпеноїди), показниками втрати в масі при висушуванні (не більше 10,0%), загальної золи (не більше 4,0%), вмістом домішок, за вмістом гідроксикоричних кислот (не менше 26%) і флавоноїдів (не менше 2,2%).

Стандартизувати ліпофільний екстракт з трави *A. foeniculum* запропоновано за параметрами: опис, розчинність, ідентифікація терпеноїдів методом ТШХ, втрата в масі при висушуванні (не більше 10,0%), граничний вміст залишкових кількостей органічних розчинників (вміст хлороформу не більше 0,005%), кількісний вміст суми хлорофілів у перерахунку на хлорофіл А (не менше 49%), вміст суми каротиноїдів у перерахунку на β-каротин (не менше 8,5%).

Стандартизувати рідкий екстракт з трави *A. foeniculum* запропоновано за параметрами: опис, ідентифікація флавоноїдів та ГКК методом ТШХ, вміст важких металів, мікробіологічна чистота, кількісний вміст суми ГКК у перерахунку на хлорогенову кислоту (не менше 45%), вміст суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін (не менше 3,5%).

Вивчення гострої токсичності та гепатопротекторної дії рідкого екстракту агастахе фенхельного були проведені на базі Інституту фармакології і токсикології НАМН України у Лабораторії фармакології ефекторних органів і систем під керівництвом завідувача лабораторією, д.мед.н., проф. Серединської Н. М. Дослідження були проведені відповідно до вимог, що пред'являються до потенційних лікарських засобів (Порядок проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів (затверджений наказом МОЗ України №944 від 14.12.2009). Всі експериментальні процедури проводились відповідно до міжнародних вимог про гуманне ставлення до тварин, відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Директива 86/609/ЄЕС, Страсбург, 1986), що

використовуються в експериментальних та інших наукових цілях. Утримання тварин та догляд за ними до і під час проведення експерименту, проводилось у відповідності до Положення Першого національного конгресу з біоетики «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (2001 р); Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях (від 18.03.1986); Директиви ЄЕС №609 (від 24.11.1986); Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006 р.); Наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України від 01.03.2012 № 249 «Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах», а також наказів № 690 від 23.09.2009 та № 944 від 14.12.

Гостра токсичність рідкого екстракту вивчалась за одноразового перорального його введення у різних дозах в діапазоні від 1,5-5,0 мл/кг маси тіла тварини за методом найменших квадратів. Даний метод дозволяє вирахувати не тільки середню летальну дозу речовини, а й параметри її вірогідності, використовуючи найменшу кількість лабораторних тварин. За результатами дослідження гострої токсичності рідкий екстракт агастахе фенхельного віднесено до малонебезпечних препаратів (IV клас за класифікацією хімічних речовин за ступенем небезпечності (за ГОСТ 12.1.007.76 «Шкідливі речовини. Класифікація та загальні вимоги нешкідливості»)).

Дослідження гепатопротекторної дії рідкого екстракту агастахе фенхельного проводилося у дослідах на статевозрілих білих нелінійних щурах обох статей на моделі токсичного ураження печінки, викликаного шляхом внутрішньошлункового введення чотирехлористого вуглецю (CCl_4), одноразово, у різних дозах – 3,0 та 5,0 мл/кг маси тіла у вигляді 50%-ного олійного розчину в порівнянні з препаратом «Силібор». Гепатопротекторну активність досліджували, зокрема, за показниками виживання, маси тіла тварин, КМП. З метою оцінки функціонального стану мембран гепатоцитів та ступеня запальної реакції в сироватці крові тварин визначали активність ферментів АлАТ та АсАТ, ЛФ. Дані, отримані в результаті проведених досліджень, наведені в табл. 5-6.

Отримані результати свідчать, що рідкий екстракт агастахе фенхельного має переважаючий вплив на нормалізацію КМП, навіть, за застосування CCl_4 у дозі 5 мл/кг та показників активності маркерних ферментів у сироватці крові.

Антитоксичну функцію печінки досліджували на моделі тіопенталового сну (тіопентал, внутрішньоочеревинно, 30 мг/кг) на тлі інтоксикації CCl_4 та лікування рідким екстрактом агастахе фенхельного і референтним засобом Силібором. Профілактично-лікувальне введення Силібору фактично не впливало на тривалість досліджувані показники за введення CCl_4 у дозі 3 мл/кг, тоді як за інтоксикації більш тяжкого ступеня цей препарат сприяв суттєвому зниженню тривалості сну та зменшував латентний період засинання тварин на 30%. Введення рідкого екстракту агастахе фенхельного приводило до суттєвого продовження латентного періоду засинання тварин та скорочення тривалості

сну на 26% відносно тварин контрольної групи за застосування CCl_4 у дозі 3 мл/кг.

Таблиця 5

Вплив рідкого екстракту агастахе фенхельного на масу тіла тварин та КМП за внутрішньошлункового введення білим щурам з гострим тетрахлорметановим гепатитом

Показник	Групи тварин						
	Інтактні	Контроль (CCl_4)		Силібор ±		Агастахе±	
		CCl_4 , 3 мл/кг	CCl_4 , 5 мл/кг	CCl_4 , 3 мл/кг	CCl_4 , 5 мл/кг	CCl_4 , 3 мл/кг	CCl_4 , 5 мл/кг
n	10	9	8	10	9	10	10
Маса тіла, % зміни	±14,8	±18,7	-4,2	±15,2	-1,7	±0,5	±3,4
КМП	3,17 ±0,05	3,88 ±0,20*	4,57 ±0,30*	3,61 ±0,12*	3,97 ±0,23*	3,15 ±0,10 ^o	3,20 ±0,12 ^{#o}
% зміни КМП		±22 (до інтактних)	±44,2 (до інтактних)	-7 (до CCl_4 , 3 мл/кг)	-13 (до CCl_4 , 5 мл/кг)	-19 (до CCl_4 , 3 мл/кг)	-30 (до CCl_4 , 5 мл/кг)

Примітка. * - ($p \leq 0,05$) вірогідність відмінностей в порівнянні з даними у інтактних тварин; # - ($p \leq 0,05$) вірогідність відмінностей в порівнянні з даними у тварин контрольної групи; ^o - ($p \leq 0,05$) вірогідність відмінностей в порівнянні з даними тварин, лікованих Силібором

Таблиця 6

Активність АЛАТ, АсАТ та ЛФ ($\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$) у сироватці крові білих щурів (n=7 у кожній групі) з гострим токсичним гепатитом

Група	АЛАТ, ммоль/хв·л	АсАТ, ммоль/хв·л	ЛФ, мкмоль/хв·л
Інтактні	0,72±0,07	0,96±0,04	8,28±0,3
Контроль (CCl_4)	1,74±0,09*	1,4±0,08*	13,30±1,12*
% змін (до інтактних)	±141,7	±45,8	±60,6
Агастахе± CCl_4	1,23±0,06*	1,02±0,04*	9,45±1,06*
% змін (до контролю)	-29,3	-27,1	-28,9
Силібор± CCl_4	1,35±0,07*	1,09±0,05*	9,95±1,10*
% змін (до контролю)	-22,4	-22,1	-25,2

Примітка. * - ($p \leq 0,05$) вірогідність відмінностей в порівнянні з даними у інтактних або контрольних тварин

За інтоксикації більш високого ступеня екстракту агастахе фенхельного проявив ще більш значущу активність, зменшуючи латентний період засинання на 35% та тривалість тіопенталового сну – на 83%.

Отримані дані є свідченням прояву гепатопротекторної активності, що притаманна як Силібору (препарату порівняння), який є відомим гепатопротекторним засобом, так і фітозасобу на основі сировини агастахе фенхельного, якому притаманні аналогічні за спрямованістю дії та, фактично, аналогічні за ступенем впливу властивості. При цьому доведений більш значущий коригувальний вплив рідкого екстракту агастахе фенхельного на КМП та функціонування печінки на моделі тіопенталового сну за умов гострого гепатиту.

Антиоксидантну активність рідкого екстракту агастахе фенхельного вивчали за здатністю пригнічувати аутоокиснення адреналіну *in vitro* і тим самим запобігати утворенню активних форм кисню. Аналіз отриманих результатів показав, що екстракт агастахе фенхельного проявляє виражену антиоксидантну активність.

Методом дифузії в агар доведено антимікробну дію ліпофільного екстракту з трави агастахе фенхельного щодо 6 музейних штамів мікроорганізмів та грибів. На основі проведених досліджень, встановлено, що ліпофільний екстракт трави агастахе фенхельного проявляє високу антимікробну активність щодо грампозитивних мікроорганізмів, помірну – щодо грамнегативних мікроорганізмів та дріжджоподібних грибів (рис. 12), тому його можна розглядати як потенційну субстанцію з широким спектром антимікробної дії.

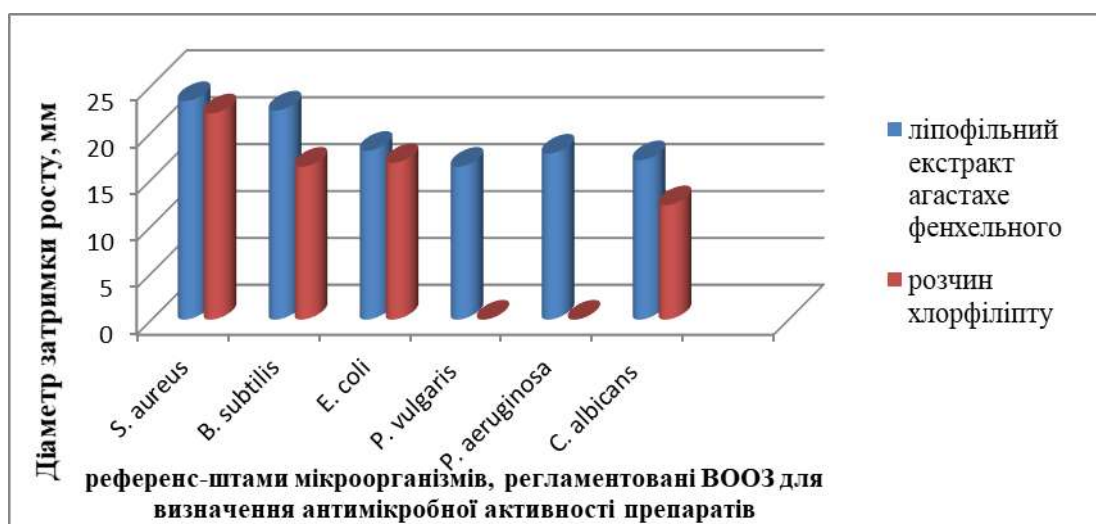


Рис. 12. Антимікробна активність ліпофільного екстракту з трави агастахе фенхельного

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення та практичне вирішення наукового завдання, що полягає у пошуку нових джерел БАР серед представників роду *Agastache*, шляхом комплексного фітохімічного дослідження сировини деяких видів роду *Agastache* як нового перспективного джерела БАР, стандартизації сировини та вивчення фармакологічної активності нових потенційних фітозасобів на її основі.

1. За допомогою хроматографічних методів у сировині *A. foeniculum* ідентифіковано 112 сполук, які включають 15 класів сполук, з яких вперше – багатоатомні спирти, моно- та дисахариди. В сировині *A. urticifolia* ідентифіковано 112 сполук, які включають 15 класів сполук, серед яких вперше – ГКК, флавоноїди, багатоатомні спирти, моно- та дисахариди, органічні та жирні кислоти, амінокислоти, мінеральні елементи.

2. Вперше методом РФА досліджено якісний склад та кількісний вміст макро- та мікроелементів трави *A. foeniculum* та *A. urticifolia* в порівнянні з мінеральним складом ґрунту з-під рослин; методом ГХ-МС вперше досліджено жирнокислотний склад.

Методом ГХ-МС вперше було визначено вміст моно- та дисахаридів, встановлено, що в сировині досліджуваних видів накопичується значна кількість сахарози (в траві а. фенхельного – 48220 мг/кг, в траві а. кропиволистого – 62870 мг/кг).

Вивчено компонентний склад летких сполук в процесі онтогенезу та встановлено, що домінуючими компонентами трави досліджуваних видів, незалежно від фази онтогенезу, є ментон, ізоментон, пулегон, D-лімонен, виявлено, що в процесі онтогенетичного розвитку вміст летких сполук змінюється, а саме, вміст пулегону істотно збільшується у фазу масового цвітіння (у 2,8 раз у *A. foeniculum* та у 2,64 рази у *A. urticifolia*) в порівнянні з фазою розвитку вегетативних органів.

Методом ВЕРХ ідентифіковано та визначено вміст 16 амінокислот, 7 флавоноїдів, 4 катехінів, 5 гідроксикоричних кислот, 2 фенольних кислот, 1 кумарину. Домінуючими компонентами трави *A. foeniculum* були епігалокатехін (1411,7 мг/100 г), апігенін (1185 мг/100 г) та розмаринова кислота (1179,1 мг/100 г).

3. Вперше досліджено динаміку накопичення суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол, суми ГКК у перерахунку на хлорогенову кислоту, суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін, суми проціанідинів у сировині досліджуваних видів в процесі онтогенезу методом спектрофотометрії. На основі проведених досліджень рекомендованими оптимальними строками заготівлі трави *A. foeniculum* та *A. urticifolia* визначено фазу МЦ.

4. Визначено загальні та відмінні макро-, мікроскопічні ознаки сировини *A. foeniculum* та *A. urticifolia*, які використано для ідентифікації сировини та при розробці проектів МКЯ на сировину.

5. Вперше отримано культуру рослин роду *Agastache*, вирощених *in vitro* (з насіння). Проведено порівняльне дослідження вмісту основних БАР у траві *A.*

foeniculum та *A.urticifolia*, що культивувались *in vitro* та в природних умовах. Встановлено, що рослини *Agastache* обох досліджених видів успішно піддаються вирощуванню в асептичній культурі тканин (*in vitro*), накопичують значну біомасу та відрізняються досить високим, майже незмінним протягом всієї вегетації вмістом поліфенольних сполук.

6. Розроблено схему комплексної переробки сировини *A. foeniculum*, що передбачає отримання двох субстанцій – ліпофільного екстракту з сировини та рідкого водно-спиртового екстракту зі шроту після отримання ліпофільного екстракту. У ліпофільному екстракті методом ТШХ визначено наявність терпеноїдів, встановлено вміст суми каротиноїдів у перерахунку на β -каротин та хлорофілів у перерахунку на хлорофіл А. У рідкому екстракті методом ТШХ визначено наявність флавоноїдів та ГКК, встановлено вміст суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол, вміст суми ГКК у перерахунку на хлорогенову кислоту та суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін.

7. На основі результатів визначення показників якості сировини, морфолого-анатомічних досліджень трави *A. foeniculum* та фітохімічних досліджень вмісту БАР, вперше було проведено стандартизацію сировини та отриманих екстрактів, розроблено проекти МКЯ «Агастахе фенхельного трава», «Ліпофільний екстракт агастахе фенхельного» та «Поліфенольний екстракт агастахе фенхельного».

8. Вивчено фармакологічну дію отриманих субстанцій та встановлено, що рідкий екстракт агастахе фенхельного проявляє виражену антиоксидантну активність. На моделі токсичного ураження печінки, викликаного шляхом внутрішньошлункового введення чотирьохлористого вуглецю у дослідах на статевозрілих білих нелінійних щурах встановлено, що фітозасіб на основі сировини агастахе фенхельного проявляє геатопротекторну дію.

Доведено, що ліпофільний екстракт агастахе фенхельного проявляє антимікробну активність грамполозитивних мікроорганізмів: *S. aureus*, *B. subtilis*, помірну – щодо грамнегативних мікроорганізмів: *P. aeruginosa*, *E. coli*, *P. vulgaris* та дріжджоподібних грибів *C. Albicans*, тому його можна розглядати як потенційну субстанцію з широким спектром антимікробної дії.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Вміст вільних та зв'язаних амінокислот у деяких видах роду Агастахе при інтродукції / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, В. О. Меньшова, Т. К. Шураєва, Є. М. Гергель, О. В. Гергель. *Фітотерапія. Часопис*. 2016. № 4. С. 24-26. (Особистий внесок – проведення частини експериментальних досліджень, участь у обговоренні результатів та підготовка тексту статті).

2. Дослідження анатомічних діагностичних ознак сировини деяких видів роду *Agastache* як показників якості при стандартизації / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, О. Ф. Щербакова, В. О. Меньшова, О. І. Гудзенко. *Запорізький медичний журнал*. 2018. № 2. С. 230-237. (Особистий внесок – підготовка зразків для аналізу, участь у проведенні мікроскопічного аналізу досліджуваних зразків, обробка та аналіз результатів, підготовка тексту статті).

3. Дослідження вмісту поліфенольних сполук трави агастахе фенхельного *Agastache foeniculum* (Pursch) O.Kuntze / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Н. В. Гудзенко, О. І. Гудзенко, Т. К. Шураєва, В. О. Меньшова. *Фітотерапія. Часопис*. 2018. № 3. С. 46-49. (Особистий внесок – підготовка зразків для аналізу, проведення експериментальних досліджень, участь у обробці результатів та підготовка тексту статті).

4. Качественный состав летучих соединений *agastache foeniculum* в онтогенезе / Е. Ю. Коновалова, И. А. Гуртовенко, Т. К. Шураева, В. А. Меньшова, Т. С. Омельковец. *Рецепт.* 2017. том 20, № 6. С. 544-550. (Особистий внесок – підготовка зразків для аналізу, проведення експериментальних досліджень, участь у обробці результатів та підготовка тексту статті).

5. Determination of carbohydrate content in raw material of *Agastache foeniculum* and *Agastache urticifolia* / I. Gurtovenko, E. Konovalova, T. Shuraeva, M. Kalista. *The Pharma Innovation Journal*. 2017. Vol.6, N 9 (Part G). P. 454-457. (Особистий внесок – проведення літературного пошуку за темою публікації, проведення частини експериментальних досліджень, участь у обговоренні результатів та підготовка тексту статті).

6. Пат. на корисну модель 130906 Україна, МПК А61К 35/00, А61К 35/66. Фітозасіб із гепатопротекторною активністю / Коновалова О. Ю., Гуртовенко І. О., Серединська Н. М., Серета П. І., Меньшова В. О. № у 2018 07949; заявл. 17.07.2018; опубл. 26.12.18, Бюл. № 24. 5 с. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, оформлення патенту).

7. Дослідження мінерального складу трави агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого / О. Ю. Коновалова, І. О. Гуртовенко, Є. М. Гергель, О. В. Гергель, Т. К. Шураєва, К. О. Кузь. *Фармація XXI століття: Тенденції та перспективи* : мат. VIII Національного з'їзду фарм. України, 13-16 верес. 2016 р. Х. : НФаУ, 2016. Т.1. С. 96. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

8. Дослідження жирнокислотного складу трави деяких видів роду агастахе (*Agastache J.Clayton ex Gronov.*) / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Є. М. Гергель, О. В. Гергель, Т. К. Шураєва, К. А. Градзіон, В. О. Меньшова. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти щодо стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини* : мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 28-29 жовт. 2016 р. К., 2016. С. 48. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

9. Дослідження амінокислотного складу трави агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, В. О. Меньшова, Є. М. Гергель, О. В. Гергель, Т. К. Шураєва. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : мат. VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 10–11 листоп. 2016 р. Т., 2016. С. 40-41. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

10. Михайловська О. А., Гуртовенко І. О. Визначення вмісту жирних кислот в сировині агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого. *«Хист», Всеукраїнський медичний журнал студентів і молодих вчених*. 2017. № 19. С. 499. (Особистий внесок – збір матеріалу, проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

11. Ящук Б. О., Гуртовенко І. О. Порівняльний аналіз елементного складу трави деяких видів роду агастахе *Agastache J. Clayton ex Gronov.* *«Хист», Всеукраїнський медичний журнал студентів і молодих вчених*. 2017. № 19. С. 503. (Особистий внесок – збір матеріалу, проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

12. Атякшева Н., Гуртовенко І. Визначення вмісту вільних моно- та дисахаридів в сировині агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого. *XXI Міжнародний конгрес студентів та молодих вчених присвячений 60-річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України* : мат. конф., 24-26 квіт. 2017 р. Т., 2017. С. 223. (Особистий внесок – збір матеріалу, проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

13. Романюк А., Гуртовенко І. Дослідження летких сполук деяких видів роду агастахе *Agastache J. Clayton ex Gronov.* *XXI Міжнародний конгрес студентів та молодих вчених присвячений 60-річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України* : мат. конф., 24-26 квіт. 2017 р. Т., 2017. С. 236. (Особистий внесок – збір матеріалу, проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

14. Гуртовенко І. О., Коновалова О. Ю., Омельковець Т. С. Динаміка накопичення летких сполук в траві агастахе кропиволистого в онтогенезі. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : мат. I Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 5 квіт. 2018 р. Х., 2018. С. 42. (Особистий внесок – збір матеріалу, проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

15. Ящук Б., Гуртовенко І. Дослідження вмісту фенольних сполук в траві агастахе фенхельного. *XXII Міжнародний конгрес студентів та молодих вчених Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України* : мат. конф., 23-25 квіт. 2018 р. Т., 2018. С. 195-196. (Особистий внесок – збір матеріалу, проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

16. Дослідження спиртового екстракту *Agastache foeniculum* методом ІЧ-спектроскопії / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, І. І. Геращенко, Н. В. Гудзенко. *Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи* : мат. II Всеукраїнської наук. конф., 16 трав. 2018 р. Житомир, 2018. С. 225-226. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини, аналіз матеріалу, оформлення тез до друку).

17. Визначення антиоксидантної активності екстракту агастахе фенхельного / О. Ю. Коновалова, І. О. Гуртовенко, Т. К. Шураєва, Т. С. Омельковець, О. І. Гудзенко. *Сучасні теоретико-практичні аспекти у розв'язанні послідовності реалізації впровадження «Стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини» у первинну ланку охорони здоров'я* : мат. наук. форуму з міжнар.участю. 26 жовт. 2018 р. К., 2018. С. 92-93. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини, аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

18. Ідентифікація терпеноїдів у сировині *Agastache foeniculum* та *Agastache urticifolia* методом «холодової» ТШХ / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Н. В. Гудзенко, О. І. Гудзенко. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : мат. III Міжнар. наук.-практ. internet-конф., 26-28 листоп. 2018 р., Х., 2018. С. 61. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини, аналіз матеріалу, оформлення тез до друку).

19. Дослідження хімічного складу сировини Агастахе в культурі *in vitro* / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Н. О. Пушкарьова, М. С. Каліста. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : мат. III Міжнар. наук.-практ. internet-конф., 26-28 листоп. 2018 р., Х., 2018. С. 62-63. (Особистий внесок – збір та аналіз матеріалу, виконання експериментальної частини, аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

20. Вивчення складу БАР ліпофільного екстракту з трави Агастахе фенхельного / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Т. К. Шураєва, Н. В. Гудзенко, О. І. Гудзенко. *Хімія природних сполук* : мат. V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 30-31 трав. 2019 р. Т., 2019. С. 25. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини, аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

21. Динаміка накопичення сполук поліфенольної природи у траві *Agastache foeniculum* та *Agastache urticifolia* / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Т. К. Шураєва, Н. В. Гудзенко, О. І. Гудзенко. *Хімія природних сполук* : мат. V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 30-31 трав. 2019 р., Т., 2019. С. 26-27. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини, аналіз матеріалу, оформлення тез до друку).

22. Коновалова О. Ю., Гуртовенко І. О., Ящук Б. О. Визначення вмісту фенольних сполук у траві агастахе фенхельного. *Людина та ліки* : мат. XII Національного мед. конгресу з міжнар. участю, 27-28 берез. 2019 р. К., 2019. С. 28. (Особистий внесок – підготовка матеріалу для дослідження, виконання експериментальної частини, аналіз отриманих результатів, оформлення тез до друку).

23. Коновалова О. Ю., Гуртовенко І. О., Шураєва Т. К. Дослідження антимікробної активності ліпофільного екстракту трави агастахе фенхельного. *Людина та ліки* : мат. XII Національного мед. конгресу з міжнар. участю, 27-28 берез. 2019 р. К., 2019. С. 29. (Особистий внесок – підготовка матеріалу для дослідження, аналіз отриманих результатів, оформлення тез до друку).

24. Дослідження гепатопротекторної дії рідкого екстракту *Agastache foeniculum* / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Т. К. Шураєва, Н. М.

Серединська. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, 19-20 верес. 2019 р. Х., 2019. Т.1. С. 290-291. (Особистий внесок – підготовка матеріалу для дослідження, аналіз отриманих результатів, оформлення тез до друку).

АНОТАЦІЯ

Гуртовенко І. О. Порівняльне фармакогностичне дослідження деяких видів роду Агастахе (*Agastache J. Clayton ex Gronov*). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 «Фармацевтична хімія та фармакогнозія» (226 – Фармація, промислова фармація). – Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2020.

Дисертаційна робота присвячена фармакогностичному дослідженню агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого, одержанню екстрактів на їх основі, розробці методів контролю якості на лікарську рослину сировину та екстракти для створення нових лікарських засобів з гепатопротекторною, протизапальною та антимікробною активністю.

Загалом у сировині *A. foeniculum* ідентифіковано 112 сполук, у сировині *A. urticifolia* – 112. Встановлено кількісний вміст флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, катехінів, фенольних кислот, компонентного складу ефірних олій, вільних та зв'язаних цукрів та багатоатомних спиртів, жирних кислот, вільних та зв'язаних амінокислот, мінеральних елементів. Встановлено основні морфолого-анатомічні діагностичні ознаки сировини досліджуваних видів. Отримано сировину видів *Agastache* в культурі *in vitro*, визначено кількісний вміст основних груп БАР в отриманій сировині.

Розроблено технології одержання ліпофільного та рідкого екстрактів з сировини агастахе фенхельного, розроблено технологічну схему комплексної переробки сировини; визначено основні БАР у отриманих субстанціях.

Проведено стандартизацію сировини *A. foeniculum* і екстрактів та розроблено проекти МКЯ. Визначено гостру антимікробну, гепатотоксичну, антиоксидантну активність та гостру токсичність одержаних субстанцій.

Ключові слова: агастахе фенхельний, агастахе кропиволистий, трава, біологічно активні речовини, фармакогностичне дослідження, ліпофільний екстракт, поліфенольний екстракт, гепатопротекторна дія, антиоксидантна дія, антимікробна дія.

АННОТАЦИЯ

Гуртовенко И. А. Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов рода Агастахе (*Agastache* J.Clayton ex Gronov). – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 «Фармацевтическая химия и фармакогнозия» (226 – Фармация, промышленная фармация). – Запорожский государственный медицинский университет МЗ Украины, Запорожье, 2020.

Диссертация посвящена фармакогностическому исследованию агастахе фенхельного и агастахе крапиволистого, получению экстрактов на их основе, разработке методов контроля качества на лекарственное растительное сырье и экстракты для создания новых лекарственных средств с гепатопротекторной, антиоксидантной и антимикробной активностью.

Всего в сырье *A. foeniculum* идентифицировано 112 соединений, в сырье *A. urticifolia* – 112. Установлено количественное содержание флавоноидов, гидроксикоричных кислот, катехинов, фенольных кислот, компонентного состава эфирных масел, свободных и связанных сахаров и многоатомных спиртов, жирных кислот, свободных и связанных аминокислот, минеральных элементов. Установлены основные морфолого-анатомические диагностические признаки сырья исследуемых видов. Получено сырье видов *Agastache* в культуре *in vitro*, определено количественное содержание основных групп БАВ в полученном сырье.

Разработаны технологии получения липофильного и жидкого экстрактов из растительного сырья агастахе фенхельного, разработана технологическая схема комплексной переработки сырья; определены основные БАВ в полученных субстанциях.

Проведена стандартизация сырья *A. foeniculum* и экстрактов, разработаны проекты МКЯ. Определены антимикробная, гепатопротекторная, антиоксидантная активность и острая токсичность полученных субстанций.

Ключевые слова: агастахе фенхельный, агастахе крапиволистый, трава, биологически активные вещества, фармакогностическое исследование, липофильный экстракт, полифенольный экстракт, гепатопротекторное действие, антиоксидантное действие, антимикробное действие.

ANNOTATION

Hurtovenko I. O. Comparative pharmacognostic study of some species of the genus *Agastache* (*Agastache* J.Clayton ex Gronov). – Qualifying scientific work with the manuscript copyright.

The thesis for a degree of PhD in Pharmacy, specialty 15.00.02 «Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy» (226 – Pharmacy, industrial pharmacy). – Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2020.

The thesis is devoted to pharmacognostic study of *Agastache foeniculum* (Pursch) Kuntze and *Agastache urticifolia* (Benth.) Kuntze, to the obtainment of the extracts from these species, development of quality control methods for herbal raw materials and extracts for the creation of new drugs with hepatoprotective, anti-inflammatory and antimicrobial activity.

Generally, 1. By means of chromatographic methods, 112 compounds were identified in the raw material of *A. foeniculum*, including 15 classes of BAS, among which polyhydric alcohols, mono- and disaccharides. In *A. urticifolia* raw materials, 113 compounds were identified, which include 15 classes of BAS, among which, for the first time, are hydroxycinnamic acids, flavonoids, polyhydric alcohols, mono- and disaccharides, organic and fatty acids, amino acids, mineral elements.

For the first time, the qualitative composition and quantitative content of macro- and microelements of *A. foeniculum* and *A. urticifolia* herbs compared to the macro- and microelemental soil composition were investigated using X-ray fluorescence analysis.

The fatty acids composition of *A. foeniculum* and *A. urticifolia* herbs was studied using GC-MS. The content of polysaccharides individual fractions in *A. foeniculum* and *A. urticifolia* herbs was determined first by gravimetric method. The content of mono- and disaccharides in *A. foeniculum* and *A. urticifolia* herbs was determined by gas-liquid chromatography mass spectrometry.

By means GC-MS defined the composition of volatile compounds in *A. foeniculum* and *A. urticifolia* herbs in ontogeny which introduced in Ukraine (Kyiv). It was revealed that the dominant components of the both studied species, regardless of the phase of ontogeny, are menthone, isomenthone, pullegon, D-limonene. In the process of ontogeny development the content of volatile compounds is changing, namely: the content of the pullegon is significantly increased in the mass flowering phase (2.8 times in *A. foeniculum* and in 2.64 times in *A. urticifolia*) as compared with the vegetative phase.

By HPLC method in *A. foeniculum* herb was identified 16 amino acids, 7 flavonoids, 4 catechins, 5 hydroxycinnamic acids, 2 phenolic acids, 1 coumarin. It has been established that dominated by epigallocatechin (1411.7 mg/100 g), apigenin (1185 mg/100 g) and rosmarinic acid (1179.1 mg/100 g), somewhat less is content of rutin (633.1 mg/100 g), catechin (243.6 mg/100 g), chlorogenic acid (239.5 mg/100 g).

For the first time, by spectrophotometry method the dynamics of accumulation of polyphenolic compounds in the raw materials of investigated species was studied. On the basis of the comparative analysis the optimal term for the procurement of raw materials *A. foeniculum* and *A. urticifolia* is phase of mass flowering.

On the basic of macro- and microscopic study of raw materials *A. foeniculum* and *A. urticifolia*, basic morphological and anatomical signs and differences that can be used as key quality indicators in the standardization of the studied species and identification of the raw material are established.

For the first time, it was received the culture of plants *A. foeniculum* and *A. urticifolia*, grown *in vitro* (from seed). A comparative study of the content of the main BAS in *A. foeniculum* and *A. urticifolia* herbs, which were cultivated *in vitro*

and in open soil, and it was found that plants of both studied species successfully cultivated in aseptic culture of tissues (*in vitro*), accumulate significant biomass and differ in sufficiently high content of polyphenolic compounds, which is close to that of the corresponding plants when grown in open soil.

According to the results of the study of BAS in the raw materials of investigated species, a scheme for the integrated processing of *A. foeniculum* raw material, which involves the sequential extraction of raw material with chloroform and obtaining a lipophilic extract, further extraction of the non-fatty raw material (shrot) with aqueous-alcoholic mixture and obtaining a polyphenolic extract.

On the basis of the results of phytochemical, morphological and anatomical studies, the standardization of raw materials and extracts obtained were carried out for the first time, the drafts of quality-control technology of raw material «Agastache foeniculum herb», «Lipophilic Agastache foeniculum extract», «Polifenol Agastache foeniculum extract» were developed.

Hepatoprotective activity of the *A. foeniculum* liquid extract has been studied. Based on the performed pharmacological studies, a more significant corrective effect of the *A. foeniculum* polyphenolic extract, as compared with the reference drug Silibor, has been shown on the liver function on the model of thiopental sleep in acute hepatitis.

It has been established that the *A. foeniculum* extract exhibits antioxidant activity by its ability to suppress the auto-oxidation of adrenaline *in vitro*.

The spectrum of antimicrobial activity of the *A. foeniculum* lipophilic extract was determined and this extract exhibited high antimicrobial activity against gram-positive microorganisms: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, moderate activity against gram-negative microorganisms: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* and fungi *Candida albicans*.

Key words: *Agastache foeniculum*, *Agastache urticifolia*, herb, biologically active substances, pharmacognostic research, lipophilic extract, polyphenolic extract, hepatoprotective effect, antioxidant activity, antimicrobial activity.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АлАТ	–	аланінамінотрансфераза;
АОА	–	антиоксидантна активність;
АсАТ	–	аспартатамінотрансфераза;
БАР	–	біологічно активні речовини;
ВЕРХ	–	високоєфективна рідинна хроматографія;
ВРПС	–	водорозчинні полісахариди;
ГКК	–	гідроксикоричні кислоти;
ГХ	–	газова хроматографія;
ГХ-МС	–	газова хромато-мас-спектрометрія;
ГЦ А	–	геміцелюлоза А;
ГЦ Б	–	геміцелюлоза Б;
ДФУ	–	Державна фармакопея України;
ІЧ	–	інфрачервоний;
КМП	–	коефіцієнт маси печінки;
ЛРС	–	лікарська рослинна сировина;
ЛФ	–	лужна фосфатаза;
МКЯ	–	методи контролю якості;
МЦ	–	масового цвітіння;
ПВНЗ	–	Приватний вищий навчальний заклад;
ПР	–	пектинові речовини;
ПХ	–	паперова хроматографія;
РВО	–	розвитку вегетативних органів;
РФА	–	рентгенфлуоресцентний аналіз;
СФ	–	спектрофотометрія;
ТШХ	–	тонкошарова хроматографія;
УФ	–	ультрафіолетовий.